

ISSN 0235-2990

# **АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ**

**Том 69**



**9–10'2024**

**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. За, 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»



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: октябрь 2024

Свободная цена

ISSN 0235-2990

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 69

9–10'2024

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. Б.  
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.  
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. 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**

|                 |                |
|-----------------|----------------|
| 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.      |
| Зуева Л. П.     |                |

**Founders:**

ISSN 0235-2990

**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 Lyudmila B. Smirnova  
Proofreader: Ekaterina A. Krykova  
Translator: Olga S. Smirnova  
Website:  
www.antibiotics-chemotherapy.ru

**Advertising Department:**

Tel.: 89254723038  
E-mail: gncajournal@yandex.ru  
Larisa 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: October 2024  
Free price

# ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 69

9–10'2024

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 B. 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 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. Priputnevich  
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

**EDITORIAL COUNCIL**

|                      |                     |
|----------------------|---------------------|
| 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    |
| Lyudmila P. Zueva    |                     |

*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

- Селянская Н. А., Титова С. В., Меньшикова Е. А.,  
Водопьянов С. О., Кругликов В. Д.  
Влияние условий культивирования на передачу генов  
антибиотикорезистентности у холерного вибриона  
Ветрова Е. Н., Грецкая Н. М., Серков И. В.,  
Любимов И. И., Притчина Т. Н.,  
Гурьянова Е. В., Безуглов В. В., Галегов Г. А.  
Исследование противовирусной активности препаратов  
и их комбинации в отношении вируса гриппа А  
Баранцевич Н. Е., Баранцевич Е. П.  
Применение секвенирования по Сэнгеру  
в этиологической диагностике бактериальных  
осложнений в стационаре  
Тучкова С. Н., Абдуллаев Ш. П., Денисенко Н. П.,  
Крюков А. В., Темиргулатов И. И., Сулейманов С. Ш.,  
Китаева Е. Ю., Шпрах В. В., Сидукова Е. Э.,  
Сычев И. В., Мирзаев К. Б., Сычев Д. А.  
Анализ структуры распределения генетических  
биомаркеров безопасности этиотропных препаратов  
для лечения COVID-19 у представителей этнических групп  
Поволжья и Дальнего Востока

### Клинические исследования и практика

- Белобородов В. Б., Зигангирова Н. А., Лубенец Н. Л.,  
Шеремет А. Б., Нелюбина С. А., Бондарева Н. Е.,  
Луйксаар С. И., Левченко Е. Ю., Луйксаар С. В.,  
Королева Е. А., Федина Е. Д., Пушкар Д. Ю., Гинцбург А. Л.  
Влияние цефепима/фтортиазина в сравнении  
с цефепимом/плацебо на клиническое излечение  
и микробиологическую эрадикацию пациентов  
с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей:  
проспективное рандомизированное  
клиническое исследование  
Коломиец В. М., Польшикова Н. А., Петров А. Ю.,  
Коваленко А. Л., Алыменко М. А., Таликова Е. В.  
Коморбидный туберкулёз в условиях формирования  
локальной эпидемической ситуации  
Шевчук Ю. В., Сычев И. В., Крюков А. В.,  
Темиргулатов И. И., Мирзаев К. Б., Денисенко Н. П.,  
Абдуллаев Ш. П., Тучкова С. Н., Вечорко В. И.,  
Аверков О. В., Сычев Д. А.  
Модель прогнозирования риска развития лекарственного  
поражения печени на фоне терапии фавипиравиром  
Серебрякова Е. Н., Шилова Т. В.,  
Кожевников А. С., Разживин А. М.  
Случай врождённого комбинированного  
иммунодефицита с тяжёлой атопией:  
целесообразность ранней диагностики  
и особенности терапевтических стратегий

### Обзоры

- Гостев В. В., Железова Л. И., Чулкова П. С., Авдеева А. А.,  
Калиногорская О. С., Агеев В. А., Цветкова И. А.,  
Журавлев А. В., Сидоренко С. В.  
Клиническая метагеномика — новый подход  
в диагностике инфекционных заболеваний человека  
Теймуразов М. Г., Коваленко И. М., Хохлова О. Е.  
Применение бактериоцинов, включая микроцины:  
настоящее и будущее  
Генатуллина Г. Н., Ясенявская А. Л.,  
Самотруева М. А.  
Современные методы идентификации  
нетуберкулёзных микобактерий  
Майбородин И. В., Шумейкина А. О.,  
Майбородина В. И., Красильников С. Э.  
Кардиотоксичность противоопухолевых средств  
Олсуфьева Е. Н., Янковская В. С.  
Анализ проблемы антибиотикорезистентности  
в агропромышленном комплексе

### Experimental Research

- 4 Selyanskaya Nadezhda A., Titova Svetlana V., Menshikova Elena A.,  
Vodopyanov Sergey O., Kruglikov Vladimir D.  
Influence of Cultivation Conditions on the Transmission  
of Antibiotic Resistance Genes in *Vibrio cholerae*  
11 Vetrova Elizaveta N., Gretskeya Natalia M., Serkov Igor V.,  
Lyubimov Igor I., Pritchina Tatiana N., Guryanova Ekaterina V.,  
Bezuglov Vladimir V., Galegov Georgy A.  
Study of the Antiviral Activity of Drugs  
and Their Combination Against the Influenza A Virus  
17 Barantsevich Natalia E., Barantsevich Elena P.  
Use of Sanger Sequencing  
in Etiological Diagnosis  
of Bacterial Complications in Hospital  
24 Tuchkova Svetlana N., Abdullaev Sherzod P., Denisenko Natalia P.,  
Kryukov Alexander V., Temirbulatov Ilyas I., Suleymanov Salavat Sh.,  
Kitaeva Elena Yu., Shprakh Vladimir V., Sidukova Elena E.,  
Sychev Ivan V., Mirzaev Karin B., Sychev Dmitry A.  
Analysis of the Distribution Pattern of Genetic Biomarkers  
of Safety of Etiotropic Drugs for the Treatment of COVID-19  
in Representatives of Ethnic Groups  
of the Volga Region and the Far East

### Clinical Research and Practice

- 31 Beloborodov Vladimir B., Ziganirova Nailya A.,  
Lubenev Nadezhda L., Sheremet Anna B., Nelyubina Stanislava A.,  
Bondareva Nadezhda E., Luyksaar Sergey I.,  
Levchenko Evgeniya U., Luyksaar Svetlana V.,  
Koroleva Ekaterina A., Fedina Elena D.,  
Pushkar Dmitry Yu., Gintzburg Alexander L.  
The Effect of Cefepime/Fluorothiazinone Compared  
with Cefepime/Placebo on Clinical Recovery and Microbiological  
Eradication in Patients with Complicated Urinary Tract  
Infections: a Prospective Randomized Clinical Trial  
40 Kolomiets Vladislav M., Polshikova Natalya A., Petrov Andrey Yu.,  
Kovalenko Aleksey L., Alymenko Maksim A., Talikova Ekaterina V.  
Comorbid Tuberculosis in the Context  
of the Formation of a Local Epidemic Situation  
47 Shevchuk Yulia V., Sychev Ivan V., Kryukov Alexander V.,  
Temirbulatov Ilyas I., Mirzaev Karin B., Denisenko Natalya P.,  
Abdullaev Sherzod P., Tuchkova Svetlana N., Vechorko Valery I.,  
Averkov Oleg V., Sychev Dmitry A.  
A Model for Predicting the Risk of Developing Drug-Induced  
Liver Injury During Therapy with Favipiravir  
56 Serebryakova Elena N., Shilova Tatiana V.,  
Kozhevnikov Artem S., Razzhivin Artem M.  
The Case of Congenital Combined Immunodeficiency  
with Severe Atopy: the Importance  
of Early Diagnosis and Features  
of Therapeutic Strategies

### Reviews

- 61 Gostev Vladimir V., Gelezova Ludmila I., Chulkova Polina S.,  
Avdeeva Alisa A., Kalinogorskaya Olga S., Ageevets Vladimir A.,  
Tsvetkova Irina A., Zhuravlev Anton V., Sidorenko Sergey V.  
Clinical Metagenomics: a New Approach  
to Diagnostics of Infectious Diseases  
71 Teymurazov Marat G., Kovalenko Ilya M., Khokhlova Olga E.  
Application of Bacteriocins in Practice, Including Microcins:  
the Present and the Future  
86 Genatullina Guzel N., Yasyenyavskaya Anna L.,  
Samotrueva Marina A.  
Modern Methods of Identification  
of Non-Tuberculous Mycobacteria  
91 Maiborodin Igor V., Shumeikina Anastasia O.,  
Maiborodina Vitalina I., Krasilnikov Sergey E.  
Cardiotoxicity of Anticancer Drugs  
108 Olsufyeva Evgenia N., Yankovskaya Valentina S.  
Analysis of the Antibiotic Resistance Problem  
in the Agricultural Sector

\* 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.

# Влияние условий культивирования на передачу генов антибиотикорезистентности у холерного вибриона

\*Н. А. СЕЛЯНСКАЯ, С. В. ТИТОВА, Е. А. МЕНЬШИКОВА,  
С. О. ВОДОПЬЯНОВ, В. Д. КРУГЛИКОВ

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

## Резюме

Рост антибиотикорезистентности вызывает необходимость изучения процессов приобретения и утраты генетических элементов, ответственных за устойчивость. Цель исследования — изучить влияние температуры, биоплёнкообразования и антибиотиков на эффективность переноса интегративного конъюгативного элемента (ICE) в штаммах *Vibrio cholerae* O1 El Tor. Материал и методы. Осуществляли конъюгативную передачу ICE-элемента из штаммов *V. cholerae* O1 El Tor клеткам *Escherichia coli* QD 5003 Rif<sup>r</sup> и *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup> в планктоне и в биоплёнках на пластике и хитине при 25–37°C. Наличие ICE определяли по гену интегразы (*int*). Трансконъюганты тестировали на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов устойчивости к тетрациклам (*tetR*), фторхинолонам (*qnrVCI*), триметоприму (*dfrAI*) и хлорамфениколу (*floR*). Индукцию конъюгации проводили субингибирующими концентрациями ципрофлоксацина, доксициклина, триметоприма/сульфаметоксазола, стрептомицина. Результаты. Эффективность конъюгации в биоплёнках была выше, чем в планктоне, и снижалась при понижении температуры. Стрептомицин и триметоприм/сульфаметоксазол стимулировали конъюгацию в биоплёнках на хитине. Доксициклин и ципрофлоксацин увеличивали частоту конъюгации в планктоне. Заключение. Температура и биоплёнкообразование влияют на передачу генов антибиотикорезистентности у холерных вибрионов. В условиях сложной биоплёнки, по сравнению с планктонной формой, происходит повышение эффективности конъюгации между холерными вибрионами и другими представителями семейства Enterobacteriaceae, более выраженное на биотическом субстрате (хитине) и при 37°C. Субингибирующие концентрации антибиотиков могут как стимулировать, так и подавлять процесс конъюгации в биоплёнках. Необходимо решение экологических проблем, связанных с загрязнением окружающей среды пластиковым мусором и антибиотиками, соблюдение дозировок при назначении средств этиотропной терапии, поиск веществ, подавляющих передачу генов антибиотикорезистентности, либо способствующих элиминации имеющихся мобильных генетических элементов, ответственных за антибиотикорезистентность.

**Ключевые слова:** холерные вибрионы; конъюгация; ICE-элемент; гены антибиотикорезистентности

Для цитирования: Селянская Н. А., Титова С. В., Меньшикова Е. А., Водопьянов С. О., Кругликов В. Д. Влияние условий культивирования на передачу генов антибиотикорезистентности у холерного вибриона. Антибиотики и химиотер. 2024; 69 (9–10): 4–10. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-4-10>. EDN: QYNJYC

# Influence of Cultivation Conditions on the Transmission of Antibiotic Resistance Genes in *Vibrio cholerae*

\*NADEZHDA A. SELYANSKAYA, SVETLANA V. TITOVA, ELENA A. MENSHIKOVA,  
SERGEY O. VODOPYANOV, VLADIMIR D. KRUGLIKOV

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don

## Abstract

The growth of antibiotic resistance necessitates studying the processes of acquisition and loss of genetic elements responsible for resistance. The aim of the study was to investigate the effect of temperature, biofilm formation, and antibiotics on the efficiency of integrative conjugative element (ICE) transfer in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains. Material and methods. Conjugative transfer of the ICE element from *V. cholerae* O1 El Tor strains to *Escherichia coli* QD 5003 Rif<sup>r</sup> and *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup> cells was carried out in plankton and in biofilms on plastic and chitin at 25–37°C. The presence of ICE was determined by the integrase gene (*int*). Transconjugants were tested for antibiotic sensitivity and for the presence of resistance genes to tetracyclines (*tetR*), fluoroquinolones (*qnrVCI*), trimethoprim (*dfrAI*), and chloramphenicol (*floR*). Conjugation was induced by subinhibitory concentrations of ciprofloxacin, doxycycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, and streptomycin. Results. Conjugation efficiency was higher in biofilms than in plankton, and lower with decreasing temperature. Streptomycin and trimethoprim/sulfamethoxazole stimulated conjugation in chitinous biofilms. Doxycycline and ciprofloxacin increased conjugation frequency in plankton. Conclusion. Temperature and biofilm formation affect the transfer of antibiotic resistance genes in *V. cholerae*. In complex biofilm conditions, compared to the planktonic form, there is an increase in the efficiency of conjugation between *V. cholerae* and other representatives of the Enterobacteriaceae family, which is more pronounced on the biotic substrate (chitin) and at 37°C. Subinhibitory concentrations of antibiotics can both stimulate and suppress the conjugation process in biofilms. It is necessary to solve environmental problems as-

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: [ppdn@inbox.ru](mailto:ppdn@inbox.ru)



\*Correspondence to:  
E-mail: [ppdn@inbox.ru](mailto:ppdn@inbox.ru)



EDN: QYNJYC



sociated with environmental pollution by plastic waste and antibiotics, and to observe dosages when prescribing etiotropic therapy, as well as to search for substances that suppress the transfer of antibiotic resistance genes or promote the elimination of existing mobile genetic elements responsible for antibiotic resistance.

**Keywords:** *Vibrio cholerae*, conjugation, ICE element, antibiotic resistance genes.

**For citation:** Selyanskaya N. A., Titova S. V., Menshikova E. A., Vodopyanov S. O., Kruglikov V. D. Influence of cultivation conditions on the transmission of antibiotic resistance genes in *Vibrio cholerae*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 4–10. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-4-10>. EDN: QYNJYC

## Введение

Устойчивость бактерий к антибиотикам представляет собой растущую угрозу для глобального здравоохранения. Решающую роль в распространении генов устойчивости к антибиотикам среди бактериальных популяций играют мобильные генетические элементы (ICE). *Vibrio cholerae*, этиологический агент холеры, обладает способностью приобретать ICE-элементы путём конъюгации и встраивать их в свой геном для структурирования метаболических процессов, развития лекарственной устойчивости и колонизации кишечника человека. ICE представляют собой большие геномные сегменты, несущие несколько бактериальных адаптивных функций, включая устойчивость к противомикробным препаратам. У возбудителя холеры в составе ICE обнаружены гены, кодирующие устойчивость к тетрациклину (*tetA*), триметоприму/сульфаметоксазолу (*dfpA1* и *sul2*), стрептомицину (*strAB*), хлорамфениколу (*floR*) и др. [1]. Эти элементы несут в себе также гены, кодирующие аппарат конъюгации, которая осуществляется путём физического контакта клеток и одностороннего переноса ДНК донора через специальные морфологические структуры (пили) в клетку реципиента [2]. Реакция бактериального стресса «SOS-ответ» у *V. cholerae* играет ключевую роль в индукции переноса ICE-элемента и стимулируется различными факторами окружающей среды, в число которых входят антибиотики [3], тяжёлые металлы, облучение солнечным или ультрафиолетовым светом [4, 5].

Холерные вибрионы способны образовывать биоплёнки, в составе которых они более устойчивы к действию неблагоприятных факторов, в том числе антибиотиков [6]. С одной стороны, биоплёнки обеспечивают уникальные условия роста, при которых между клетками происходит тесный контакт, что способствует передаче генов множественной лекарственной устойчивости путём конъюгации [7]. С другой стороны, экзополисахаридный матрикс препятствует проникновению в глубокие слои биоплёнки генетических элементов [8], защищает от воздействия стрессовых факторов, что может снижать эффективность конъюгативного переноса. Большое влияние на частоту конъюгации оказывает физиологическое состояние клеток, состав клеточной стенки, доступность энергии, условия культивирования, в частности pH, температура, антибиотики [9–12].

На сегодняшний день воздействие факторов окружающей среды на перенос генов устойчивости к антибиотикам в бактериальных популяциях недостаточно изучено, а имеющиеся знания противоречивы, в связи с чем актуальным является изучение процессов приобретения и утраты генетических элементов, ответственных за устойчивость *V. cholerae* к различным антибактериальным препаратам.

Цель исследования — изучить влияние температуры, биоплёнкообразования и антибиотиков на эффективность переноса интегративного конъюгативного элемента (ICE) в штаммах *V. cholerae* O1 El Tor.

## Материал и методы

Все штаммы, использованные в работе, получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора: *V. cholerae* O1 El Tor (ctx+tcp+), содержащие ICE-элемент, выделенные на территории Российской Федерации в 2010–2012 гг. от людей (19667, 19242, 19188, 18899, 19191) и из объектов окружающей среды (19241), которые служили донорами в опытах конъюгации. Штаммы *Escherichia coli* QD 5003Rif<sup>r</sup> и *V. cholerae* O1 El Tor (ctx+tcp+) 5879 Nal<sup>r</sup>, не содержащие ICE-элемент, взяты в качестве реципиентов в прямых и обратных кроссах, соответственно.

Конъюгативную передачу *r*-детерминант резистентности, входящих в ICE-элемент, от штаммов холерных вибрионов клеткам *E. coli* QD 5003 Rif<sup>r</sup> и в обратных кроссах от полученных трансконъюгантов клеткам *V. cholerae* O1 El Tor 5879 Nal<sup>r</sup> в планктоне проводили по стандартной методике [13]. Для определения эффективности конъюгативной передачи в бактериальных сообществах формировали сложные биоплёнки на фрагментах экзоскелета хитинового панциря широкопалого речного рака *Astacus astacus* и пластинках пищевого пластика при температурах 25±2°C или 37±2°C методом, описанным ранее [14]. Биоплёнки получали в течение 48 ч, трижды промывали для удаления неприкреплённых клеток, затем помещали в эппендорфы и подвергали разрушению на аппарате Vortex в течение 3 мин при максимальной мощности. Производили высев планктонных или биоплёночных культур на плотные питательные среды, содержащие антибактериальные препараты для селекции трансконъюгантов и контрселекции донора и реципиента (триметоприм — 8 мг/л и рифампицин — 200 мг/л или налидиксовая кислота — 100 мг/л).

Для изучения влияния субингибирующих концентраций антибиотиков на конъюгативную передачу *r*-детерминант резистентности, входящих в ICE-элемент, в смесь культур в планктоне или во флаконы с формирующимися биоплёнками предварительно добавляли субингибирующие концентрации антибактериальных препаратов (ципрофлоксацина, доксицилина, триметоприма/сульфаметоксазола, стрептомицина), которые определялись на основе минимальной подавляющей концентрации (МПК), в соответствии с Методическими указаниями 4.2.2495-09 [15] и 4.2.3745-22 [16].

Частоту передачи подсчитывали отношением числа выросших трансконъюгантов к общему числу живых бактерий, использованных для посева.

Выделение ДНК, проведение ПЦР и учёт результатов проводили по известной методике [17, 18]. В качестве маркера для обнаружения ICE-элемента в штаммах использовался ген интегразы *int* [19]. Для подтверждения факта переноса генов отобранные трансконъюганты тестировали на чувствительность к антибиотикам и на наличие генов лекарственной устойчивости к тетрациклинам (*tetR*), фторхинолонам (*qnrVCI*), триметоприму (*dfrA1*) и хлорамфениколу (*floR*), которые выявляли с помощью ПЦР в формате реального времени [20].

Для проведения статистической обработки результаты экспериментов были разбиты на две группы: первая — кроссы от штаммов холерных вибрионов клеткам *E. coli* QD 5003 *Rif<sup>r</sup>*, вторая — обратные кроссы от полученных трансконъюгантов *E. coli* QD 5003 *Rif<sup>r</sup> + R* клеткам *V. cholerae* O1 El Tor 5879 *Nal<sup>r</sup>*. Достоверность различий в эффективности конъюгации в каждой группе определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым. В качестве контроля сравнения принимали частоту передачи генов при  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  в каждом из субстратов в отсутствии антибактериальных препаратов (АБП). Также определяли достоверность различий в эффективности конъюгации в планктоне и в биоплёнках без АБП при разных температурах и между группами.

## Результаты и обсуждение

На плотных питательных средах, содержащих антибактериальные препараты для селекции

трансконъюгантов и контрселекции донора и реципиента как в прямых (первая группа штаммов — от *V. cholerae* O1 El Tor к *E. coli* QD5003 *Rif<sup>r</sup>*), так и в обратных кроссах (вторая группа — от *E. coli* QD5003 *Rif<sup>r</sup> + R* к *V. cholerae* O1 El Tor 5879 *Nal<sup>r</sup>*), были получены трансконъюганты, которые имели устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу, как и штаммы-доноры, а также гены устойчивости к триметоприму *dfrA1* при их отсутствии у штамма-реципиента. Наличие гена интегразы (*int*) у штаммов-доноров и трансконъюгантов свидетельствует о присутствии ICE-элемента (табл. 1).

Частота передачи ICE-элемента в прямых и обратных кроссах, рассчитанная как средний показатель для каждой группы исследуемых штаммов (по 6), представлена на рисунке (а, б) и в табл. 2.

Как видно из рисунка, без воздействия АБП так же как и в их присутствии, в обеих группах экспериментов при двух температурных режимах наблюдалось увеличение эффективности конъюгации в биоплёнках в сравнении с планктоном, более выраженное на хитине. При этом при по-

**Таблица 1. Фено- и генотипы штаммов-доноров (Д), штаммов-реципиентов (Р) и полученных трансконъюгантов (Т)**

**Table 1. Phenotypes and genotypes of donor strains (Д), recipient strains (Р) and obtained transconjugants (Т)**

| Штаммы микроорганизмов |                                                                        | Фенотипы*                                      | Гены**     |              |             |            |            |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------|--------------|-------------|------------|------------|
|                        |                                                                        |                                                | <i>qnr</i> | <i>dfrA1</i> | <i>floR</i> | <i>tet</i> | <i>int</i> |
| Р                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup></i>                               | <i>Rif<sup>r</sup></i>                         | —          | —            | —           | —          | —          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19667                                     | <i>Nal<sup>r</sup>Tmp/Smz</i>                  | —          | +            | +           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19667</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>Tmp/Smz</i>                  | —          | +            | +           | —          | +          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19241                                     | <i>Fur<sup>r</sup>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i> | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19241</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19242                                     | <i>Fur<sup>r</sup>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i> | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19242</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19188                                     | <i>Fur<sup>r</sup>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i> | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19188</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 18899                                     | <i>Fur<sup>r</sup>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i> | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>18899</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19191                                     | <i>Fur<sup>r</sup>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i> | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19191</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/SmzSm</i>              | —          | +            | —           | —          | +          |
| Р                      | <i>V. cholerae</i> O1 El Tor 5879 <i>Nal<sup>r</sup></i>               | <i>Nal<sup>r</sup></i>                         | —          | —            | —           | —          | —          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19667</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>Tmp/Smz</i>                  | —          | +            | +           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>19667</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>Tmp/Smz</i>                  | —          | +            | +           | —          | +          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19241</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>19241</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19242</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>19242</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19188</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>19188</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>18899</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>18899</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |
| Д                      | <i>E. coli</i> QD <i>Rif<sup>r</sup> + R</i> <sub>19191</sub>          | <i>Rif<sup>r</sup>SmTmp/SmzSm</i>              | —          | +            | —           | —          | +          |
| Т                      | <i>V. cholerae</i> O1 5879 <i>Nal<sup>r</sup> + R</i> <sub>19191</sub> | <i>Nal<sup>r</sup>SmTmp/Smz</i>                | —          | +            | —           | —          | +          |

**Примечание.** \* — маркеры устойчивости: *Nal<sup>r</sup>* — к налидиксовой кислоте; *Rif<sup>r</sup>* — к рифампицину; *Sm* — к стрептомицину; *Cm* — к левомицетину; *Tmp/Smz* — к триметоприму/сульфаметоксазолу. \*\* — гены: *int* — интегразы; *qnr* — устойчивости к фторхинолонам; *dfrA1* — устойчивости к триметоприму; *floR* — устойчивости к левомицетину; *tet* — устойчивости к тетрациклину; «±» — наличие либо отсутствие признака.

**Note.** \* — resistance markers: *Nal<sup>r</sup>* — to nalidixic acid; *Rif<sup>r</sup>* — to rifampicin; *Sm* — to streptomycin; *Cm* — to chloramphenicol; *Tmp/Smz* — to trimethoprim/sulfamethoxazole. \*\* — genes: *int* — integrase; *qnr* — resistance to fluoroquinolones; *dfrA1* — resistance to trimethoprim; *floR* — resistance to chloramphenicol; *tet* — resistance to tetracycline; «±» — presence or absence of a trait.



нижении температуры до  $25\pm 2^\circ\text{C}$  все показатели были ниже, чем при  $37\pm 2^\circ\text{C}$ .

Увеличение конъюгативного переноса в биоплёнках связано с продукцией внеклеточного матрикса, который создаёт идеальный биофизический контакт между клетками [21]. Хитин богат питательными веществами, способствующими размножению холерных вибрионов [22], чем можно объяснить более высокую частоту конъюгации в биоплёнках, образованных на хитине, в сравнении с пластиком. При понижении температуры создаются менее благоприятные условия для процессов конъюгации, что согласуется с данными литературы [23].

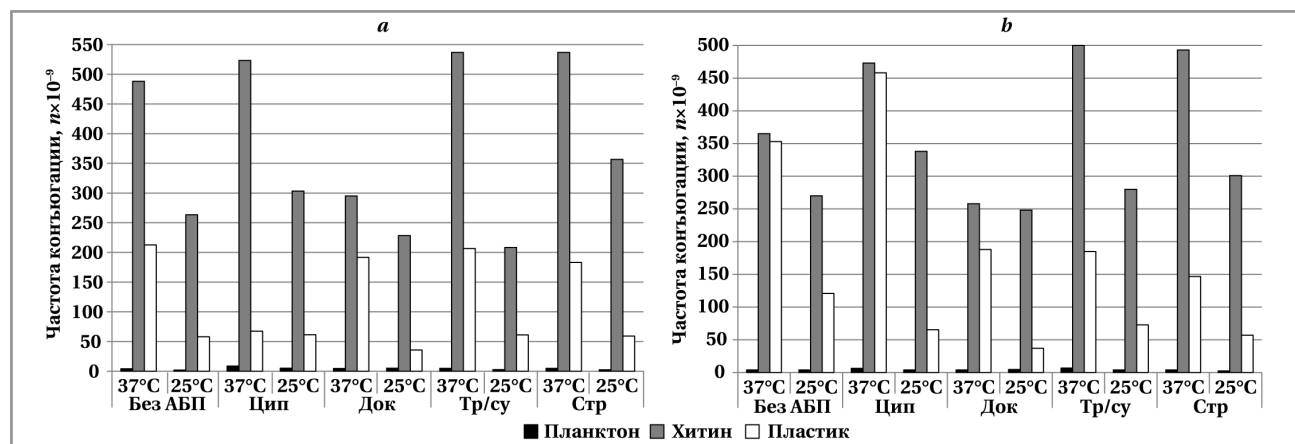
В первой группе исследуемых штаммов без воздействия АБП при температуре  $37\pm 2^\circ\text{C}$  в планктоне эффективность конъюгации составила  $(4,18\pm 0,78)\times 10^{-9}$  (см. табл. 2). В составе сложной биоплёнки, образованной клетками вибриона и кишечной палочки на хитине, при такой же температуре частота образования трансконъюгантов была достоверно выше более чем в 100 раз (на 1–2 порядка) и составила  $(488,3\pm 91,0)\times 10^{-9}$ . На пластике, хоть увеличение частоты конъюгации не было статистически значимым  $(212,50\pm 84,08)\times 10^{-9}$ , но было близко к пределу значимости ( $p=0,0054$ ) (табл. 2). Понижение температуры культивирования до  $25\pm 2^\circ\text{C}$  вызвало статистически значимое снижение эффективности конъюгации в планктоне  $(1,92\pm 0,34)\times 10^{-9}$  и в биоплёнках на хитине  $(263,33\pm 43,64)\times 10^{-9}$ , но не повлияло на значения частоты конъюгации в биоплёнках, образованных на пластике, отличия которых оказались не достоверными.

Во второй группе штаммов значения частоты конъюгации без воздействия АБП на всех субстратах и при обоих режимах культивирования не отличались от значений, полученных в первой группе. В этой группе при  $37\pm 2^\circ\text{C}$  эффективность конъюгации в биоплёнках на пластике и хитине без АБП была достоверно выше, чем в планктоне, и составила  $(353,33\pm 27,77)\times 10^{-9}$  и  $(365,0\pm 62,17)\times 10^{-9}$  против  $(4,0\pm 0,73)\times 10^{-9}$ . Понижение температуры культивирования до  $25\pm 2^\circ\text{C}$  вызывало достоверное снижение частоты получения трансконъюгантов лишь в биоплёнках, образованных на пластике  $((120,83\pm 12,41)\times 10^{-9})$ .

В присутствии субингибирующих концентраций антибиотиков эффективность конъюгации изменялась по-разному в зависимости от субстрата и температуры культивирования (см. табл. 2).

В первой группе штаммов стрептомицин не оказывал значимого воздействия на эффективность конъюгации в планктоне и в биоплёнках, образованных на пластике при  $37\pm 2^\circ\text{C}$ . Изменение температуры до  $25\pm 2^\circ\text{C}$  существенно не повлияло на перенос ICE-элемента в этих субстратах. В биоплёнках, сформированных на хитине, в присутствии данного антибиотика наблюдалось достоверное увеличение показателей передачи при обеих температурах.

Добавление доксициклина в планктон, а также в среду формирования биоплёнок на пластике при  $37\pm 2^\circ\text{C}$  и  $25\pm 2^\circ\text{C}$  существенно не влияло на эффективность получения трансконъюгантов. Достоверно значимое увеличение частоты конъюгации в планк-



Частота передачи ICE-элемента в прямых и обратных кроссах, рассчитанная как средний показатель для каждой группы исследуемых штаммов (по 6), представлена на рис. (a, b) и в табл. 2.

Примечание. АБП — антибактериальный препарат; Цип — ципрофлоксацин; Док — доксициклин; Тр/су — триметоприм/сульфаметоксазол; Стр — стрептомицин. Частота конъюгации при разных условиях культивирования: a — в кроссах от *V. cholerae* к *E. coli* QD5003 *Rif*<sup>r</sup> (первая группа); b — в кроссах от *E. coli* *Rif*<sup>r</sup> + *R* к *V. cholerae* O1 5879 *Nal*<sup>r</sup> (вторая группа).

The frequency of ICE element transmission in direct and reverse crosses, calculated as the average for each group of the studied strains (6 each), is presented in Fig. (a, b) as well as in Table 2.

Note. ABP — antibacterial drug; Цип — ciprofloxacin; Док — doxycycline; Тр/су — trimethoprim/sulfamethoxazole; Стр — streptomycin. Conjugation frequency under different cultivation conditions: a — in cross-reactions between *V. cholerae* to *E. coli* QD5003 *Rif*<sup>r</sup> (first group); b — in cross-reactions between *E. coli* *Rif*<sup>r</sup> + *R* to *V. cholerae* O1 5879 *Nal*<sup>r</sup> (second group).

**Таблица 2. Частота образования трансконъюгантов при разных условиях культивирования**  
**Table 2. Frequency of transconjugant formation under different culture conditions**

| Группа штаммов                                                                              | t, °C±2 | Антибактериальный препарат и дозировка, мг/л | Частота образования трансконъюгантов в субстратах, (M±m)×10 <sup>-9</sup> |                           |                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                                                                             |         |                                              | планктон                                                                  | пластик                   | хитин                    |
| <i>V. cholerae</i> O1 El Tor —<br><i>E. coli</i> QD5003 Rif <sup>r</sup>                    | 37      | Без АБП                                      | 4,18±0,78                                                                 | 212,5±84,08               | 488,3±91,0 <sup>#</sup>  |
|                                                                                             |         | Стрептомицин, 1,0                            | 4,75±0,84                                                                 | 183,3±37,8                | 536,7±80,6*              |
|                                                                                             |         | Доксициклин, 0,01                            | 4,70±1,25                                                                 | 191,67±24,0               | 295,0±84,0               |
|                                                                                             |         | Триметоприм/сульфаметоксазол, 0,5            | 4,83±0,90                                                                 | 206,7±50,2                | 536,7±84,6*              |
|                                                                                             |         | Ципрофлоксацин, 0,0001                       | 8,80±0,56*                                                                | 67,33±6,65*               | 523,3±81,7               |
|                                                                                             | 25      | Без АБП                                      | 1,92 ±0,34*                                                               | 58,00±16,89               | 263,33±43,64*            |
|                                                                                             |         | Стрептомицин, 1,0                            | 2,37±0,29                                                                 | 59,33±9,22                | 356,7±48,6**             |
|                                                                                             |         | Доксициклин, 0,01                            | 5,20±1,269*                                                               | 35,67±11,67               | 228,3±55,1               |
|                                                                                             |         | Триметоприм/сульфаметоксазол, 0,5            | 2,62±0,60                                                                 | 61,17±13,37               | 208,33±71,33             |
|                                                                                             |         | Ципрофлоксацин, 0,0001                       | 5,18 ±0,89*                                                               | 61,50±8,18                | 303,33±38,87**           |
| <i>E. coli</i> QD5003 Rif <sup>r</sup> + R —<br><i>V. cholerae</i> O1 5879 Nal <sup>r</sup> | 37      | Без АБП                                      | 4,0±0,73                                                                  | 353,33±27,77 <sup>#</sup> | 365,0±62,17 <sup>#</sup> |
|                                                                                             |         | Стрептомицин, 1,0                            | 3,97±0,62                                                                 | 146,67±14,98              | 493,33±42,48             |
|                                                                                             |         | Доксициклин, 0,01                            | 6,83±1,14                                                                 | 188,33±19,05              | 258,33±65,44             |
|                                                                                             |         | Триметоприм/сульфаметоксазол, 0,5            | 4,47±0,82                                                                 | 185,00±31,28              | 535,0±86,13              |
|                                                                                             |         | Ципрофлоксацин, 0,0001                       | 6,20±0,52                                                                 | 458,33±42,77              | 473,33±50,77             |
|                                                                                             | 25      | Без АБП                                      | 3,97±0,83                                                                 | 120,83±12,41*             | 270,00±32,15             |
|                                                                                             |         | Стрептомицин, 1,0                            | 2,33±0,21                                                                 | 57,0±7,97                 | 301,67±47,08             |
|                                                                                             |         | Доксициклин, 0,01                            | 4,08±0,72                                                                 | 37,17±11,73               | 248,33±38,94             |
|                                                                                             |         | Триметоприм/сульфаметоксазол, 0,5            | 4,0±0,52                                                                  | 72,83±16,57               | 280,0±36,06              |
|                                                                                             |         | Ципрофлоксацин, 0,0001                       | 3,95±0,624                                                                | 65,33±5,43                | 338,33±30,92**           |

**Примечание.** t, °C — температура инкубации во время конъюгации; M — средний показатель в группе исследуемых штаммов; m — ошибка средней; \* — достоверность отличий ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении со значением на данном субстрате без АБП при 37°C; \*\* — достоверность отличий ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении со значением на данном субстрате без АБП при 25°C; # — достоверность отличий ( $p \leq 0,05$ ) в сравнении со значением в планктоне.

**Note.** t, °C — incubation temperature during conjugation; M — average value in the group of studied strains; m — standard error of the mean; \* — significance of differences ( $P \leq 0.05$ ) compared with the value on a given substrate without ABP at 37°C; \*\* — significance of differences ( $P \leq 0.05$ ) compared with the value on a given substrate without ABP at 25°C; \*\*\* — significance of differences ( $P \leq 0.05$ ) compared with the value in plankton.

тоне происходило только при одновременном воздействии доксициклина и температуры 25±2°C.

В нашем исследовании переносимый ICE-элемент содержал гены устойчивости к триметоприму dfrA1. Триметоприм /сульфаметоксазол достоверно повышал частоту конъюгативного переноса в биоплёнках на хитине при 37±2°C, но в сочетании с температурой 25±2°C изменения были недостоверны. По мнению Н. Ма и J. D. Bryers [24], биоплёночные бактерии «чувствуют» антибиотики, к которым они устойчивы, что способствует распространению резистентности. Авторы наблюдали десятикратное увеличение эффективности переноса плазмиды, содержащей ген устойчивости к канамицину, в биоплёнках *Pseudomonas putida*, подвергшихся воздействию субингибирующей дозы этого антибиотика. Однако в присутствии другого антибиотика — имипенема, перенос этой плазмиды не увеличивался.

При воздействии ципрофлоксацина в планктоне наблюдали статистически значимое увеличение эффективности конъюгации при обеих температурах. Этот антибиотик вызывал достоверное увеличение частоты получения трансконъюгантов на хитине при 25±2°C, хотя на пластике этот показатель достоверно снижался при 37±2°C.

Ципрофлоксацин стимулировал процесс конъюгации в биоплёнках, образованных на хи-

тине при температуре 25±2°C и во второй группе штаммов. При этом другие АБП не вызывали достоверного изменения частоты образования трансконъюгантов (см. табл. 2).

Фторхинолоновые антибиотики вызывают повреждение ДНК, которое может стимулировать SOS-реакцию репарации ДНК. J. W. Beaber и соавт. [25] было показано, что в присутствии антибиотиков гены SOS стимулируют конъюгацию между *V. cholerae* и *E. coli*. Аналогично, другие зарубежные исследователи пришли к выводу, что регулятор CroS является ключевым фактором стимуляции конъюгативной передачи ICE в ответ на ДНК-разрушающие агенты [26]. В исследованиях R. S. Mohanraj и J. Mandal [27] наблюдалась более высокая частота переноса элементов SXT в культурах, подвергшихся воздействию ципрофлоксацина, а также азитромицина и тетрациклина, за счёт активации SOS-ответа у *V. cholerae*.

Различия в эффективности образования трансконъюгантов в присутствии АБП могут иметь различные причины. Индуцированный антибиотиками стресс может вызывать клеточные реакции, такие как изменения клеточной стенки или изменения в регуляции экспрессии генов, что увеличивает эффективность переноса генов [24, 28]. Антибиотики также могут оказывать сильное

влияние на размер и форму клеток, на архитектуру биоплёнки, на динамику популяции и сборку сообщества [29]. По-видимому, частота конъюгации и воздействие на неё антибиотиков зависят от видовой принадлежности микроорганизмов, их соотношения и конкурентных взаимоотношений, от субстрата, на котором формируется биоплёнка.

## Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о влиянии температуры и биоплёнокообразования на передачу генов антибиотикорезистентности у холерных вибрионов. В условиях сложной биоплёнки, по сравнению с планктонной формой, происходит повышение эффективности процессов конъюгации между холерными вибрионами и другими представителями семейства *Enterobacteriaceae*, более выраженное на биотическом субстрате (хитине). При этом интенсивность генетического обмена тем выше, чем выше температура культивирования. Это может способствовать не только распространению ICE-элемента, но и появлению клонов бактерий с различными типами ICE в случае захвата ими и переноса соседних участков генома или, наоборот, утратой генов, а также в случае экспрессии генов, функции которых пока ещё не известны. Подтверждением этому является постоянное обнаружение новых типов ICE, которых к настоящему времени во всём мире выявлено более 35 [30].

## Литература/References

- Рыбальченко Д. А., Щелканова Е. Ю., Лозовский Ю. В., Федоров А. В., Смирнова Н. И. Распространенность разных типов интегративного конъюгативного элемента SXT/R391, кодирующего множественную резистентность к антибиотикам, среди клинических штаммов возбудителя холеры. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 1: 137–147. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-137-147>. [Rybalchenko D. A., Shchelkanova E. Y. u., Lozovsky Yu. V., Fedorov A. V., Smirnova N. I. Prevalence of different types of integrative conjugative element SXT/R391 encoding multiple antibiotic resistance among clinical strains of cholera agent. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii. 2022; (1): 137–147. doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2022-1-137-147> (in Russian)]
- Corrado N., Burrus V. The dualistic nature of integrative and conjugative elements. *Annu Rev Genet* 2015; 21: 98–102. doi: 10.1080/2159256X.2015.1102796
- Bioteau A., Durand R., Burrus V. Redefinition and unification of the SXT/R391 family of integrative and conjugative elements. *Applied Environmen Microbiology*. 2018; 84: 13. doi: 10.1128/AEM.00485-18.
- Lu J., Wang Y., Jin M., Yuan Z., Bond P., Guo J. Both silver ions and silver nanoparticles facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes. *Water Res.* 2020; 169: 115229. doi: 10.1016/j.watres.2019.115229.
- Chen X., Yin H., Li G., Wang W., Wong P. K., Zhao H., An T. Antibiotic-resistance gene transfer in antibiotic-resistance bacteria under different light irradiation: Implications from oxidative stress and gene expression. *Water Res.* 2019; 149: 282–291. doi: 10.1016/j.watres.2018.11.019.
- Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol.* 2013; 4: 375. doi: 10.3389/fmicb.2013.00375.
- 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.
- Król J. E., Wojtowicz A. J., Rogers L. M., Heuer H., Smalla K., Krone S. M., Top E. M. Invasion of *E. coli* biofilms by antibiotic resistance plasmids. *Plasmid.* 2013; 70 (1): 110–119. doi: 10.1016/j.plasmid.2013.03.003.
- Lopatkin A. J., Huang S., Smith R. P., Srimani J. K., Syssoeva T. A., Bewick S., Karig D. K., You L. Antibiotics as a selective driver for conjugation dynamics. *Nat Microbiol.* 2016; 1: 16044. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.44
- Dahmane N., Robert E., Deschamps J., Meylheuc T., Delorme C., Briandet R., Leblond-Bourget N., Guédon E., Payot S. Impact of cell surface molecules on conjugative transfer of the integrative and conjugative element ICeSt3 of *Streptococcus thermophilus*. *Appl Environ Microbiol.* 2018; 84 (5): e02109–17. doi: 10.1128/AEM.02109-17.
- Huang H., Chen Y., Zheng X., Su Y., Wan R., Yang S. Distribution of tetracycline resistance genes in anaerobic treatment of waste sludge: The role of pH in regulating tetracycline resistant bacteria and horizontal gene transfer. *Bioresour Technol.* 2016; 218: 1284–1289. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.097.
- Nohejl T., Valcek A., Papousek I., Palkovicova J., Wailan A. M., Pratova H., Minoia M., Dolejska M. Genomic analysis of qnr-harboring IncX plasmids and their transferability within different hosts under induced stress. *BMC Microbiol.* 2022; 22 (1): 136. doi: 10.1186/s12866-022-02546-6.
- Селянская Н. А., Водопьянов С. О., Рыкова В. А., Соколова Е. П. Трансмиссивная антибиотикостойчивость, обусловленная SXT-элементом, у холерных вибрионов, выделенных на территории России. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020; 3: 258–264. doi: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-3-8>. [Selyanskaya N. A., Vodopyanov S. O., Rykova V. A., Sokolova E. P. Transmissible antibiotic resistance, associated with the SXT element, in cholera vibrios isolated in the territory of Russia. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology*. 2020; (3): 258–264. (in Russian)]
- Селянская Н. А., Меньшикова Е. А., Курбатова Е. М., Головин С. Н. Оценка эффективности антибиотиков в отношении *Vibrio cholerae* в условиях формирования сложной биоплёнки. Антибиотики и химиотерапия. 2020; 65 (3–4): 12–15. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-12-15. [Selyanskaya N. A., Menshikova E. A., Kurbatova E. M., Golovin S. N. Evaluation of antibiotics effectiveness against *Vibrio cholerae* under the conditions of complex biofilm formation. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2020; 65 (3–4): 12–15. doi: 10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-12-15. (in Russian)]
- Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. Метод. указ. МУК 4.2.2495-09. М.: 2009; 59. Identification of the pathogens of dangerous bacterial infections (plague, anthrax, cholera, tularemia, brucellosis, glanders, melioidosis) to antibacterial medicines. Method. the Decree. MU 4.2.2495-09. Moscow; 2009; 59. (in Russian)]



16. Методы лабораторной диагностики холеры. Метод. указ. МУК 4.2.3745-22. М.: 2022:24. Methods of laboratory diagnosis of cholera. Method. the Decree. МУ4.2.3745-22. Moscow: 2022; 24. (in Russian)]
17. Водопьянов А. С., Водопьянов С. О., Олейников И. П., Мишанькин Б. Н., Кругликов В. Д., Архангельская И. В., Зубкова Д. А., Ежова Т. Н. II. INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. Здоровье населения и среда обитания. 2015; 5 (266): 41–44. [Vodopyanov A. S., Vodopyanov S. O., Oleynikov I. P., Mishan'kin B. N., Kruglikov V. D., Arkhangelskaya I. V., Zubkova D. A., Yezhova T. N. II. INDEL- и VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. Public Health and Life Environment. 2015; 5 (266): 41–44. (in Russian)]
18. Титова С. В., Меньшикова Е. А., Водопьянов С. О., Олейников И. П., Бородин Т. Н. Изучение биопленочной формы холерных вибрионов методом ПЦР-РВ. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2022; 27 (1): 23–32. doi: <https://doi.org/10.17816/EID109894>. [Titova S. V., Menshikova E. A., Vodopyanov S. O., Oleynikov I. P., Borodina T. N. Study of the biofilm form of *Vibrio cholerae* by RT-PCR. Epidemiology and Infectious Diseases. 2022; 27 (1): 23–32. doi: <https://doi.org/10.17816/EID109894>. (in Russian)]
19. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Colombo M. M. Rapid detection by multiplex PCR of Genomic Islands, prophages and Integrative Conjugative Elements in *V. cholerae* 7<sup>th</sup> pandemic variants. J Microbiol Methods. 2012; 88 (1): 98–102. doi: [10.1016/j.mimet.2011.10.017](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.017).
20. Крицкий А. А., Челдышова Л. Б., Заднова С. П., Плеханов Н. А., Смирнова Н. И. Способ одновременного выявления штаммов *Vibrio cholerae* и определения в их геноме генов лекарственной устойчивости с помощью ПЦР в режиме реального времени. Биотехнология. 2018; 34 (2): 70–72. doi: [10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79](https://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79). [Kritskii A. A., Cheldyshova L. B., Zadnova S. P., Plekhanov N. A., Smirnova N. I. A method for simultaneous detection of *Vibrio cholerae* strains and drug resistance genes in their genome by means of real-time PCR. Biotechnologiya. 2018; 34 (2): 70–72. doi: [10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79](https://doi.org/10.21519/0234-2758-2018-34-2-70-79). (in Russian)]
21. 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](https://doi.org/10.1128/AAC.00657-09).
22. Марков Е. Ю., Куликалова Е. С., Урбанович Л. Я., Вишняков В. С., Балахонов С. В. Хитин и продукты его гидролиза в экологии *Vibrio cholerae*. Обзор. Биохимия. 2015; 80 (9): 1334–1343. [Markov E. Y., Kulikalova E. S., Urbanovich L. Y., Balakhonov S. V., Vishnyakov V. S. Chitin and products of its hydrolysis in *Vibrio cholerae* ecology. Biochemistry (Moscow). 2015; 80 (9): 1109–1116. (in Russian)]
23. Pallares-Vega R., Macedo G., Brouwer M. S. M., Leal L. H., Maas P., Loosdrecht M. C. M., Weissbrodt D. G., Heederik D., Mevius D., Schmitt H. Temperature and Nutrient Limitations Decrease Transfer of Conjugative IncP-1 Plasmid pJK5 to Wild *Escherichia coli*. Front microbiol. 2021; 12: 656250. doi: [10.3389/fmicb.2021.656250](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.656250).
24. Ma H., Bryers J. D. Non-invasive determination of conjugative transfer of plasmids bearing antibiotic-resistance genes in biofilm-bound bacteria: effects of substrate loading and antibiotic selection. Appl Microbiol Biotechnol. 2013; 97 (1): 317–328. doi: [10.1007/s00253-012-4179-9](https://doi.org/10.1007/s00253-012-4179-9).
25. Beaber J. W., Hochhut B., Waldor M. K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. Nature. 2004; 427 (6969): 72–74. doi: [10.1038/nature02241](https://doi.org/10.1038/nature02241).
26. Poulin-Laprade D., Burrus V. A  $\lambda$  cro-like repressor is essential for the induction of conjugative transfer of SXT/R391 elements in response to DNA damage. J. Bacteriol. 2015; 197 (24): 3822–3833. doi: [10.1128/JB.00638-15](https://doi.org/10.1128/JB.00638-15).
27. Mohanraj R. S., Mandal J. Azithromycin can induce SOS response and horizontal gene transfer of SXT element in *Vibrio cholerae*. Mol Biol Rep. 2022; 49 (6): 4737–4748. doi: [10.1007/s11033-022-07323-2](https://doi.org/10.1007/s11033-022-07323-2).
28. Schuurmans J. M., Hijum S. A. F. T., Piet J. R., Handel N., Smelt J., Brul S., ter Kuile B. H. Effect of growth rate and selection pressure on rates of transfer of an antibiotic resistance plasmid between *E. coli* strains. Plasmid. 2014; 72: 1–8. doi: [10.1016/j.plasmid.2014.01.002](https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2014.01.002).
29. Díaz-Pascual E., Hartmann R., Lempp M., Vidakovic L., Song B., Jeckel H., Thormann K. M., Yildiz F. H., Dunkel J., Link H., Nadel C. D., Drescher K. Breakdown of *Vibrio cholerae* biofilm architecture induced by antibiotics disrupts community barrier function. Nat Microbiol. 2019; 4 (12): 2136–2145. doi: [10.1038/s41564-019-0579-2](https://doi.org/10.1038/s41564-019-0579-2).
30. Захарова И. Б., Викторов Д. В. Интегративные конъюгативные элементы микроорганизмов (ICES). Молекулярная генетика. 2015; 33 (3): 9–16. [Zakharova I. B., Viktorov D. V. Integrative Conjugative Elements (ICES) of microorganisms. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2015; 30 (3): 114–123. (in Russian)]

Поступила / Received 22.01.2023

Принята в печать / Accepted 25.12.2024

## Информация об авторах

Селянская Надежда Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0008-4705. eLibrary SPIN: 7920-3340

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. ORCID ID: 0000-0002-7831-841X. eLibrary SPIN: 5695-2103

Меньшикова Елена Аркадьевна — к. б. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6003-4283

Водопьянов Сергей Олегович — д. м. н., ведущий научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4336-0439

Кругликов Владимир Дмитриевич — д. м. н., главный научный сотрудник, начальник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6540-2778

## About the authors

Nadezhda A. Selyanskaya — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0008-4705. eLibrary SPIN: 7920-3340

Svetlana V. Titova — Ph. D. in Medicine, Leading Researcher of the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7831-841X. eLibrary SPIN: 5695-2103

Elena A. Menshikova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6003-4283

Sergey O. Vodopyanov — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4336-0439

Vladimir D. Kruglikov — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher, Head of the Department of Microbiology of Cholera and Other Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6540-2778

# Исследование противовирусной активности препаратов и их комбинации в отношении вируса гриппа А

\*Е. Н. ВЕТРОВА<sup>1</sup>, Н. М. ГРЕЦКАЯ<sup>2</sup>, И. В. СЕРКОВ<sup>3</sup>, И. И. ЛЮБИМОВ<sup>4</sup>,  
Т. Н. ПРИТЧИНА<sup>1</sup>, Е. В. ГУРЬЯНОВА<sup>5</sup>, В. В. БЕЗУГЛОВ<sup>2</sup>, Г. А. ГАЛЕГОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ГНЦ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия

<sup>4</sup> ООО «Гурус БиоФарм», Москва, Россия

<sup>5</sup> Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Москва, Россия

## Резюме

**Актуальность.** Проблема профилактики и лечения гриппа сохраняет актуальность за счёт стабильно высокого уровня заболеваемости населения всех возрастных групп, особенно детей и пожилых людей. Противовирусные препараты стали важнейшими инструментами в борьбе с вирусами гриппа. Основной проблемой является поиск и разработка новых противовирусных препаратов, которые не обладают побочными эффектами. **Цель.** Изучение воздействия нового синтетического лекарственного кандидата на основе адамантана (NMG 1110) и его комбинации с рибавирином на репродукцию вируса гриппа А в культуре клеток МДСК. **Материалы и методы.** Определение цитотоксичности и противовирусной активности препаратов на клеточной линии МДСК для вируса гриппа А(H3N2)/Aichi/1/68 при разных схемах внесения препаратов в клетки: непосредственно после заражения, через 2 ч после заражения, через 4 ч после заражения клеток вирусом. **Результаты.** Установлено, что при исследуемых концентрациях препараты оказались малотоксичными для культуры клеток МДСК. На модели вируса гриппа А(H3N2)/Aichi/1/68, в культуре клеток показано, что время внесения исследуемых образцов не влияло на репродукцию вируса. Препарат NMG 1110 проявляет высокую противовирусную активность при концентрации 9,7 мкг/мл, и химиотерапевтический индекс равен 16,0. При этом рибавирин показал более низкий эффект, химиотерапевтический индекс составил 8,0. При комбинированном применении препаратов имеет место значительное подавление репродукции вируса. Наблюдается выраженное противовирусное действие аддитивного характера комбинации рибавирина и лекарственного кандидата NMG 1110.

**Ключевые слова:** клеточная культура; вирус гриппа; препарат; противовирусная активность

**Для цитирования:** Ветрова Е. Н., Грецкая Н. М., Серков И. В., Любимов И. И., Притчина Т. Н., Гурьянова Е. В., Безуглов В. В., Галегов Г. А. Исследование противовирусной активности препаратов и их комбинации в отношении вируса гриппа А. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (9–10): 11–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-11-16>. EDN: RFXMQF

## Study of the Antiviral Activity of Drugs and Their Combination Against the Influenza A Virus

\*ELIZAVETA N. VETROVA<sup>1</sup>, NATALIA M. GRETSKAYA<sup>2</sup>, IGOR V. SERKOV<sup>3</sup>,  
IGOR I. LYUBIMOV<sup>4</sup>, TATIANA N. PRITCHINA<sup>1</sup>, EKATERINA V. GURYANOVA<sup>5</sup>,  
VLADIMIR V. BEZUGLOV<sup>2</sup>, GEORGY A. GALEGOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Russia

<sup>4</sup> Gurus BioPharm, Moscow, Russia

<sup>5</sup> D. I. Mendeleev Russian University of Chemical Technology, Moscow, Russia

## Abstract

**Relevance.** The problem of prevention and treatment of influenza remains relevant due to the consistently high incidence rate of the disease in the population of all age groups, especially children and the elderly. Antiviral drugs have become the most important tools in the fight against influenza viruses. The main problem is the search and development of new antiviral drugs that do not have side effects. **The aim of the present study** is to investigate the effect of a new synthetic drug candidate based on adamantane (NMG 1110) and its combination with ribavirin on the reproduction of influenza A virus in

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: [immunol.lab@mail.ru](mailto:immunol.lab@mail.ru)



\*Correspondence to:  
E-mail: [immunol.lab@mail.ru](mailto:immunol.lab@mail.ru)

EDN: RFXMQF





MDCK cell culture. The aim of the present study is to investigate the effects of drugs and their combinations on the reproduction of influenza A virus in MDCK cell culture. *Materials and methods.* Determination of cytotoxicity and antiviral activity of drugs on MDCK cell line for influenza A(H3N2)/Aichi/1/68 virus at different schemes of drug introduction into cells: immediately after infection, 2 hours after infection, 4 hours after virus infection of cells. *Results.* It was found that the drugs were low-toxic for MDCK cell culture at the studied concentrations. Using the influenza A(H3N2)/Aichi/1/68 virus model, it was shown that the time of application of the studied samples did not affect the reproduction of the virus in cell culture. The NMG1110 preparation exhibits high antiviral activity at a concentration of 9.7 µg/ml with the chemotherapeutic index of 16.0. At the same time, ribavirin showed a lower effect with a chemotherapeutic index of 8.0. There is a significant suppression of virus reproduction with the combined use of the preparations. A pronounced antiviral effect of the additive nature is observed in the combination of ribavirin and the drug candidate NMG 1110.

**Keywords:** cell culture; influenza virus; drug; antiviral activity

**For citation:** Vetrova E. N., Gretskeya N. M., Serkov I. V., Lyubimov I. I., Pritchina T. N., Guryanova E. V., Bezuglov V. V., Galegov G. A. Investigation of the antiviral activity of drugs and their combination against the influenza A virus. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 11–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-11-16>. EDN: RFXMQF.

## Введение

Грипп — острая респираторная вирусная инфекция, поражающая все возрастные группы и ассоциирующаяся с высокой смертностью во время пандемий, эпидемий. Ежегодно гриппом заболевают почти 10% населения мира [1]. Вирусы гриппа А подразделяются на три типа: А (H1N1), А (H2N2) и А (H3N2), которые циркулируют в человеческой популяции. Эти вирусы вместе с вирусами гриппа В являются этиологическими факторами ежегодных эпидемий различной степени тяжести [2]. Несмотря на то, что вакцины против сезонного гриппа регулярно используются на протяжении многих десятилетий, вирус гриппа продолжает представлять глобальную угрозу для людей, ежегодно вызывая высокую заболеваемость [3]. Хотя вакцинация является основной мерой профилактики гриппа использование лекарственных средств является хорошей альтернативой в особых обстоятельствах, когда человек подвергается воздействию вируса гриппа, особенно для людей из групп высокого риска [4].

Проблема профилактики и лечения гриппа сохраняет актуальность за счёт стабильно высокого уровня заболеваемости населения всех возрастных групп [5], особенно детей и пожилых людей. Гриппозная инфекция из всех респираторных вирусных заболеваний является наиболее тяжёлой патологией, что причиняет большой вред здоровью населения и экономике [2]. Актуальной проблемой является поиск и разработка новых противовирусных препаратов, которые не обладают побочными эффектами и возможно более широким спектром действия [6]. Противовирусные препараты стали важнейшими инструментами в борьбе с вирусами гриппа. Текущие методы лечения имеют короткий период лечения. Вирус гриппа может преодолевать действие противовирусных препаратов и развивать устойчивость к лекарствам, что приводит к эпидемиям и пандемиям. Помимо разработки новых классов противовирусных препаратов прямого действия, воздействующих на вирусные факторы, ещё одной важной областью терапевтических вмешательств является

воздействие на основные факторы хозяина, необходимые для проникновения, репликации и высвобождения вируса, особенно когда циркулирующие вирусы устойчивы к одному или нескольким препаратам. Разработка мощных противовирусных препаратов, нацеленных на грипп, имеет решающее значение для профилактических и терапевтических мероприятий против вирусов сезонного и пандемического гриппа [7]. В настоящее время применяются препараты, которые позволяют не только непосредственно влиять на возбудителя инфекции, но и модулировать воспалительный процесс, индуцировать местные и общие иммунные реакции как специфические, так и не специфические. Использование различных фармакологических средств местного действия имеет широкое применение при лечении вируса гриппа, так как лекарственный препарат непосредственно воздействует на возбудителя. Существенное преимущество применения лекарственных средств — отсутствие или сведение до минимума резорбтивного действия, значительно ограничивающего возможность использования системной терапии. В настоящее время появились средства, которые позволяют проводить и противовирусную, и противовоспалительную, и антибактериальную терапию. Так как ко многим соединениям развивается лекарственная устойчивость, необходимо продолжать поиск новых перспективных соединений.

Для лечения и профилактики гриппозной инфекции доступны различные противовирусные препараты. Среди этих препаратов в настоящее время одобрены и рекомендованы для использования при химиопрофилактике и лечении гриппа только четыре: осельтамивир (Тамифлю), занамивир (Реленза), перамивир (Рапиваб) и балоксавир марбоксил (Ксофлюза). Эти противовирусные препараты продемонстрировали хороший уровень эффективности и действенности против вирусов гриппа типов А и В. Три (осельтамивир, занамивир, перамивир) из этих четырёх противовирусных препаратов являются ингибиторами нейраминидазы (NA) и действуют путём блокирования функции фермента NA и пред-

отращения выхода вируса из инфицированных клеток [1]. Кроме того, на рынке представлен класс блокаторов M2-каналов (амантадин и римантадин), к которым зачастую имеется резистентность вируса, что затрудняет их широкое применение [8].

В последние годы отмечается увеличение интереса разработчиков и производителей к созданию комбинированных лекарственных препаратов (фиксированных комбинаций) — лекарственных средств, которые содержат два или более действующих вещества в одной лекарственной форме. Это объясняется ожидаемыми преимуществами комбинированных препаратов по сравнению с монокомпонентными (большей эффективностью, ускоренным наступлением эффекта, большей безопасностью и лучшей переносимостью при сопоставимой эффективности) за счёт применения более низких доз одного или нескольких компонентов комбинации, а также удобством применения, таким как уменьшение количества одновременно принимаемых таблеток и упрощение схемы приёма [9].

Цель исследования — изучение воздействия нового синтетического лекарственного кандидата на основе адамантана (NMG 1110) и его комбинации с рибавирином на репродукцию вируса гриппа А в культуре клеток МДСК.

## Материал и методы

**Препараты.** В работе использовали лекарственный кандидат — препарат 4-((3r,5r,7r)-адамантан-1-ил)-N-(3,4-дигидроксифенэтил) бензамид (NMG 1110) и рибавирин.

NMG1110 получали следующим образом: к адамантан-бензойной кислоте (56 мг, 0,21 ммоль) в 1 мл MeCN, добавляли триэтиламин (36 мкл, 0,26 ммоль) и через 5 мин N,N'-DSC (61 мг, 0,24 ммоль), перемешивали при комнатной температуре 60 мин, после чего прибавляли раствор гидрохлорида дофамина (60 мг, 0,33 ммоль) в диметилформамиде и триэтиламин (45 мкл, 0,33 ммоль) и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь упаривали, экстрагировали этилацетатом, промывали бисульфатом натрия. Перекристаллизовывали из этанола. Сбрали 79 мг (92%) в виде белых кристаллов. Т. пл. 195°C. Брутто-формула: C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>3</sub>, точная масса: 391,2147. ПМР (CDCl<sub>3</sub>) δ, м. д.: 1,65 (м, 6H, адамантан), 1,77 (м, 6H, адамантан), 1,97 (м, 3H, адамантан), 2,63 (м, 2H, дофамин), 3,47 (м, 2H, дофамин), 6,44 (м, 1H, дофамин), 6,50 (м, 2H, дофамин), 7,20 (м, 2H, фрагмент бензойной кислоты), 7,48–7,64 (м, 2H, фрагмент бензойной кислоты), 7,64 [т, 1H, NH].

Рибавирин (1-бета-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) производства «ICN Switzerland AG» (Швейцария).

**Культуры клеток.** В работе использовали клеточную культуру культуры почки спаниеля (МДСК — Madin-Darby canine kidney cell line), полученную из Государственной коллекции клеточных культур Института вирусологии им. Д. И. Иванова и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава РФ. Культуру клеток МДСК выращивали с использованием ростовой среды Игла MEM («ПанЭко», Москва) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиками — 150 ед/мл пенициллина и 150 ед/мл стрептомицина при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

**Вирус.** В работе использовали вирус гриппа А(H3N2)/Aichi/1/68, адаптированный к размножению на кле-

точной линии МДСК (Государственная коллекция вирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» п/р НИИ вирусологии им. Д. И. Иванова Минздрава России). Вирусосодержащий материал представлял собой культуральную жидкость, собранную из заражённых клеток. Инфекционный титр вируса гриппа А(H3N2)/Aichi/1/68 составлял 5,0 lg ТЦИД<sub>50</sub>. В работе использовали 3-дневный монослой перевиваемой клеточной линии, выращенный на соответствующей среде.

**Токсичность препаратов в культуре клеток** оценивали по снижению жизнеспособности клеток МДСК методом МТТ-анализа по методике [10]. Монослой клеток культивировали в присутствии препаратов в исследуемых концентрациях в течение 72 ч при 37°C. Для каждого препарата по 4 пробы на каждую концентрацию. Концентрацию препаратов, при которой оптическая плотность (ОП) была в 2 раза меньше, ОП для контрольных клеток при отсутствии исследуемых препаратов принимали за 50% цитотоксическую концентрацию (ЦД<sub>50</sub>).

**Противовирусную активность препаратов** определяли микрометодом по их способности защищать инфицированные клетки от гибели путём предотвращения развития вирусиндуцированного цитопатического эффекта (ЕК<sub>50</sub>) и подавления репродукции вируса, определяемой титрованием инфекционной активности вируса на перmissive клеточной линии.

Монослой клеточной культуры, выращенный в пластиковых 96-луночных планшетах (Corning, USA), инфицировали с множественностью 0,1 lg ТЦИД<sub>50</sub>. Продолжительность инкубации — 48 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности, при этом в контроле вируса развивался 95–100% цитопатический эффект (ЦПЭ) клеток. Эффективность соединения количественно выражали как ЦД<sub>50</sub> — концентрация соединения, ингибирующая развитие вирусиндуцированного ЦПЭ на 50% [11].

Схема внесения препаратов в клетки:

- непосредственно после заражения;
- через 2 ч после заражения;
- через 4 ч после заражения.

Снижение уровня накопления вируса определяли по формуле ( $\Delta \lg \text{ТЦИД}_{50}$ ):

$$A = A_k - A_o,$$

где  $A_k$  — уровень накопления вируса при культивировании без внесения в питательную среду изучаемого препарата ( $\lg \text{ТЦИД}_{50}$ );  $A_o$  — уровень накопления вируса при культивировании с внесением в питательную среду изучаемого препарата ( $\lg \text{ТЦИД}_{50}$ )

**Химioterпевтический индекс (ХТИ).** Противовирусное действие соединения определяли по формуле:

$$\frac{\text{ЦД}_{50}}{\text{ЕК}_{50}},$$

где ЦД<sub>50</sub> — цитотоксическая доза, при которой погибает 50% не инфицируемых клеток под влиянием препарата в разведении при контакте 72 ч; ЕК<sub>50</sub> — концентрация препарата, которая на 50% предотвращает развитие вирусиндуцированного ЦПД по сравнению с контролем.

**Определение инфекционного титра** вируса проводили путём внесения 10-кратных разведений вирусосодержащей пробы (супернатант культуры клеток) на подготовленный монослой клеток. Адсорбцию вируса проводили в течение 1 ч при 37°C, в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Контроли вируса и культуры клеток культивировали в той же среде. Планшеты инкубировали в термостате с 5% CO<sub>2</sub> в течение 24 ч при 37°C. Для каждого разведения исследуемого перпарата использовали четыре лунки планшета. Титр вируса выражали в lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл [12].

**Комбинации препаратов** в различных концентрациях вносили непосредственно сразу после заражения клеток.

**Статистический анализ результатов** проведён с применением ПО Microsoft Excel. Достоверность различий рассчитывали с помощью критерия Стьюдента; различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ , высокодостоверными при  $p < 0,001$ , недостоверными при  $p > 0,05$ . Расчёт инфекционного титра вируса проводили по методу Рида и Менча [13].

## Результаты

Результаты исследования цитотоксического действия препаратов NMG 1110 и рибавирина показали, что при исследуемых концентрациях оба препарата оказались малотоксичными для культуры клеток МДСК. Процент жизнеспособных клеток препарата NMG1110 в концентрации 156 мкг/мл составил  $53,3 \pm 2,77\%$ , соответствующий показатель для контроля клеток, инкубированных в тех же условиях, но без препарата в среде поддержки, составлял  $98 \pm 1,53\%$ . Цитотоксический эффект рибавирина в клеточной культуре МДСК равен 625 мкг/мл и процент жизнеспособных клеток составлял  $53 \pm 3,0\%$ .

При изучении противовирусной активности препаратов на модели вируса гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68, в культуре клеток МДСК показано, что время внесения исследуемых образцов (непосредственно после заражения клеток, через 2 ч после заражения клеток и через 4 ч после заражения клеток) не влияло на репродукцию вируса (табл. 1). Препарат NMG1110 проявляет высокую противовирусную активность при концентрации 9,7 мкг/мл, и ХТИ равен 16,0. При этом рибавирин показал более низкий эффект, ХТИ составил 8,0.

Изучение эффективности препаратов в отношении вируса гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68 на культуре клеток МДСК по подавлению инфекционной активности вируса представлены на рисунке.

Из представленных результатов следует, что при внесении препарата NMG1110 в исследуемых концентрациях непосредственно после заражения, через 2 ч после заражения клеток вирусом в дозе  $0,1 \lg \text{ТЦИД}_{50}$  происходило достоверное подавление репродукции вируса гриппа, о чём свидетельствует снижение инфекционного титра вируса на  $1,2 \lg \text{ТЦИД}_{50}$  и более в зависимости от концентрации препарата. Через 4 ч после заражения клеток вирусом гриппа препарат NMG1110 обладал более слабой активностью, и инфекционный титр в концентрации 9,7 мкг/мл почти достиг вирусного контроля и составил  $4,5 \pm 0,66 \lg \text{ТЦИД}_{50}$  (контроль  $5,08 \pm 0,14 \lg \text{ТЦИД}_{50}$ ).

Установлено, что под влиянием рибавирина репродукция вируса гриппа снижалась до  $0,25 \lg \text{ТЦИД}_{50}$  при использовании препарата непосредственно после заражения в концентрации 78 мкг/мл.

**Таблица 1.** Противовирусная активность препаратов на модели гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68 в культуре клеток МДСК

**Table 1.** Antiviral activity of the preparations in the influenza A(H3N2)/Aichi/1/68 model in MDCK cell culture

| Наименование препарата | ЦД <sub>50</sub> , мкг/мл | ЕК <sub>50</sub> , мкг/мл | ХТИ  |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|------|
| NMG1110                | 156                       | 9,7                       | 16,0 |
| Рибавирин              | 625                       | 78                        | 8,0  |

Результаты исследования показали, что внесение рибавирина и через 2 ч после инфицирования клеток вирусом препарат сохраняет своё влияние на вирус гриппа. Подавление репродукции вируса гриппа в концентрации 39 мкг/мл снизилось на  $2,58 \lg \text{ТЦИД}_{50}$ . Инфекционный титр рибавирина в концентрации 19,5 мкг/мл составил  $2,75 \pm 0,5 \lg \text{ТЦИД}_{50}$ . Концентрация 9,7 мкг/мл приводила к снижению инфекционной активности вируса на  $2,2 \lg \text{ТЦИД}_{50}$  по сравнению с контролем вируса. Через 4 ч после заражения клеток вирусом рибавирин показывал незначительную эффективность по сравнению с внесением непосредственно и через 2 ч после заражения.

Результаты действия комбинации NMG1110 и рибавирина при их одновременном введении в культуру клеток МДСК в присутствии вируса гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68 представлены в табл. 2. Препараты вводились непосредственно после инфицирования клеток вирусом. Результаты выражены в виде логарифма  $\text{ТЦИД}_{50}/\text{мл}$ , что показывает уровень накопления вируса.

При комбинированном воздействии препаратов на вирус гриппа подавление инфекционных свойств проявляется наиболее эффективно: подавление репродукции вируса изменилось на  $3,45 \lg$  единиц. Имеет место значительное подавление репродукции вируса гриппа под влиянием одновременного присутствия двух соединений. Таким образом, наблюдается выраженное противовирусное действие аддитивного характера комбинации рибавирина и лекарственного кандидата NMG1110.

## Заключение

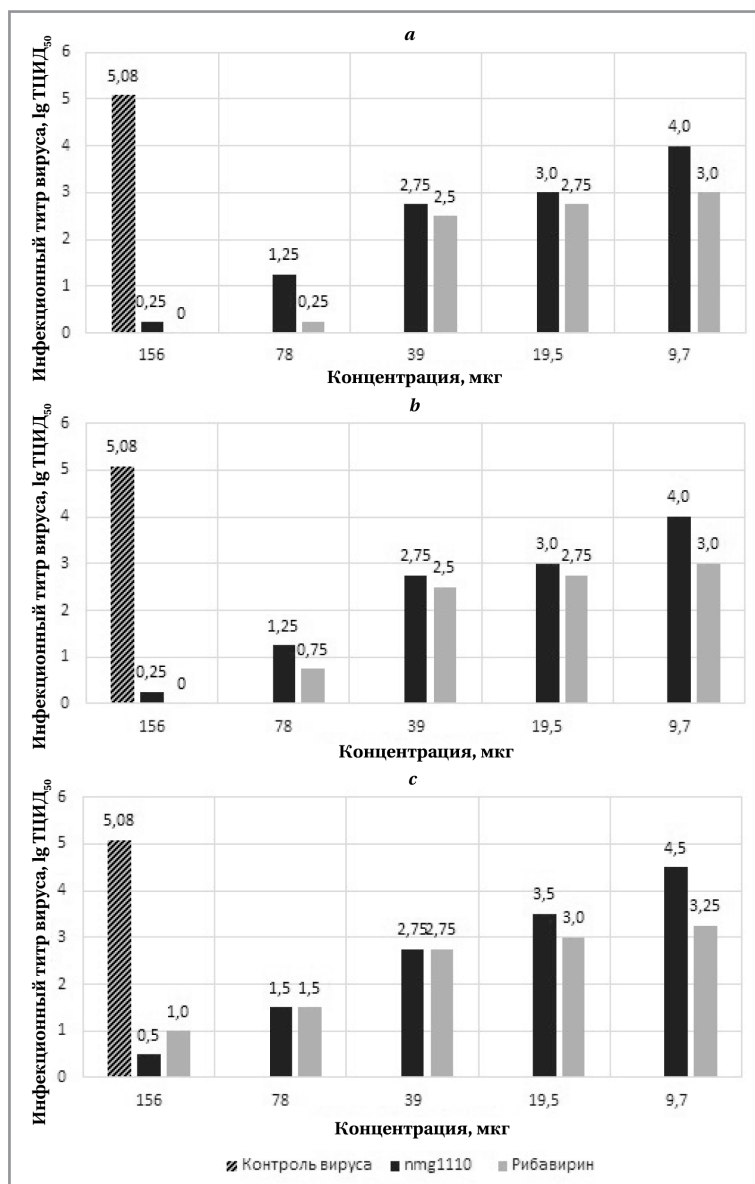
Таким образом, результаты изучения противовирусных препаратов в отношении вируса гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68 свидетельствуют о том, что NMG1110 более эффективно подавляет репродук-

**Таблица 2.** Антигриппозное действие комбинации препаратов в культуре клеток МДСК

**Table 2.** The anti-influenza effect of the combination of the preparations in MDCK cell culture

|                                                                                                                    |                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Инфекционный титр вируса в контроле                                                                                | 5,25 $\text{ТЦИД}_{50}$ |
| Инфекционный титр вируса в присутствии NMG1110 взятого в отдельности (9,7 мкг/мл)                                  | 4,00 $\text{ТЦИД}_{50}$ |
| Инфекционный титр вируса в присутствии рибавирина взятого в отдельности (9,7 мкг/мл)                               | 3,00 $\text{ТЦИД}_{50}$ |
| Инфекционный титр вируса при одновременном присутствии NMG1110 и рибавирина (комбинация) (9,7 мкг/мл + 9,7 мкг/мл) | 1,80 $\text{ТЦИД}_{50}$ |





### Инфекционный титр вируса гриппа A(H3N2)/Aichi/1/68 в культуре клеток МДСК под действием препаратов.

**Примечание.** *a* — внесение препарата непосредственно после заражения клеток вирусом; *b* — внесение препарата через 2 ч после заражения клеток вирусом; *c* — внесение препарата через 4 ч после заражения клеток вирусом

### Infectious titer of influenza virus A(H3N2)/Aichi/1/68 in MDCK cell culture after being exposed to the medications.

**Note.** *a* — the introduction of the drug immediately after infection of cells with a virus; *b* — administration of the drug 2 hours after infection of the cells with the virus; *c* — administration of the drug 4 hours after infection of the cells with the virus.

цию вируса при внесении препарата непосредственно и через 2 ч после инфицирования монослоя клеток МДСК. Противовирусная эффективность NMGI110 в отношении гриппа оказалась сравнимой по подавлению инфекционной активности вируса и характеру воздействия с препаратом нуклеозидной природы — рибавирином. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшей разработки комплексных схем и исследование препарата NMGI110 *in vitro*. Дополнительные исследования в этом направлении могут дать информацию о механизмах как прямого, так и опосредованного противовирусного действия препарата. На сегодняшний день на фармацевтическом рынке представлен большой выбор комбинированных препаратов. Чтобы обеспечить клинический результат, необходимо учитывать правильное соотношение компонентов в комбинированных препаратах. Это даст высокую эффективность и необходимость минимизировать риск развития побочных реакций.

### Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов.** Ветрова Е. Н. — разработка модели, анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование текста; Грецакая Н. М. — синтез препарата; Серков И. В. — синтез препарата; Любимов И. И. — разработка препарата; Притчина Т. Н. — ведение и поддержание клеточной культуры; Гурьянова Е. В. — интерпретация результатов; Безуглов В. В. — разработка структуры молекулы и схемы синтеза препарата; Галегов Г. А. — редактирование, финальное утверждение рукописи.

**Финансирование.** Работа по синтезу препарата выполнена в рамках Госзадания (шифр темы FFEU-2024-0053).

## Литература/References

- Javanian M., Barary M., Ghebrehewet S., Koppolu V., Vasigala V., Ebrahimpour S. A brief review of influenza virus infection. J Med Virol. 2021 Aug; 93 (8): 4638–4646. doi: 10.1002/jmv.26990. Epub 2021 Apr 14. PMID: 33792930.
- Любимов И. И., Исаева Е. И., Ветрова Е. Н., Лаврова А. В., Грецакая Н. М., Серков И. В., Безуглов В. В., Галегов Г. А. Исследование антивирусной активности адамантансодержащих химических соединений. Антибиотики и химиотер. 2022; 67 (7–8): 19–23. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-19-23. [Lyubimov I. I., Isaeva E. I., Vetrova E. N., Lavrova A. V., Greckaya N. M., Serkov I. V., Bezuglov V. V., Galegov G. A. Study of the antiviral activity of adamantane-containing chemical compounds. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2022; 67: 7–8: 19–23. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-19-23. (in Russian)]
- Sekiya T., Ohno M., Nomura N., Handabile C., Shingai M., Jackson D. C., Brown L.E., Kida H. Selecting and Using the Appropriate Influenza Vaccine for Each Individual. Viruses. 2021 May 24; 13 (6): 971. doi: 10.3390/v13060971. PMID: 34073843; PMCID: PMC8225103.
- Nypaver C., Dehlinger C., Carter C. Influenza and Influenza Vaccine: A Review. J Midwifery Womens Health. 2021 Jan; 66 (1): 45–53. doi:



- 10.1111/jmwh.13203. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33522695; PMCID: PMC8014756.
5. Григорян С. С., Коваленко А. Л., Исаева Е. И., Ветрова Е. Н., Тюшева В. В. Циклоферон и вирус гриппа А (H3N2) в культурах клеток. Действие циклоферона на репродукцию вируса гриппа А (H3N2) в предобработанных до заражения культурах клеток. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018; 81 (11): 26–31. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-11-26-31> [Grigoryan S.S., Kovalenko A. L., Isaeva E. I., Vetrova E. N., Tyusheva V. V. Cikloferon i virus grippa A (H3N2) v kul'turakh kletok. Dejstvie cikloferona na reprodukciju virusa grippa A (H3N2) v predobrabotannykh do zarazheniya kul'turakh kletok. Eksperimental'naya i klinicheskaya Farmakologiya. 2018; 81 (11): 26c31. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-11-26-31> (in Russian)]
  6. Зарубаев В. В., Кривицкая В. З., Небольсин В. Е., Киселев О. И. Экспериментальное изучение противовирусной активности Ингавирина в отношении вируса парагриппа человека. Антибиотики и химиотерапия. 2010; 55 (7–8): 13–16. [Zarubaev V. V., Krivickaya V. Z., Nebol'sin V. E., Kiselev O. I. Eksperimental'noe izuchenie protivovirusnoj aktivnosti Ingavirina v otnoshenii virusa paragrippa cheloveka. Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2010; 55 (7–8): 13–16. (in Russian)]
  7. Kumari R., Sharma S. D., Kumar A., Ende Z., Mishina M., Wang Y., Falls Z., Samudrala R., Pohl J., Knight P. R., Sambhara S. Antiviral Approaches against Influenza Virus. Clin Microbiol Rev. 2023 Mar 23; 36 (1): e0004022. doi: 10.1128/cmr.00040-22. Epub 2023 Jan 16. PMID: 36645300; PMCID: PMC10035319.
  8. Афанасьева О. И., Эсауленко Е. В. Взгляд на эффективность релиз-активных противовирусных препаратов в терапии гриппа и ОРВИ через призму доказательной медицины. Consilium Medicum. 2016; 18 (3): 18–21. [Afanasyeva O. I., Esaulenko E. V. A look at the effectiveness of the release of active antivirals in treatment of influenza and ARVI in the light of evidence-based medicine. Consilium Medicum. 2016; 18 (3): 18–21. (in Russian)]
  9. Добровольский А. В. Подходы к клинической разработке комбинированных лекарственных препаратов в Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе с учетом требований действующего законодательства. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2019; 9 (1): 14–27. doi: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-1-14-27>. [Dobrovolskiy A. V. Approaches to clinical development of combination medicines in the Russian Federation and the Eurasian Economic Union in view of the requirements of the current legislation. Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2019; 9(1): 14–27. doi: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-1-14-27> (In Russ)]
  10. Sawamura R., Sun Y., Yasukawa K., Shimizu T., Watanabe W., Kuwakawa M. Antiviral activities of diarylheptanoids against influenza virus *in vitro*. J Nat Med. 2010 Jan; 64 (1): 117–120. doi: 10.1007/s11418-009-0372-2.
  11. Einfeld A. J., Neumann G., Kawaoka Y. Influenza A virus isolation, culture and identification. Nat Protoc. 2014 Nov; 9 (11): 2663–2681. doi: 10.1038/nprot.2014.180.
  12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева. 2-е изд. М.: ОАО Издательство «Медицина». 2012; 832. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. R.U. Habriev (ed.). Moscow: OAO Izdatel'stvo «Medicina». 2012; 832. (in Russian)]
  13. Reed L., Muench H. A simple method of estimating 50% endpoints. Amer J Hygiene. 1938; 27: 493–497.

Поступила / Received 04.04.2024

Принята в печать / Accepted 15.05.2024

## Информация об авторах

*Ветрова Елизавета Николаевна* — научный сотрудник, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-1902-5278. eLIBRARY SPIN-код: 1036027

*Грецкая Наталья Михайловна* — к. х. н., старший научный сотрудник, ГНЦ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1332-9396

*Серков Игорь Викторович* — д. х. н., ведущий научный сотрудник, ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН, Черноголовка, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5265-0329

*Любимов Игорь Иванович* — генеральный директор, Gurus BioPharm, Москва, Россия. eLIBRARY SPIN-код: 372304

*Пritchina Татьяна Николаевна* — научный сотрудник, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3418-2394. eLIBRARY SPIN-код: 1174800

*Гурьянова Екатерина Витальевна* — студент, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0002-6308-2106

*Безуглов Владимир Виленович* — д. х. н., профессор, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории, ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8439-8607. eLIBRARY SPIN-код: 6706-0701.

*Галегов Георгий Артемьевич* — д. м. н., профессор, руководитель лаборатории, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6162-1650. eLIBRARY SPIN-код: 79135

## About the authors

*Elizaveta N. Vetrova* — Research Fellow, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-1902-5278. eLIBRARY SPIN-код: 1036027

*Natalia M. Gretskeya* — Ph. D. in Chemistry, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1332-9396

*Igor V. Serkov* — D. Sc. in Chemistry, Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5265-0329

*Igor I. Lyubimov* — CEO of Gurus BioPharm, Moscow, Russia. eLIBRARY SPIN-код: 372304

*Tatiana N. Pritchina* — Research Fellow, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3418-2394. eLIBRARY SPIN-код: 1174800

*Ekaterina V. Guryanova* — student, D. I. Mendeleev Russian University of Chemical Technology, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0002-6308-2106

*Vladimir V. Bezuglov* — D. Sc. in Chemistry, Professor, Head of the laboratory, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8439-8607. eLIBRARY SPIN-код: 6706-0701.

*Georgy A. Galegov* — Professor, D. Sc. in Medicine, Head of the laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya, Russia Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6162-1650. eLIBRARY SPIN-код: 79135

# Применение секвенирования по Сэнгеру в этиологической диагностике бактериальных осложнений в стационаре

Н. Е. БАРАНЦЕВИЧ, \*Е. П. БАРАНЦЕВИЧ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

**Актуальность.** Необходимость точной видовой идентификации микроорганизмов, вызывающих инфекционные осложнения у госпитализированных пациентов, в современном здравоохранении не вызывает сомнений. **Цель.** Определение возможности применения секвенирования по Сэнгеру при рутинном микробиологическом обследовании пациентов в клинике внутренних болезней для повышения качества этиологической диагностики бактериальных осложнений. **Материал и методы.** Исследовали клинические изоляты микроорганизмов, выделенных у пациентов многопрофильного медицинского центра. Применяли классические микробиологические методы посева и идентификации культур, секвенирование по Сэнгеру. **Результаты.** Идентификация по Сэнгеру с применением системы MicroSeq (Applied Biosystems, США) обеспечила идентификацию всех 231 исследованных изолятов бактерий — возбудителей нозокомиальных инфекций. Для дифференциальной диагностики стрептококков и коагулазонегативных стафилококков в некоторых случаях, когда известные последовательности первых 500 нуклеотидов гена *16S rPHK* двух видов различались на 1–2 нуклеотида, повышение дискриминационного уровня видовой идентификации до 100% позволяло провести валидное определение видовой принадлежности изучаемого микроорганизма. Фенотипические методы не позволили выявить значительную часть видов (25,9%) возбудителей нозокомиальных инфекций и лишь 8 (13,8%) из них идентифицировали достоверно во всех случаях. Применение секвенирования по Сэнгеру для идентификации бактерий привело к долговременному эффекту, связанному с повышением квалификации врачей-лаборантов, улучшением дискриминационных возможностей визуальной оценки макроморфологии бактериальных культур, что важно для выявления всех видов микроорганизмов, присутствующих в биосубстратах. **Заключение.** Метод секвенирования по Сэнгеру является высокоэффективным и достаточно экономичным, по сравнению с широко применяемыми в клинической практике панелями биохимических тестов, методом «золотого стандарта» в этиологической диагностике бактериальных осложнений в клинике внутренних болезней.

**Ключевые слова:** видовой идентификация; ген *16S rPHK*; гипервариабельные участки; MicroSeq; фенотипические методы; молекулярные методы; MALDI-TOF масс-спектрометрия; внутрибольничные; госпитальные; инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи; последипломное образование

**Для цитирования:** Баранцевич Н. Е., Баранцевич Е. П. Применение секвенирования по Сэнгеру в этиологической диагностике бактериальных осложнений в стационаре. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (9–10): 17–23. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-17-23>. EDN: KUQACM.

## Use of Sanger Sequencing in Etiological Diagnostics of Bacterial Complications in Hospital Environment

NATALIA E. BARANTSEVICH, \*ELENA P. BARANTSEVICH

Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

## Abstract

**Background.** The precise identification of microorganism species that cause infectious complications in hospitalized patients is beyond doubt relevant in modern healthcare. **The aim of this study** was to determine the possibility of using Sanger sequencing in routine microbiological examination of patients in an Internal Medicine Clinic to improve the quality of etiological diagnosis of bacterial complications. **Material and methods.** Clinical isolates of microorganisms isolated from patients of a multidisciplinary medical center were studied. The study used classical microbiological methods of seeding and identification of cultures, as well as Sanger sequencing. **Results.** Sanger identification using the MicroSeq system (Applied Biosystems, USA) ensured identification of all 231 studied bacterial isolates – causative agents of nosocomial infections. For differential diagnostics of streptococci and coagulase-negative staphylococci, in some cases, when the known sequences of the first 500 nucleotides of the *16S rRNA* gene of two species differed by 1–2 nucleotides, increasing the discrimination level of species identification to 100% allowed valid determination of the species affiliation of the studied microorganism. Phenotypic methods failed to identify a significant proportion of species (25.9%) of nosocomial infection

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: lenabara2003@mail.ru



EDN: KUQACM

\*Correspondence to:  
E-mail: lenabara2003@mail.ru



pathogens, and only 8 (13.8%) of them were reliably identified in all cases. The use of Sanger sequencing to identify bacteria led to a long-term effect associated with improved qualifications of laboratory doctors, and enhanced discriminatory capabilities of visual assessment of the macromorphology of bacterial cultures, which is important for identifying all types of microorganisms present in biosubstrates. **Conclusion.** The Sanger sequencing method is highly efficient and quite cost-effective, compared to the biochemical test panels widely used in clinical practice — the «gold standard» method in the etiological diagnosis of bacterial complications in the clinic of internal diseases.

**Keywords:** species identification; 16S rRNA gene; hypervariable regions; MicroSeq; phenotypic methods; molecular methods; MALDI-TOF mass spectrometry; nosocomial; hospital-acquired; healthcare-associated infections; postgraduate education

**For citation:** Barantsevich N. E., Barantsevich E. P. Use of Sanger sequencing in etiological diagnosis of bacterial complications in hospital environment. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 17–23. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-17-23>. EDN: KUQACM.

## Введение

История современной микробиологии началась в XVII в., когда А. ван Левенгук сконструировал прообраз современного светового микроскопа и смог первым опубликовать данные по микроморфологии бактерий [1, 2]. В течение следующих трёх веков идентификация микроорганизмов основывалась преимущественно на анализе их микро- и макроморфологии, физиологических особенностях возбудителей [3]. Поворотным моментом в развитии медицины в целом и микробиологии в частности стало открытие структуры молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) Д. Уотсоном и Ф. Криком в 1953 г. [4, 5], однако анализ последовательности нуклеотидов стал возможен только в 1977 г., когда Ф. Сэнгер предложил метод прочтения нуклеотидных последовательностей. Метод и сегодня, после ряда усовершенствований, разработки аппаратной базы и прикладных программ, остаётся, несмотря на развитие методов секвенирования нового поколения, незаменимым методом исследования последовательности нуклеотидов различных участков геномов бактерий, является актуальным и информативным методом этиологической диагностики бактериальных осложнений в клинике внутренних болезней [6–9].

Цель исследования — определение возможности применения секвенирования по Сэнгеру при рутинном микробиологическом обследовании пациентов в клинике внутренних болезней для повышения качества этиологической диагностики бактериальных осложнений.

## Материал и методы

Этиологическую диагностику бактериальных осложнений проводили в клинике НМИЦ им В. А. Алмазова в клинической микробиологической лаборатории. Выделяли чистую культуру возбудителя при инфекциях различной локализации. Методика варьировала в зависимости от локуса инфекции и исследуемой биологической пробы. При подозрении на сепсис или бактериемию у пациентов забирали кровь в объёме 20 мл, 10 из которых вносили в анаэробный, 10 — в аэробный флаконы с питательной средой, содержащей полимерные гранулы сорбента антибиотиков (Biomerieux, Франция; Becton Dickinson, США). Флаконы помещали в бактериологические анализаторы BactAlert 120 (Biomerieux, Франция) или Bactec (Becton Dickinson, США). В случае детекции

роста микроорганизма во флаконе осуществляли посев на плотную питательную среду (кровяной агар, шоколадный агар, желточно-солевой агар, уроселект, среда Эндо). При подозрении на бактериальные инфекции, локализирующиеся в органах и тканях, не являющимися в норме стерильными, осуществляли прямой посев биосубстратов (бронхоальвеолярный лаваж, мокрота, отделяемое послеоперационной раны, моча, мазки из носоглотки, фекалии и другие) на плотную питательную среду (кровяной агар, шоколадный агар, желточно-солевой агар, уроселект, среда Эндо). Посевы инкубировали при 37°C в течение 18–24 ч (при необходимости время инкубации увеличивали до 48 ч). Выделение чистой культуры возбудителя проводили на кровяном или шоколадном агаре в течение 16–24 ч при 37°C. После выделения чистой культуры проводили видовую идентификацию фенотипическим и молекулярно-генетическим методом с использованием секвенирования по Сэнгеру. Идентификацию культуры, основанную на фенотипических признаках, проводили опытные бактериологи со стажем, превышающим 20 лет, с использованием методов, которые с наибольшей частотой применялись в клинических бактериологических лабораториях для определения видовой принадлежности микроорганизмов. Идентификацию начинали с изучения макроморфологии колоний и микроморфологии возбудителя. Применяли тест с 3-сахарным агаром, оценивали подвижность микроорганизма, проводили тесты с индолом и мочевиной. При необходимости применяли 16 дополнительных биохимических тестов (MICROLATEST, Erba Lachema, Чехия). Идентификацию культур методом секвенирования по Сэнгеру проводили одновременно с фенотипическими тестами. Для этого из чистой культуры бактерии выделяли ДНК с применением набора PrepMan Ultra (Applied Biosystems, США), после чего выполняли полимеразную цепную реакцию с применением праймеров, направленных на амплификацию первых 500 нуклеотидов гена 16S *rRNA*, которые включают в себя гипервариабельные участки V1, V2, V3, с использованием реагентов MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit (Applied Biosystems, США) и в соответствии с инструкцией производителя. Полученные ампликоны затем исследовали в соответствии с протоколом MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification Kits Protocol (Applied Biosystems, США) в соответствии с рекомендациями производителя, полученные результаты оценивали с помощью программы MicroSeq ID Software v. 2.0. Эта программа оценивала качество проведения анализа — длину исследуемой последовательности ДНК, а также процент совпадения с последовательностью из закрытой референсной базы данных MicroSeq ID 16S rDNA 500 Library v2.0. Идентификация до вида расценивалась как корректная при совпадении не менее 99% нуклеотидных последовательностей исследуемой пробы с референсной последовательностью, а также при длине исследуемого фрагмента ДНК, составляющей не менее 80% от референсной.

**Статистическая обработка результатов.** Для категориальных переменных в статистическом анализе использовали критерий Фишера  $\chi^2$ . Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .



## Результаты

Исследовали 231 штамм бактерий, выделенных из биосубстратов госпитализированных пациентов в соответствии с локализацией инфекционного осложнения в клинике НМИЦ им. В. А. Алмазова, в том числе 47 (20,3%) изолятов, полученных из крови, 3 (1,3%) — из клапанов сердца, 20 (8,7%) — из бронхоальвеолярного лаважа, 35 (15,2%) — из мокроты, 5 (2,2%) — из плеврального экссудата, 4 (1,7%) — из ткани лёгкого, 45 (19,5%) — из мочи, 33 (14,3%) — из отделяемого послеоперационных ран, 23 (10,0%) — из отделяемого полости рта, 9 (3,9%) — из эндометрия, 5 (2,2%) — из фекалий. При применении метода секвенирования по Сэнгеру изученные культуры микроорганизмов были отнесены к 58 различным видам, принадлежащим к 27 родам бактерий.

Исследованные штаммы были представлены *Staphylococcus aureus* — 6 (2,5%), *S. haemolyticus* — 1 (0,4%), *S. epidermidis* — 11 (4,8%), *S. capitis* — 1 (0,4%), *S. hominis* — 3 (1,3%), *S. constellatus* — 1 (0,4%), *S. warneri* — 1 (0,4%), *Streptococcus salivarius* — 8 (3,2%), *S. mitis* — 13 (5,6%), *S. parasanguinis* — 5 (2,2%), *S. pneumoniae* — 1 (0,4%), *S. cristatus* — 1 (0,4%), *S. agalactiae* — 3 (1,3%), *S. oralis* — 4 (1,7%), *S. bovis* — 2 (0,9%), *Pediococcus pentosaceus* — 1 (0,4%), *Enterococcus faecium* — 7 (3,0%), *E. faecalis* — 39 (16,9%), *E. durans* — 1 (0,4%), *E. avium* — 1 (0,4%), *Lactococcus lactis* — 1 (0,4%), *Enterobacter hormaechei* — 3 (1,3%), *E. pyrinus* — 3 (1,3%), *E. asburiae* — 1 (0,4%), *E. cancerogenus* — 3 (1,3%), *Citrobacter freundii* — 2 (0,9%), *Achromobacter xylosoxidans* — 1 (0,4%), *Bacillus cereus* — 2 (0,9%), *B. thuringiensis* — 4 (1,7%), *B. pumilus* — 1 (0,4%), *Escherichia coli* — 17 (7,4%), *Klebsiella aerogenes* (ранее *Enterobacter aerogenes*) — 2 (0,9%), *K. pneumoniae* — 7 (3,0%), *Serratia marcescens* — 3 (1,3%), *Proteus mirabilis* — 6 (2,5%), *Chryseobacterium indologenes* — 1 (0,4%), *Rhizobium radiobacter* — 1 (0,4%), *Acinetobacter genomospecies 3* — 2 (0,9%), *A. genomospecies 14* — 2 (0,9%), *A. baumannii* — 25 (10,8%), *Stenotrophomonas maltophilia* — 5 (2,2%), *Pseudomonas aeruginosa* — 9 (3,9%), *P. monteilii* — 3 (1,3%), *P. stutzeri* — 1 (0,4%), *Morganella morganii* — 1 (0,4%), *Pragia fontium* — 1 (0,4%), *Serratia marcescens* — 3 (1,3%), *Corynebacterium xerosis* — 1 (0,4%), *C. urealyticum* — 1 (0,4%), *C. mucifaciens* — 1 (0,4%), *Shewanella putrefaciens* — 1 (0,4%), *Burkholderia cepacia* — 3 (1,3%), *Rothia mucilaginosa* — 1 (0,4%), *Haemophilus influenzae* — 1 (0,4%), *Cutibacterium acne* — 2 (0,9%) изолята. При использовании фенотипических методов те же микроорганизмы были отнесены к 19 видам, принадлежащим 15 родам бактерий ( $p=0,040523$ ).

Среди изученных видов микроорганизмов восемь (13,8%) были корректно идентифицированы фенотипическими методами во всех случаях — *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *E. fae-*

*cium*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *C. acne*, *H. influenzae* (рисунок).

Для ряда микроорганизмов процент корректно идентифицированных до вида культур превышал уровень 70%, составляя, в порядке убывания, 98,2% для *E. faecalis*, 89,1% для *S. epidermidis*, 84,7% для *E. coli*, 80,0% для *Enterobacter* spp., 80% для *P. mirabilis*, 80% для *S. maltophilia*, 71,2% для *K. pneumoniae* (см. рисунок).

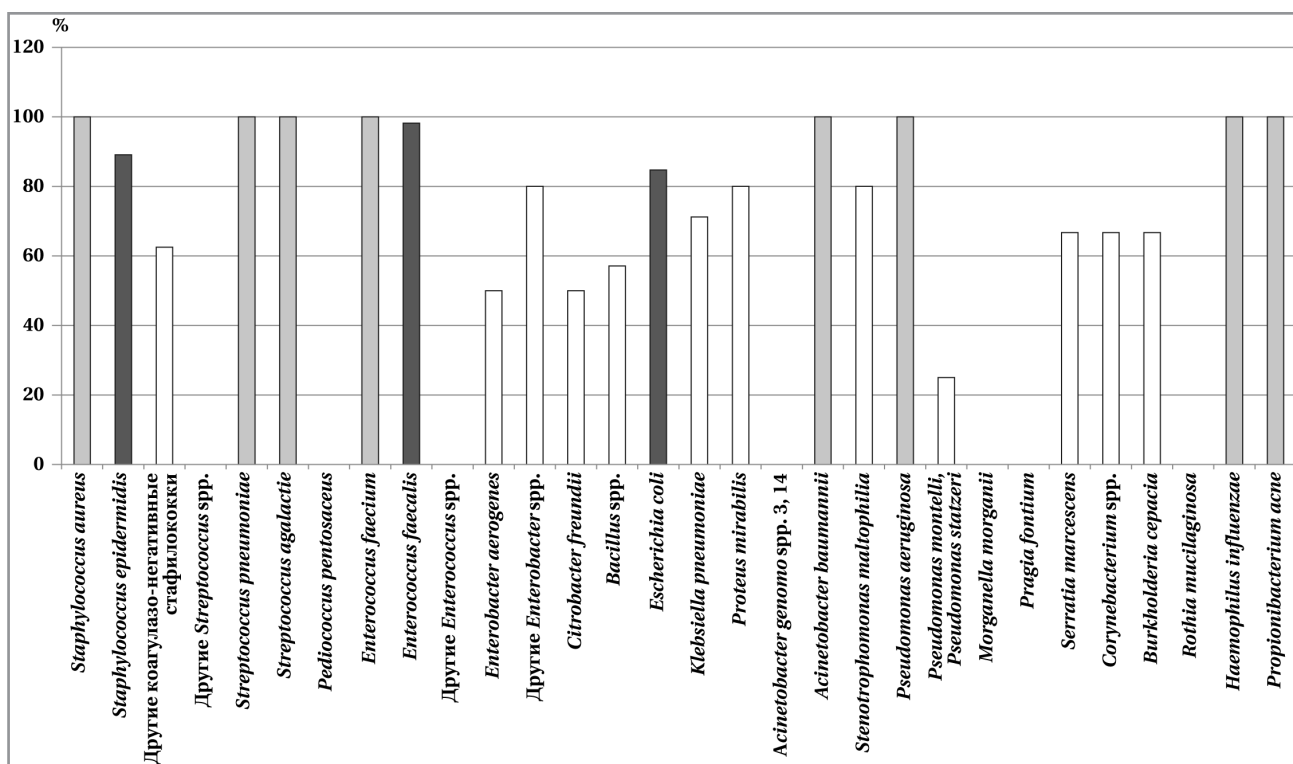
Среди исследованных культур 15 (25,9%) видов бактерий не были выявлены с применением фенотипических методов, включая *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. parasanguinis*, *S. pneumoniae*, *S. cristatus*, *S. agalactiae*, *S. oralis*, *S. bovis*, *P. pentosaceus*, *E. durans*, *E. avium*, *A. genomospecies 3* (*A. seifertii*), *A. genomospecies 14*, *M. morganii*, *P. fontium* (см. рисунок).

## Обсуждение

Разработки в области медицинских технологий и фармакологии последних лет способствовали успешному лечению широкого спектра заболеваний, в том числе злокачественных новообразований кроветворной системы и солидных органов, которые ранее не поддавались терапии [10, 11]. Эти достижения привели к увеличению продолжительности и качества жизни [10–13]. Тем не менее, обратная сторона этих достижений, заключающаяся в резком увеличении числа пациентов, страдающих инфекционными осложнениями, поставила перед системой здравоохранения непростые задачи усовершенствования методов диагностики и лечения этих осложнений [10]. Этиологическая диагностика инфекций составляет важнейшую задачу клинических микробиологических лабораторий [14].

При интродукции метода секвенирования по Сэнгеру в рутинную практику клинической микробиологической лаборатории НМИЦ им. В. А. Алмазова были проведены тщательные экономические расчёты, которые показали, что стоимость одного исследования по идентификации бактерий на основе автоматических бактериологических анализаторов, широко используемых до настоящего времени в рутинной практике микробиологических лабораторий (Vitek 2, Biomerieux, Франция; Phoenix, BD, США; Microscan, Siemens, Германия), превышала стоимость реагентов, необходимых для проведения одного исследования последовательности первых 500 нуклеотидов гена *16S рРНК* в 1,2–1,6 раз в зависимости от компании-производителя. Используемые нами наборы биохимических тестов (MICROLATEST, Erba Lachema) не превышали стоимости секвенирования. Метод секвенирования по Сэнгеру гена *16S рРНК* был общепризнанным «золотым стандартом» идентификации бактериальных культур на момент внедрения и остаётся им до настоящего времени,





**Процент корректно идентифицированных культур микроорганизмов с применением фенотипических методов.**

**Percentage of microbial cultures, correctly identified using phenotypic methods.**

последовательность нуклеотидов именно этого региона лежит в основе идентификации микроорганизмов при исследовании разнообразия микробиоты методами секвенирования нового поколения. До настоящего времени в бактериологических лабораториях применяют методики фенотипического определения видовой принадлежности микроорганизмов, описанные в разделе «Материал и методы» и, соответственно, на этих методах основываются в значительной степени эпидемиологические данные по распространённости бактерий — этиологических агентов как внебольничных, так и госпитальных инфекций в различных регионах Российской Федерации. Нам представляется крайне важным подчеркнуть значение качества первичных микробиологических данных для адекватной оценки эпидемиологических данных в стационарах, при внебольничных инфекциях, что необходимо для принятия управленческих решений в органах здравоохранения различного уровня.

«Золотым стандартом» определения вида микроорганизма на современном этапе являются генетические методы [15, 16]. Первый этап признания генетических методик эталонными произошёл в 1987 г., когда Международный комитет по систематике бактерий (МКСБ, в последующем Международный комитет по систематике прокариот — МКСП) постановил, что в основе таксо-

номии бактерий должна лежать филогения, т. е. определение генетического родства микроорганизмов [17]. Это впоследствии нашло подтверждение в ведущих руководствах и трудах многочисленных исследователей [18–22].

В связи с изменением таксономии бактерий внедрение в клиническую практику дорогостоящих бактериологических анализаторов и методов, основанных на анализе комплекса биохимических реакций, то есть, фенотипических признаках, представляется недостаточно обоснованным. Применение секвенирования позволило получить достоверные данные по распространённости различных микроорганизмов среди возбудителей внутрибольничных инфекций.

Дальнейшие исследования показали, что в ряде случаев установленных дискриминационных критериев — 99% совпадений последовательности первых 500 пар нуклеотидов гена *16S rRNA* недостаточно для дифференциации видов некоторых микроорганизмов, как правило, некоторых коагулазонегативных стафилококков и стрептококков. Эта проблема может быть решена, по нашим наблюдениям, тремя путями: применением секвенирования иных генов, например, *groB*, или совокупности 4–7 генов «домашнего хозяйства» (мультилокусного сиквенс-анализа), повышением качества сиквенсов наряду с повышением уровня межвидовой дискриминации со стандарт-

ных 99 до 100% и/или применением доступной базы данных NCBI (Национального Центра биотехнологической информации) в случае отсутствия исследуемого вида микроорганизма в референсной базе данных [23–26].

Применение секвенирования по Сэнгеру имело незапланированный эффект, который был связан с повышением квалификации врачей бактериологов. Видовая идентификация выделенных микроорганизмов осуществлялась одновременно двумя методами — фенотипическим и методом «золотого стандарта», что позволяло сотрудникам в режиме реального времени сравнивать результаты, полученные при применении обеих методик. При этом врачи приобрели навыки определения видовой принадлежности ряда микроорганизмов, например, *B. ceracia*, уже на этапе изучения макроморфологии колоний, выращенных на стандартных питательных средах.

Таким образом, сотрудники клинической микробиологической лаборатории научились в рутинной практике дифференцировать клинически важные микроорганизмы на предварительном этапе видовой идентификации, что актуально при оценке первичного посева, особенно при исследовании биосубстратов, для которых характерно наличие разнообразных возбудителей инфекций. Примером может служить исследование бронхоальвеолярного лаважа при нозокомиальных пневмониях, для которого характерно, согласно нашим наблюдениям, частое присутствие возбудителей из различных таксономических групп. Поэтому более точное понимание различий макроморфологии колоний и микроморфологии возбудителей инфекционных осложнений позволяет выявить весь комплекс микроорганизмов, которые вызвали заболевания у пациента и повысить качество оказания медицинской помощи за счёт рационального назначения антибактериальных препаратов.

Метод секвенирования по Сэнгеру, как правило, замещается в научно-практической работе другим молекулярным методом — MALDI-TOF масс-спектрометрией (временнóлетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией), базирующейся на оценке белкового спектра микроорганизмов, который имеет ряд преимуществ по сравнению с методом «золотого стандарта» [27]. Эти преимущества — низкая стоимость, высокая скорость и высокая точность видовой идентификации разнообразных микроорганизмов; кроме того, методика не требует наличия высококвалифицированного персонала [16, 28–33]. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии в этиологической диагностике бактериальных осложнений, тем не менее, сопряжено с определёнными ограничениями, заключающимися в недостаточной точности определения видов ряда бактерий — возбудителей но-

зокомиальных инфекций (*Streptococcus* spp., *Neisseria* spp.), а также в невозможности контроля чистоты выделенной культуры [34–37]. Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии, как и секвенирование по Сэнгеру, способен определять видовую принадлежность компонентов смешанной культуры при применении современных методик и программного обеспечения [36, 38–40].

Необходимо отметить, что возможности применения секвенирования по Сэнгеру в микробиологической практике не ограничиваются идентификацией микроорганизмов. Метод Сэнгера позволяет провести типирование возбудителей методами ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), методом микросателлитного анализа и мультилокусного сиквенс-типирования, что крайне важно при расследовании вспышек внутрибольничных инфекций, а также в оценке распространения определённых сиквенс-типов актуальных возбудителей в различных стационарах и регионах [41, 42]. Метод позволяет типировать гены антимикробной резистентности, что может быть важно для подбора персонализированной антибактериальной терапии [43]. Примером может служить типирование гена *KPC* при выявлении карбапенеморезистентной *K. pneumoniae*, продуцирующей одноимённую карбапенемазу: высокоэффективный против гена *KPC 2* препарат цефтазидим-авибактам недостаточно эффективен против варианта гена *KPC 3*.

## Заключение

Использование метода секвенирования по Сэнгеру — «золотого стандарта» идентификации микроорганизмов — позволяет точно определить видовую принадлежность возбудителей инфекционных осложнений в клинике внутренних болезней, а также подтвердить чистоту выделенной культуры микроорганизма. Применение его важно в образовательном процессе, особенно для последипломной подготовки высококвалифицированных кадров. Учитывая дополнительные возможности типировать микроорганизмы и гены антимикробной резистентности актуальных патогенов с помощью этого метода, он представляется полезным для практического использования как в клинической, так и учебной работе.

### Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов.** Баранцевич Наталья Евгеньевна — анализ антимикробной резистентности, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Баранцевич Елена Петровна — анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи.

## Литература/References

- Cocquyt T, Zhou Z, Plomp J, van Eijk L. Neutron tomography of Van Leeuwenhoek's microscopes. *Sci Adv*. 2021; 7 (20): eabf2402. doi: 10.1126/sciadv.abf2402.
- Wollman A. J., Nudd R., Hedlund E. G., Leake M. C. From Animaculum to single molecules: 300 years of the light microscope. *Open Biol*. 2015; 5 (4): 150019. doi: 10.1098/rsob.150019.
- Escobar-Zepeda A., Vera-Ponce de León A., Sanchez-Flores A. The road to metagenomics: from microbiology to dna sequencing technologies and bioinformatics. *Front Genet*. 2015; 6: 348. doi: 10.3389/fgene.2015.00348.
- Watson J., Crick F. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*. 1953; 171: 964–967. doi: 10.1038/171964b0.
- Tan S. Y., McCoy A. N. James Dewey Watson (1928): Co-discoverer of the structure of DNA. *Singapore Med J*. 2020; 61 (10): 507–508. doi: 10.11622/smedj.2020145.
- Maguin P., Marraffini L. A. From the discovery of DNA to current tools for DNA editing. *J Exp Med*. 2021; 218 (4): e20201791. doi: 10.1084/jem.20201791.
- Heather J. M., Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*. 2016; 107 (1): 1–8. doi: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003.
- Shendure J., Balasubramanian S., Church G. M., Gilbert W., Rogers J., Schloss J. A. et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*. 2017; 9: 550 (7676): 345–353. doi: 10.1038/nature24286.
- Crossley B. M., Bai J., Glaser A., Maes R., Porter E., Killian M. L. et al. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *J Vet Diagn Invest*. 2020; 32 (6): 767–775. doi: 10.1177/1040638720905833.
- Brooks H. J. Modern microbiology — a quiet revolution with many benefits. *Australas Med J*. 2013; 6 (7): 378–381. doi: 10.4066/AMJ.2013.1830.
- Fuchs V. R. New priorities for future biomedical innovations. *N Engl J Med*. 2010; 363: 704–706. doi: 10.1056/NEJMp0906597.
- Mishra S. Does modern medicine increase life-expectancy: Quest for the Moon Rabbit? *Indian Heart J*. 2016; 68 (1): 19–27. doi: 10.1016/j.ihj.2016.01.003.
- Ranabhat C. L., Atkinson J., Park M. B., Kim C. B., Jakovljevic M. The Influence of universal health coverage on Life Expectancy at Birth (LEAB) and Healthy Life Expectancy (HALE): a multi-country cross-sectional study. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 960. doi: 10.3389/fphar.2018.00960.
- Miller J. M., Binnicker M. J., Campbell S., Carroll K. C., Chapin K. C., Gilligan P. H. et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the infectious diseases society of America and the American society for microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018; 67 (6): e1–e94. doi: 10.1093/cid/ciy381.
- Peker N., Garcia-Croes S., Dijkhuizen B., Wiersma H. H., van Zanten E., Wisselink G. et al. A comparison of three different bioinformatics analyses of the 16S-23S rRNA encoding region for bacterial identification. *Front Microbiol*. 2019; 10: 620. Published 2019 Apr 16. doi: 10.3389/fmicb.2019.00620.
- Barantsevich N. E., Vetokhina A. V., Ayushinova N. I., Orlova O. E., Barantsevich E. P. *Candida auris* bloodstream infections in Russia. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9 (9): 557. doi: 10.3390/antibiotics9090557.
- Wayne L. G., Brenner D. J., Colwell R., Grimont P., Krichevsky M., Moore L. H., et al. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1987; 37 (4): 463–464. doi: 10.1099/00207713-37-4-463.
- Bergey D. H., Holt J. G. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000.
- CLSI Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th Ed. CLSI guideline M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2019.
- Sicheritz-Pontén T., Andersson S. G. A phylogenomic approach to microbial evolution. *Nucleic Acids Res*. 2001; 29 (2): 545–552. doi: 10.1093/nar/29.2.545.
- Romalde J. L., Balboa S., Ventosa A. Editorial: microbial taxonomy, phylogeny and biodiversity. *Front Microbiol*. 2019; 10: 1324. doi: 10.3389/fmicb.2019.01324.
- Palmer M., Steenkamp E. T., Coetzee M. P. A., Blom J., Venter S. N. Genome-based characterization of biological processes that differentiate closely related bacteria. *Front Microbiol*. 2018; 9: 113. doi: 10.3389/fmicb.2018.00113.
- Bishop C. J., Aanensen D. M., Jordan G. E., Kilian M., Hanage W. P., Spratt B. G. Assigning strains to bacterial species via the internet. *BMC Biol*. 2009; 7: 3. doi: 10.1186/1741-7007-7-3.
- Hanage W. P., Kaijalainen T., Herva E., Saukkoriipi A., Syrjänen R., Spratt B. G. Using multilocus sequence data to define the pneumococcus. *J Bacteriol*. 2005; 187 (17): 6223–6230. doi: 10.1128/JB.187.17.6223-6230.2005.
- Hoshino T., Fujiwara T., Kilian M. Use of phylogenetic and phenotypic analyses to identify nonhemolytic streptococci isolated from bacteremic patients. *J Clin Microbiol*. 2005; 43 (12): 6073–6085. doi: 10.1128/JCM.43.12.6073-6085.2005.
- Jensen A., Kilian M. Delineation of *Streptococcus dysgalactiae*, its subspecies, and its clinical and phylogenetic relationship to *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol*. 2012; 50 (1): 113–126. doi: 10.1128/JCM.05900-11.
- Агеев В. А., Суляк О. С., Авдеева А. А., Чулкина П. С., Гостев В. В., Агеев И. В., и др. Сравнительная активность карбапенемных антибиотиков в отношении грамотрицательных продуцентов карбапенемаз различных групп. *Антибиотики и химиотер*. 2022; 67 (1–2): 9–15. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-9-15>. [Ageevets V. A., Sulian O. S., Avdeeva A. A., Chulkova P. S., Gostev V. V., Ageevets I. V. et al. Comparative activity of carbapenem antibiotics against gram-negative carbapenemase producers of different groups. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022; 67 (1–2): 9–15. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-9-15>. (in Russian)]
- Hou T. Y., Chiang-Ni C., Teng S. H. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal*. 2019; 27 (2): 404–414. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.001.
- Lin J. F., Ge MC, Liu T. P., Chang S. C., Lu J. J. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018; 51 (5): 659–665. doi: 10.1016/j.jmii.2017.03.005.
- Tran A., Alby K., Kerr A., Jones M., Gilligan P. H. Cost savings realized by implementation of routine microbiological identification by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2015; 53 (8): 2473–2479. doi: 10.1128/JCM.00833-15.
- Elbehiry A., Aldubaib M., Abalkhail A., Marzouk E., Albeloushi A., Moussa I. et al. How M.A.LDI-TOF mass spectrometry technology contributes to microbial infection control in healthcare settings. *Vaccines (Basel)*. 2022; 10 (11): 1881. doi: 10.3390/vaccines10111881.
- Баранцевич Е. П., Баранцевич Н. Е. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии в клинической микробиологии. *Трансляционная медицина*. 2014; 3: 23–28. doi: <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2014-0-3-23-28>. [Barantsevich E. P., Barantsevich N. E. MALDI-TOF mass-spectrometry in clinical microbiology. *Translational Medicine*. 2014; (3): 23–28. doi: <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2014-0-3-23-28>. (in Russian)]
- Calderaro A., Chezzi C. MALDI-TOF MS: A reliable tool in the real life of the clinical microbiology laboratory. *Microorganisms*. 2024; 12 (2): 322. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020322>.
- Morel E., Jacquier H., Desroches M., Fihman V., Kumanski S., Cambau E., et al. Use of Andromas and Bruker M.A.LDI-TOF MS in the identification of *Neisseria*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018; 37 (12): 2273–2277. doi: 10.1007/s10096-018-3368-6.
- Nybakken E. J., Oppegaard O., Gilhuus M., Jensen C. S., Mylvaganam H. Identification of *Streptococcus dysgalactiae* using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry; refining the database for improved identification. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021; 99 (1): 115207. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115207.
- Mörtelmaier C., Panda S., Robertson I., Krell M., Christodoulou M., Reichardt N., et al. Identification performance of MALDI-ToF-MS upon mono- and bi-microbial cultures is cell number and culture proportion dependent. *Anal Bioanal Chem*. 2019; 411 (26): 7027–7038. doi: 10.1007/s00216-019-02080-x.
- Hong E., Bakhalek Y., Taha M. K. Identification of *Neisseria meningitidis* by MALDI-TOF MS may not be reliable. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25 (6): 717–722. doi: 10.1016/j.cmi.2018.09.015.
- Chen L., Gao W., Tan X., Han Y., Jiao F., Feng B., Xie J., Li B., Zhao H., Tu H., Yu S., Wang L. MALDI-TOF MS is an effective technique to classify specific microbiota. *Microbiol Spectr*. 2023; 11: e00307–23. doi: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00307-23>.
- Yang Y., Lin Y., Qiao L. Direct M.A.LDI-TOF MS Identification of Bacterial Mixtures. *Anal Chem*. 2018; 90 (17): 10400–10408. doi: 10.1021/acs.analchem.8b02258.
- Prakash S., Racovita A., Petrucci T., Galizi R., Jaramillo A. qSanger: quantification of genetic variants in bacterial cultures by sanger sequencing. *Biodes Res*. 2023; 5: 0007. doi: 10.34133/bdr.0007.
- Tewolde R., Dallman T., Schaefer U., Sheppard C. L., Ashton P., Pichon B., et al. MOST: a modified MLST typing tool based on short read sequencing. *Peer J*. 2016; 4: e2308. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.2308>.
- Nutman A., Marchaim D. How to: molecular investigation of a hospital outbreak. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25 (6): 688–695. doi: 10.1016/j.cmi.2018.09.017.
- Баранцевич Е. П., Баранцевич Н. Е., Шляхто Е. В. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге. *Клиническая микробиология и антимикробная хи-*

миотерапия. 2016; 18 (3): 196–199. [Barantsevich E. P., Barantsevich N. E., Shlyakhto E. V. Production of carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Saint-Petersburg. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2016; 18 (3): 196–199. (in Russian)]

Поступила / Received 17.09.2024

Принята в печать / Accepted 28.09.2024

## Информация об авторах

*Баранцевич Наталья Евгеньевна* — научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия. eLIBRARY: SPIN-код: 3914-4499. AuthorID: 785835. Scopus Author ID: 55880381000. ORCID ID: 0000-0002-1000-2240

*Баранцевич Елена Петровна* — д. м. н., Заведующая научно-исследовательским отделом микробиологии и внутрибольничных инфекций, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия. eLIBRARY: SPIN-код: 3534-1010. AuthorID: 268934. Scopus Author ID: 6601955793. WOS Research ID S-1455-2016. ORCID ID: 0000-0002-4800-3345

## About the authors

*Natalia E. Barantsevich* — Research fellow, Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia. eLIBRARY: SPIN-code: 3914-4499. AuthorID: 785835. Scopus Author ID: 55880381000. ORCID ID: 0000-0002-1000-2240

*Elena P. Barantsevich* — D. Sc. in Medicine, Head of the Research Department of Microbiology and Nosocomial Infections, Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia. eLIBRARY: SPIN-code: 3534-1010. AuthorID: 268934. Scopus Author ID: 6601955793. WOS Research ID S-1455-2016. ORCID ID: 0000-0002-4800-3345



# Анализ структуры распределения генетических биомаркеров безопасности этиотропных препаратов для лечения COVID-19 у представителей этнических групп Поволжья и Дальнего Востока

\*С. Н. ТУЧКОВА<sup>1</sup>, Ш. П. АБДУЛЛАЕВ<sup>1</sup>, Н. П. ДЕНИСЕНКО<sup>1</sup>, А. В. КРЮКОВ<sup>1,2</sup>,  
И. И. ТЕМИРБУЛАТОВ<sup>1</sup>, С. Ш. СУЛЕЙМАНОВ<sup>3</sup>, Е. Ю. КИТАЕВА<sup>4</sup>, В. В. ШПРАХ<sup>5</sup>,  
Е. Э. СИДУКОВА<sup>6</sup>, И. В. СЫЧЕВ<sup>1</sup>, К. Б. МИРЗАЕВ<sup>1</sup>, Д. А. СЫЧЕВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №15 им. О. М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

<sup>3</sup> Российско-японский медицинский центр «Саико», Хабаровск, Россия

<sup>4</sup> Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Иркутская городская клиническая больница № 1», Иркутск, Россия

<sup>5</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Россия

<sup>6</sup> Государственное бюджетное учреждение Республики Марий Эл «Козьмодемьянская межрайонная больница», Козьмодемьянск, Россия

## Резюме

Эффективность и безопасность применения фавипиравира может быть обусловлена полиморфизмами генов, кодирующих ферменты, участвующие в биотрансформации препарата — AOX1 и CYP1A2. Цель — анализ частоты распределения аллельных вариантов генов ферментов, участвующих в биотрансформации фавипиравира, AOX1 (rs55754655, rs10931910) и CYP1A2\*F1 (rs762551) среди этнических групп Поволжья и Дальнего Востока. Материал и методы. В исследовании приняли участие 497 добровольцев из пяти этнических групп: русские, марийцы, мордвы, нанайцы, буряты. Определение принадлежности к этнической группе определялось путём двойной самоидентификации, определение носительства биомаркеров — методом ПЦР-РВ. Результаты. В отношении исследуемых однонуклеотидных полиморфизмов наблюдались статистически значимые различия между этническими группами. Частота встречаемости мутантной аллели C rs10931910 AOX1 у нанайцев отличается от всех этнических групп, кроме бурят, а минорной аллели C rs55754655 AOX1 значимо отличалась у марийцев. В распределении аллели A rs762551 CYP1A2\*F1 обнаружена разница между группами бурят и русских. Паттерны распределения соответствовали частотам в больших популяциях, от которых произошли изучаемые субпопуляции. Частоты встречаемости аллели C rs55754655 AOX1 составили 10% у русских, 5% — у марийцев, 3% — у бурят, 7,5% — у мордвы, 3,5% — у нанайцев. Аллель C rs10931910 AOX1 выявлена у 48, 42, 86, 36 и 77,5%, соответственно, полиморфизм гена CYP1A2\*F1 rs762551 (мутантная аллель — A) — 65, 55, 68, 70 и 74%, соответственно. Заключение. Имеется неоднородность распределения полиморфизмов генов, ферментов-метаболизаторов лекарственных препаратов, в том числе фавипиравира, что может иметь значение при персонализации терапии пациентов-представителей отдельных этнических групп РФ.

**Ключевые слова:** фармакогенетика; этнические группы; COVID-19; фавипиравир; AOX1; CYP1A2

**Для цитирования:** Тучкова С. Н., Абдуллаев Ш. П., Денисенко Н. П., Крюков А. В., Темирбулатов И. И., Сулейманов С. Ш., Китаева Е. Ю., Шпрах В. В., Сидукова Е. Е., Сычев И. В., Мирзаев К. Б., Сычев Д. А. Анализ структуры распределения генетических биомаркеров безопасности этиотропных препаратов для лечения COVID-19 у представителей этнических групп Поволжья и Дальнего Востока. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 24–30. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-24-30>. EDN: IHXOIV.

## Analysis of the Distribution Pattern of Genetic Biomarkers of Safety of Etiotropic Drugs for the Treatment of COVID-19 in Representatives of Ethnic Groups of the Volga Region and the Far East

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: svetlanatuch1998@gmail.com



\*Correspondence to:  
E-mail: svetlanatuch1998@gmail.com



EDN: IHXOIV

\*SVETLANA N. TUCHKOVA<sup>1</sup>, SHERZOD P. ABDULLAEV<sup>1</sup>, NATALIA P. DENISENKO<sup>1</sup>, ALEXANDER V. KRYUKOV<sup>1,2</sup>, ILYAS I. TEMIRBULATOV<sup>1</sup>, SALAVAT S. SULEYMANOV<sup>3</sup>, ELENA Y. KITAEVA<sup>4</sup>, VLADIMIR V. SHPRAKH<sup>5</sup>, ELENA E. SIDUKOVA<sup>6</sup>, IVAN V. SYCHEV<sup>1</sup>, KARIN B. MIRZAEV<sup>1</sup>, DMITRY A. SYCHEV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

<sup>2</sup> City Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Saiko Russian-Japanese Medical Center, Khabarovsk, Russia

<sup>4</sup> Irkutsk City Clinical Hospital No. 1, Russia

<sup>5</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education — branch of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Irkutsk, Russia

<sup>6</sup> Kozmodemyansk Interdistrict Hospital, Kozmodemyansk, Mari El Republic, Russia

## Abstract

The effectiveness and safety of favipiravir may be determined by polymorphisms of genes encoding enzymes involved in the biotransformation of the drug — *AOX1* and *CYP1A2*. The aim of the study was to analyze the distribution frequency of allelic variants of genes encoding enzymes involved in the biotransformation of favipiravir *AOX1* (rs55754655 and rs10931910) and *CYP1A2\*F1* (rs762551) among ethnic groups of the Volga region and the Far East. **Material and methods.** The study involved 497 volunteers from five ethnic groups: Russians, Mari, Mordvins, Nanai, and Buryats. The definition of belonging to an ethnic group was determined by double self-identification. Biomarker carriage was determined by the RT-PCR method. **Results.** Statistically significant differences between ethnic groups were observed in relation to the studied single nucleotide polymorphisms. The frequency of occurrence of the mutant allele C rs10931910 *AOX1* among the Nanai differs from all ethnic groups except the Buryats, and the minor allele C rs55754655 *AOX1* was significantly different among the Mari. A difference was found in the distribution of the A allele of rs762551 *CYP1A2\*F1* between the Buryat and Russian groups. Distribution patterns corresponded to frequencies in the larger populations from which the studied subpopulations originated. The frequencies of occurrence of the C allele of rs55754655 *AOX1* were 10% in Russians, 5% in Mari, 3% in Buryats, 7.5% in Mordvins, 3.5% in Nanai. Allele C rs10931910 *AOX1* was detected in 48%, 42%, 86%, 36%, and 77.5%, respectively, polymorphism of the *CYP1A2\*F1* gene rs762551 (mutant allele — A) — 65%, 55%, 68%, 70%, and 74%, respectively. **Conclusion.** There is heterogeneity in the distribution of polymorphisms of genes and enzymes that metabolize drugs, including favipiravir, which may be important when personalizing therapy for patients representing certain ethnic groups of the Russian Federation.

**Keywords:** pharmacogenetics; ethnic groups; COVID-19; favipiravir; *AOX1*; *CYP1A2*

**For citation:** Tuchkova S. N., Abdullaev Sh. P., Denisenko N. P., Kryukov A. V., Temirbulatov I. I., Suleymanov S. Sh., Kitaeva E. Yu., Shprakh V. V., Sidukova E. E., Sychev I. V., Mirzaev K. B., Sychev D. A. Analysis of the distribution pattern of genetic biomarkers of safety of etiotropic drugs for the treatment of COVID-19 in representatives of ethnic groups of the Volga Region and the Far East. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 24–30. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-24-30>. EDN: IHXOIV.

## Введение

Согласно Временным методическим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Минздрава России [1], назначение этиотропной терапии рекомендовано при появлении первых симптомов заболевания. Одним из представителей данной группы препаратов является фавипиравир. Фавипиравир был разработан в 2002 г. в качестве ингибитора репликации вируса гриппа. В 2014 г. препарат одобрен в Японии для лечения новых или вновь появляющихся вирусов гриппа [2]. 15 февраля 2020 г. препарат одобрен в Китае для лечения COVID-19 [3].

Препарат обладает широким спектром противовирусной активности: помимо подтипов и штаммов гриппа и коронавируса, фавипиравир так же эффективен в отношении аренавирусов, буньявирусов и филовирсов [4]. В отношении вируса SARS-CoV-2 в клинических исследованиях была показана его высокая эффективность в отношении улучшения клинического статуса, в том числе у пациентов с высоким риском тяжёлого течения COVID-19: пациенты пожилого возраста,

с сопутствующими заболеваниями (сахарный диабет, ожирение, хронические заболевания сердечно-сосудистой системы).

Вместе с тем, при применении фавипиравира могут развиваться нежелательные реакции (НР), связанные с повреждением печени: на фоне приёма фавипиравира у пациентов нередко отмечается повышение уровня печёночных ферментов в крови. Так, в японском исследовании повышение трансаминаз фиксировалось у 15,52% пациентов [5]. Метаанализ 157 исследований показал, что в группе пациентов с COVID-19, принимающих фавипиравир, маркер повреждения печени аланинаминотрансфераза (АЛТ) был выше, чем в группе пациентов, принимающих стандартную терапию (OR=1,35,  $p<0,01$ ) [6].

Генетические особенности пациента вносят вклад до 50% лекарственного ответа на приём препарата. Так, важную роль в эффективности и безопасности проводимой фармакотерапии могут играть генетические варианты генов метаболитов лекарственных средств. Метаболизм фавипиравира происходит в печени преимущественно под действием альдегид-оксидазы и в меньшей степени —

ксантиноксидазы [7]. Активность данных ферментов определяет интенсивность выведение препарата из организма, в том числе его токсичность. Изучение вклада генетических вариантов генов метаболитов фавипиравира может помочь в прогнозировании риска развития реакций на фоне его применения.

В предшествующих работах нашего коллектива (2023 г.) с включением 86 пациентов с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией COVID-19, было выявлено, что у пациентов-носителей аллельных вариантов дикого типа по rs10931910 и rs55754655 гена *AOX1* и минорного типа по rs762551 гена *CYP1A2\*F1* на фоне приёма фавипиравира изменялась динамика (разница до и после лечения) маркера повреждения печени АСТ [8].

Учитывая сохраняющуюся заболеваемость новой коронавирусной инфекцией среди населения, изучение маркеров вариативности ответа на фавипиравир и их распространённости среди отдельных этнических групп остаётся актуальным. В связи с этим, целью данной работы было изучить распространённость аллельных вариантов rs10931910 и rs55754655 гена *AOX1* и rs762551 гена *CYP1A2\*F1* среди русской этнической группы, как преобладающей части народонаселения России, и в отдельных этнических группах Поволжья (марийцы и мордвины) и Дальнего Востока (буряты и нанайцы).

## Материал и методы

В исследование был включён анализ результатов генотипирования 497 образцов условно здоровых добровольцев из 5 этнических групп, проживающих на территории Поволжья и Дальнего Востока: марийцы ( $n=100$ ), буряты ( $n=100$ ), мордвины ( $n=100$ ), нанайцы ( $n=100$ ) и русские ( $n=97$ ). Источник образцов — биоресурсная коллекция ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Для установления этнической принадлежности добровольцев был использован метод самоидентификации. Самоидентификация является надёжным способом отнесения к этнической группе, так как наблюдается высокая корреляция между самоидентифицированной этнической принадлежностью и этническими генетическими кластерами (Genetic Structure, Self-Identified Race/Ethnicity, and Confounding in Case-Control Association Studies, 2005). Критерием включения было самоопределение к определённой этнической группе в двух поколениях. Критерий исключения — потомки межэтнических браков.

Все участники подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании, забор и хранение биоматериалов, генетические анализы.

Для всех образцов изучались аллельные варианты rs55754655 и rs10931910 гена *AOX1* и rs762551 гена *CYP1A2\*F1*.

**Генотипирование.** Для получения ДНК использовалась цельная кровь из кубитальной вены. Кровь собиралась в одноразовые вакуумные пробирки с двукалиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (К2ЭТДА) (Vacuette, Greiner Bio-One GmbH, Австрия). Выделение ДНК производилось с использованием набора реагентов «S-Сорб» для выделения ДНК на сорбенте («Синтол», Россия). Для определения носительства полиморфных маркеров использовались коммерче-

ские наборы реагентов для амплификации ДНК в молекулярно-генетических исследованиях (ООО «ТестГен», Россия). Амплификация производилась на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories Inc., США). ПЦР производилась в соответствии с инструкцией производителя.

**Статистическая обработка.** Проверялось соответствие распределения аллелей закону Харди–Вайнберга (критерий  $\chi^2$ ). Для установления различий между частотами аллелей использовались  $\chi^2$  Пирсона и точный критерий Фишера. Для устранения эффекта множественного сравнения использовалась поправка Бонферрони. С учётом данной поправки статистически значимыми считались результаты с  $p\text{-value}<0,0125$ , что соответствует попарному сравнению четырёх групп.

## Результаты

Распределение всех генотипов рассматриваемых генов соответствовало закону Харди–Вайнберга (табл. 1).

В табл. 2 представлены результаты множественного попарного сравнения частоты носительства *AOX1* rs10931910 С, *AOX1* rs55754655 С и *CYP1A2\*F1* rs762551 А.

Наибольшая гетерогенность между группами наблюдалась по rs10931910 гена *AOX1*. Наибольшая частота rs10931910 гена *AOX1* наблюдалась у бурятов — 86%, наименьшая — у мордвинов — 36%. Стоит отметить, что для групп бурятов и нанайцев аллель С является мажорной. Частота встречаемости мутантной аллели отличается от референтной группы русских (48%) у бурятов (86%,  $p<0,0001$ ), мордвинов (36%,  $p=0,0123$ ) и нанайцев (77,5%,  $p<0,0001$ ). Значимые различия обнаружены между группами бурятов и марийцев ( $p<0,0001$ ), бурятов и мордвинов ( $p<0,0001$ ), мордвинов и нанайцев ( $p<0,0001$ ).

Для rs55754655 гена *AOX1* распределение было относительно однородным. Минорная аллель наиболее часто встречалась у русских (10%), наиболее редко — у бурятов (3%). Статистически значимые различия наблюдались только между группами русских и бурятов ( $p=0,0105$ ).

Распределение генотипов по rs762551 гена *CYP1A2\*F1* из всех изучаемых популяций значимо отличалась только у марийцев, у которых аллель А встречалась с наименьшей частотой, равной 55%. Частота у данной этнической группы статистически значимо отличалась от бурятов (68%,  $p=0,0092$ ), мордвинов (70%,  $p=0,0027$ ), нанайцев (74%,  $p<0,0001$ ).

## Обсуждение

Россия является родиной многих народов и народностей, проживающих на территориях Европейской низменности и Дальнего Востока. За счёт территориальных, этноконфессиональных и культурных особенностей народонаселения России для нашей страны характерна высокая генетическая гетерогенность. Данная особенность ранее изучалась в ряде работ отечественных авторов,

**Таблица 1. Частота вариантов генотипов и оценка соответствия распределения закону Харди–Вайнберга**  
**Table 1. Frequency of genotype variants and assessment of the distribution's compliance with the Hardy–Weinberg principle**

| Этническая группа  | Генотип, <i>n</i> |    |    | Частота аллелей, % |      | <i>p</i> |
|--------------------|-------------------|----|----|--------------------|------|----------|
| AOXI rs10931910    |                   |    |    |                    |      |          |
|                    | TT                | TC | CC | T                  | C    |          |
| Русские            | 24                | 52 | 21 | 52                 | 48   | 0,480    |
| Марийцы            | 35                | 45 | 20 | 58                 | 42   | 0,428    |
| Мордвины           | 37                | 54 | 9  | 64                 | 36   | 0,086    |
| Буряты             | 1                 | 26 | 73 | 14                 | 86   | 0,425    |
| Нанайцы            | 6                 | 33 | 61 | 22,5               | 77,5 | 0,591    |
| AOXI rs55754655    |                   |    |    |                    |      |          |
|                    | TT                | TC | CC | T                  | C    |          |
| Русские            | 80                | 15 | 2  | 90                 | 10   | 0,207    |
| Марийцы            | 90                | 10 | 0  | 95                 | 5    | 0,599    |
| Мордвины           | 85                | 15 | 0  | 92,5               | 7,5  | 0,417    |
| Буряты             | 94                | 6  | 0  | 97                 | 3    | 0,757    |
| Нанайцы            | 93                | 7  | 0  | 96,5               | 3,5  | 0,717    |
| CYP1A2*F1 rs762551 |                   |    |    |                    |      |          |
|                    | CC                | AC | AA | C                  | A    |          |
| Русские            | 12                | 44 | 41 | 35                 | 65   | 0,992    |
| Марийцы            | 19                | 51 | 30 | 45                 | 55   | 0,745    |
| Мордвины           | 5                 | 50 | 45 | 30                 | 70   | 0,057    |
| Буряты             | 8                 | 47 | 44 | 32                 | 68   | 0,349    |
| Нанайцы            | 6                 | 39 | 55 | 26                 | 74   | 0,791    |

посвящённых анализу распределения основных фармакогенетических и других клинически значимых генетических маркеров среди различных этнических групп в России [9–11].

В работах ряда авторов отмечается относительно высокая частота развития НР на фоне лечения фавипиравиром у пациентов с COVID-19. Ретроспективное исследование с участием 357 пациентов с подтверждённым заболеванием показало, что 10,36% участников столкнулись с НР препарата. Самым частой НР было нарушение функции печени: оно наблюдалось у 7,28% принимавших препарат. Другие — диарея, тошнота, боль в животе и тромбоцитопения встречались с частотой 1,4, 0,84, 0,28 и 0,28%, соответственно [12]. Метаанализ 15 исследований, посвящённых частоте развития НР, показал, что пациенты, принимающие фавипиравир, имеют более высокий риск появления гиперурикемии (ОР=7,69,  $p<0,01$ ). Другая НР, которая имела более высокий риск появления при применении фавипиравира, было повышение уровня АЛТ (ОР=1,35,  $p<0,01$ ), что является биомаркером повреждения печени [6].

Неблагоприятная природа влияния фавипиравира на печень объясняется действием метаболитов препарата, образующихся под действием альдегидоксидазы 1 (AOX1). Существование полиморфизмов гена AOX1 может обуславливать вариабельность активности данного фермента, что может соответственно сказываться на лекарственный ответ препаратов и частоту НР, что подтверждается рядом фармакогенетических исследований. Так, SNP rs55754655, ассоциирующийся

**Таблица 2. Множественное попарное сравнение частоты носительства исследуемых полиморфизмов в популяциях русских, марийцев, бурят, мордвин и нанайцев**

**Table 2. Multiple pair-by-pair comparison of the carriage frequency of the studied polymorphisms in the populations of Russians, Mari, Buryats, Mordvins and Nanai**

| Марийцы Буряты Мордвины Нанайцы |        |         |         |         |
|---------------------------------|--------|---------|---------|---------|
| AOX1 rs10931910                 |        |         |         |         |
| Русские                         | 0,2354 | <0,0001 | 0,0123  | <0,0001 |
| Марийцы                         | —      | <0,0001 | 0,1831  | <0,0001 |
| Буряты                          | —      | —       | <0,0001 | 0,0278  |
| Мордвины                        | —      | —       | —       | <0,0001 |
| AOX1 rs55754655                 |        |         |         |         |
| Русские                         | 0,0685 | 0,0105  | 0,4176  | 0,0207  |
| Марийцы                         | —      | 0,444   | 0,3017  | 0,6201  |
| Буряты                          | —      | —       | 0,0729  | 0,778   |
| Мордвины                        | —      | —       | —       | 0,1247  |
| CYP1A2*F1 rs762551              |        |         |         |         |
| Русские                         | 0,0555 | 0,4974  | 0,2844  | 0,039   |
| Марийцы                         | —      | 0,0092  | 0,0027  | <0,0001 |
| Буряты                          | —      | —       | 0,6947  | 0,1633  |
| Мордвины                        | —      | —       | —       | 0,3149  |

со снижением активности фермента, был связан с меньшей эффективностью азатиоприна. Препарат является пролекарством, которое активируется ферментом. Снижение активности AOX1 приводило к более слабому ответу на терапию [13].

Исследование, проведённое с участием пациентов, перенёвших трансплантацию почки, показало, что носителям минорной аллели rs55754655 требуется более высокая доза азатиоприна для обеспечения эффективной иммуносупрессии.



Данные результаты согласуются с упомянутым выше исследованием о влиянии мутации в данном SNP на эффективность препарата [14].

Наличие мутантной аллели в rs10931910 гена *AOX1* у пациентов, страдающих от солидных опухолей, ассоциировано со снижением клиренса селективного ингибитора топоизомеразы II  $\beta$  ХК469 [15]. *AOX1* является главным ферментом, отвечающим за метаболизм данного препарата. Вероятно, мутация в точке rs10931910 приводит к снижению активности фермента.

Исследуемые SNP распределены в мире неравномерно: в популяциях европеоидов распространённость аллели А rs10931910 составляет 56%, тогда как среди групп из Восточной Азии — всего 16%. Частота встречаемости минорной аллели SNP rs55754655 в европеоидных популяциях равна 12%, а среди монголоидов встречаемость аллели стремится к нулю [16]. Паттерны в распределении нашей выборки согласуются с мировыми данными: этнические группы бурятов и нанайцев имеют более низкую частоту встречаемости мутантной аллели rs10931910 и более высокую встречаемость дикой аллели rs55754655 по сравнению с европеоидными группами русских, марийцев и мордвинцев.

В предшествующих работах нашего коллектива совместно с Лабораторией структурно-функционального конструирования лекарств НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича (заведующий — член-корр. РАН В. В. Поройков) был осуществлён поиск генов-кандидатов, был использован метод *in silico*. Поиск проводился с использованием компьютерной программы PASS 2022. Благодаря алгоритму анализа взаимосвязей «структура–активность» был предсказан профиль биологической активности по структурной формуле лекарственно-подобного органического соединения [8, 17]. Согласно полученному прогнозу, фавипиравир имеет сродство к цитохрому *CYP1A2*.

Фармакогенетические исследования показывают связь между SNP rs762551 (*CYP1A2\*F1*) и лекарственным ответом на тикагрелор и некоторые нейролептики. Так, обнаружено, что аллель А связана со снижением уровня реактивности тромбоцитов у курильщиков. Таким образом, мутантная аллель усиливает парадокс курильщика [18]. Исследование с участием пациентов, страдающих шизофренией и принимающих антипсихотики, показало, что больные, имеющие две мажорные аллели С в rs762551 и принимающие хлорпромазин, имеют выше риск развития клинически значимого удлинения интервала QTc по сравнению с носителями одной или двух минорных аллелей [19].

Гетерогенность европейской и азиатской популяций в отношении частоты встречаемости аллелей по SNP rs762551 выражена не так ярко, как

по rs10931910 или rs55754655. Так, распространённость мутантной аллели *CYP1A2\*F1* среди народов Восточной Азии составляет 67%, Европы — 68% [16]. Отсутствие значимых различий прослеживается и в изучаемой выборке: только этническая группа марийцев значимо отличалась от других этносов.

Таким образом, изучение распространённости клинически значимых полиморфизмов генов *AOX1* и *CYP1A2* важно для разработки подходов к прогнозированию эффективности и безопасности фармакотерапии фавипиравиром у пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, относящихся к отдельным этническим группам. В то же время данные о частоте изученных полиморфизмов могут быть использованы при исследовании вариабельности ответа и параметров эффективности и безопасности других лекарственных препаратов, являющихся субстратами данных ферментов. Изучение этнофармакогенетических особенностей населения Российской Федерации представляется важной задачей для определения приоритетности внедрения геномных технологий в отдельных регионах и перехода к персонализированной фармакотерапии пациентов.

## Заключение

Изучение распределения вариантов клинически значимых генов, ответственных за фармакодинамику, фармакокинетику препаратов, определяющих их эффективность и безопасность, является важной задачей на пути внедрения подходов персонализированной медицины в широкую практику. Знание генетических особенностей местного населения позволяет выделить приоритетные для внедрения регионы, где разработка локальных алгоритмов дозирования и приоритетного выбора лекарственных препаратов с учётом результатов генетического тестирования будет клинически и клинико-экономически обоснованым. Нами было выявлено, что распределение аллельных вариантов между различными этническими группами неравномерна. Наибольшая гетерогенность наблюдалась в rs10931910 гена *AOX1*, наименьшая — в rs762551 гена *CYP1A2\*F1*.

## Дополнительная информация

**Финансирование.** Данная работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, тематика государственного задания «Факторы, влияющие на развитие неблагоприятных реакций при применении лекарственных препаратов для этиотропной и патогенетической терапии пациентов с COVID-19» (ЕГИСУ НИОКТР №122021800155-3).

## Литература/References

1. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) 18-е изд., М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2022. [The provisional guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) 18<sup>th</sup> ed., Moscow: Ministry of health of the Russian Federation, 2022. (in Russian)]
2. Shiraki K., Daikoku T. Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections. *Pharmacology & therapeutics*. 2020; 209: 107–112. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107512.
3. Dong L., Hu S., Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug discoveries & therapeutics*. 2020; 14 (1): 58–60. doi: 10.5582/ddt.2020.01012.
4. Furuta Y., Komeno T., Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017; 93 (7): 449–463. doi: 10.2183/pjab.93.027.
5. Preliminary report of the favipiravir observational study in Japan - 2020/5/15-Favipiravir Observational Study Group: [Internet]. Fujita Health University. [cited 2024 Jan 23]. Available from: [https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19\\_casereport\\_en\\_200529.pdf](https://www.kansensho.or.jp/uploads/files/topics/2019ncov/covid19_casereport_en_200529.pdf)
6. Hung D. T., Ghula S., Aziz J. M. A., Makram A. M., Tawfik G. M., Abozaid A. A. et al. The efficacy and adverse effects of favipiravir on patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis of published clinical trials and observational studies. *Int J Infect Dis*. 2022; 120: 217–227. doi: 10.1016/j.ijid.2022.04.035.
7. Открытая база данных: DrugBank [Internet]. Favipiravir. 2020 — [cited 2024 Jan 24]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB12466#pharmacology-header>
8. Темирбулатов И. И., Крюков А. В., Мирзаев К. Б., Денисенко Н. П., Абдуллаев Ш. П., Петрова А. В. и др. Фармакогенетические маркеры безопасности фавипиравира при лечении пациентов с COVID-19. Антибиотики и химиотер. 2023; 68 (5–6): 55–61. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-55-61> [Temirbulatov I. I., Kryukov A. V., Mirzaev K. B., Denisenko N. P., Abdullaev Sh. P., Petrova A. V., et al. Pharmacogenetic markers of favipiravir safety in COVID-19 treatment. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (5–6): 55–61. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-55-61>. (in Russian)]
9. Мирзаев К. Б., Федоринов Д. С., Акмалова К. А., Абдуллаев Ш. П., Качанова А. А., Созаева Ж. А. и др. Анализ носительства клинически значимых аллельных вариантов генов TPMT и DPYD, ассоциированных с ответом на лекарственную терапию в онкогематологической практике, среди 9 этнических групп Российской Федерации. Терапевтический архив. 2020; 92 (8): 43–51. doi: <https://doi.org/10.26442/00403660.2020.08.000719>. [Mirzaev K. B., Fedorinov D. S., Akmalova K. A., Abdullaev Sh. P., Kachanova A. A., Sozaeva Zh. A., et al. Analysis of carrying clinically significant allelic variants of TPMT and DPYD genes associated with the response to drug therapy in cancer practice among 9 ethnic groups of the Russian Federation. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (8): 43–51. doi: <https://doi.org/10.26442/00403660.2020.08.000719>. (in Russian)]
10. Эрдман В. В., Данилко К. В., Матуа А. З., Насибуллин Т. Р., Туктарова Е. А., Викторова Т. В. и др. Популяционный анализ полиморфного маркера rs1002149 гена глутатионредуктазы у жителей Республики Башкортостан и Абхазии. Научные результаты биомедицинских исследований. 2019; 5 (4): 65–77. doi: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-5>. [Erdman V. V., Danilko K. V., Matua A. Z., Nasilullin T. R., Tuktarova E. A., Viktorova T. V. et al. Population analysis of the polymorphic marker rs1002149 of the glutathione reductase gene in residents of the Republic of Bashkortostan and Abkhazia. *Research Results in Biomedicine*. 2019; 5 (4): 65–77. doi: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-5> (in Russian)]
11. Батурич В. А., Царукян А. А., Колодийчук Е. В. Исследование полиморфизма гена CYP2C9 в этнических группах населения Ставропольского края. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2014; 9 (1): 45–48. doi: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2014.09013> [Baturin V. A., Tsarukyan A. A., Kolodijchuk E. V. Study of CYP2C9 gene polymorphism in ethnic groups of the population of Stavropol region. *Medical news of the North Caucasus*. 2014; 9 (1): 45–48. doi: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2014.09013> (in Russian)]
12. Ergür F. Ö., Yıldız M., Şener M. U., Kavurgacı S., Oztürk A. et al. Adverse effects associated with favipiravir in patients with COVID-19 pneumonia: a retrospective study. *Sao Paulo Medical Journal*. 2022; 140: 372–377. doi: 10.1590/1516-3180.2021.0489.R1.13082021.
13. Smith M. A., Marinaki A. M., Arenas M., Shobowale-Bakre M., Lewis C. M., Ansari A. et al. Novel pharmacogenetic markers for treatment outcome in azathioprine-treated inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2009; 30 (4): 375–384. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04057.x.
14. Kurawski M., Dziewanowski K., Safranow K., Drozdziak M. Polymorphism of genes involved in purine metabolism (XDH, AOX1, MOCOS) in kidney transplant recipients receiving azathioprine. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2012; 34 (3): 266–274. doi: 10.1097/FTD.0b013e31824aa681.
15. Ramírez J. Kim T. W., Liu W., Myers J. L., Mirkov S., Owzar K. et al. A pharmacogenetic study of aldehyde oxidase 1 in patients treated with XK469. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2014; 24 (2): 129. doi: 10.1097/FPC.000000000000023.
16. Ensemble [Internet]. EMBL's European Bioinformatics Institute. [cited 2024 Jan 29]. Available from: [www.ebi.ac.uk/ensembl/](http://www.ebi.ac.uk/ensembl/)
17. Filimonov D. A., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudik A. V., Druzhilovskii D. S., Pogodin P. V., Poroikov V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014; 50: 444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1.
18. Park K. W., Park J. J., Jeon K. H., Kang S. H., Oh I. Y., Yang H. M. et al. Enhanced clopidogrel responsiveness in smokers: smokers' paradox is dependent on cytochrome P450 CYP1A2 status. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2011; 31(3): 665–671. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.217182.
19. Tay J. K. X., Tan C. H., Chong S. A., Tan E. C. et al. Functional polymorphisms of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene and prolonged QTc interval in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2007; 31 (6): 1297–1302. doi: 10.1016/j.pnpb.2007.05.013.

Поступила / Received 12.03.2024

Принята в печать / Accepted 15.04.2024

## Информация об авторах

Тучкова Светлана Николаевна — младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0001-2744-2752

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич — к. б. н., заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499

Денисенко Наталья Павловна — к. м. н., заместитель директора Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины; доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б. Е. Вотчала,

## About the authors

Svetlana N. Tuchkova — Junior Researcher of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0001-2744-2752

Sherzod P. Abdullaev — Ph. D. in Biology, Head of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499

Natalia P. Denisenko — Ph. D. in Medicine, Deputy Director of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal,

ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3278-5941

*Крюков Александр Валерьевич* — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б. Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7903-2977

*Темирбулатов Ильяс Ильдарович* — аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б. Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1242-0833

*Сулейманов Салават Шейхович* — д. м. н., профессор, генеральный директор, Российско-японский медицинский центр «Саико», Хабаровск, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3176-2716

*Китаева Елена Юрьевна* — к. м. н., врач-клинический фармаколог, Иркутская городская клиническая больница № 1, Иркутск, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9498-4503

*Шпрах Владимир Викторович* — д. м. н., профессор, директор, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Россия. eLIBRARY SPIN-код: 5438-2670

*Сидукова Елена Эдуардовна* — заместитель главного врача по лечебной работе, Государственное бюджетное учреждение Республики Марий Эл «Козьмодемьянская межрайонная больница», Козьмодемьянск, Россия

*Сычев Иван Витальевич* — к. м. н., младший научный сотрудник отдела предиктивных и прогностических биомаркеров научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0227-2651

*Мирзаев Карин Бадавинович* — д. м. н., доцент, проректор по научной работе и инновациям, директор Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины; профессор кафедры клинической фармакологии и терапии им. Б. Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9307-4994

*Сычев Дмитрий Алексеевич* — д. м. н., профессор, академик РАН, ректор; заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии им. Б. Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3278-5941

*Alexander V. Kryukov* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7903-2977

*Ilyas I. Temirbulatov* — postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1242-0833

*Salavat S. Suleymanov* — D. Sc. in Medicine, Professor, General Director of Saiko Russian-Japanese Medical Center, Khabarovsk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3176-2716

*Elena Y. Kitaeva* — Ph. D. in Medicine, clinical pharmacologist, Irkutsk City Clinical Hospital No. 1, Irkutsk, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9498-4503

*Vladimir V. Shprakh* — D. Sc. in Medicine, Professor, Director of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education — branch of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; Irkutsk, Russia. SPIN-code: 5438-2670

*Elena E. Sidukova* — Deputy Chief Physician for Medical Work, Kozmodemyansk Interdistrict Hospital, Kozmodemyansk, Mari El Republic, Russia

*Ivan V. Sychev* — Ph. D. in Medicine, Junior Researcher of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0227-2651

*Karin B. Mirzaev* — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Vice-Rector for Research and Innovation, Director of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine; Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9307-4994

*Dmitry A. Sychev* — D. Sc. in Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Rector, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680



# Влияние цефепима/фтортиазинона в сравнении с цефепимом/плацебо на клиническое излечение и микробиологическую эрадикацию у пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей: проспективное рандомизированное клиническое исследование

\*В. Б. БЕЛОБОРОДОВ<sup>1,2</sup>, Н. А. ЗИГАНГИРОВА<sup>2</sup>, Н. Л. ЛУБЕНЕЦ<sup>2</sup>,  
В. Б. ШЕРЕМЕТ<sup>2</sup>, С. А. НЕЛЮБИНА<sup>2</sup>, Н. Е. БОНДАРЕВА<sup>2</sup>, С. И. ЛУЙКСААР<sup>2</sup>,  
Е. Ю. ЛЕВЧЕНКО<sup>2</sup>, С. В. ЛУЙКСААР<sup>2</sup>, Е. А. КОРОЛЕВА<sup>2</sup>,  
Е. Д. ФЕДИНА<sup>2</sup>, Д. Ю. ПУШКАРЬ<sup>3</sup>, А. Л. ГИНЦБУРГ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

## Резюме

Проведено многоцентровое проспективное рандомизированное исследование клинической и микробиологической эффективности цефепима в комбинации с фтортиазиноном или плацебо для расширения возможностей эмпирической терапии пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей. Первичной конечной точкой исследования в популяции МГТ было излечение и эрадикация возбудителя на 21-й день после окончания антибактериальной терапии: у получавших цефепим/фтортиазинон этот показатель составил 75,6%, у получавших цефепим/плацебо — 50,8%; 97,5% односторонний конфиденциальный интервал (14,7%) превосходил гипотезу равной эффективности (0%), что позволило принять альтернативную гипотезу превосходства цефепима/фтортиазинона над цефепимом/плацебо. Выявлено достоверное ( $p=0,012$ ) уменьшение количества рецидивов инфекции при последующем наблюдении (90 суток после начала лечения) после применения цефепима/фтортиазинона по сравнению с цефепимом/плацебо, 3/178 (1,7%; 95% CI: 0,3–4,8) и 14/175 (8,0%; 95% CI: 4,4–13,1), соответственно. Побочные явления были выявлены у 37 (20,6%; 13,4–25,3) пациентов получавших цефепим/фтортиазинона и у 27 (15,2%; 8,0–18,2) пациентов получавших цефепим/плацебо, их количество достоверно не различалось, они относились к не тяжёлым и не требовали отмены препаратов. Результаты исследования показали клинические и микробиологические преимущества применения цефепима/фтортиазинона по сравнению с цефепимом/плацебо при равном профиле безопасности, что позволяет расширить эффективность эмпирической терапии осложнённых инфекций мочевыводящих путей.

**Ключевые слова:** осложнённые инфекции мочевыводящих путей; цефепим; фтортиазинон

**Для цитирования:** Белобородов В. Б., Зигангирова Н. А., Лубенец Н. Л., Шеремет В. Б., Нелюбина С. А., Бондарева Н. Е., Луйксаар С. И., Левченко Е. Ю., Луйксаар С. В., Королева Е. А., Федина Е. Д., Пушкарь Д. Ю., Гинцбург А. Л. Влияние цефепима/фтортиазинона в сравнении с цефепимом/плацебо на клиническое излечение и микробиологическую эрадикацию пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей: проспективное рандомизированное клиническое исследование. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (9–10): 31–39. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-31-39>. EDN: AAHDQM.

## The Effect of Cefepime/Fluorothiazinone Compared with Cefepime/Placebo on Clinical Cure and Microbiological Eradication in Patients with Complicated Urinary Tract Infections: A Prospective Randomized Clinical Trial

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: belvb1070@mail.ru



EDN: AAHDQM

\*Correspondence to:  
E-mail: belvb1070@mail.ru





\*VLADIMIR B. BELOBORODOV<sup>1,2</sup>, NAILYA A. ZIGANGIROVA<sup>2</sup>, NADEZHDA L. LUBENEC<sup>2</sup>, ANNA B. SHEREMET<sup>2</sup>, STANISLAVA A. NELYUBINA<sup>2</sup>, NADEZHDA E. BONDAREVA<sup>2</sup>, SERGEY I. LUYKSAAR<sup>2</sup>, EVGENIYA U. LEVCHENKO<sup>2</sup>, SVETLANA V. LUYKSAAR<sup>2</sup>, EKATERINA A. KOROLEVA<sup>2</sup>, ELENA D. FEDINA<sup>2</sup>, DMITRY Y. PUSHKAR<sup>3</sup>, ALEXANDER L. GINTZBURG<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, *Moscow, Russia*

<sup>2</sup> National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, *Moscow, Russia*

<sup>3</sup> A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of the Russian Federation, *Moscow, Russia*

## Abstract

The multicenter prospective randomized trial of clinical and microbiological efficacy of cefepime in combination with fluorothiazinone or placebo was conducted to expand the possibilities of empirical therapy for patients with complicated urinary tract infections. The primary endpoint of the study in the MITT population was the clinical cure and pathogen eradication on the 21<sup>st</sup> day after the conclusion of antibacterial therapy: this indicator was 75.6% in cefepim/fluorothiazinone group and 50.8% in cefepim/placebo group; 97.5% one-sided confidential interval (14.7%) exceeded the hypothesis of equal efficacy (0%), allowing an alternative hypothesis of the superiority of cefepime/fluorothiazinone over cefepime/placebo to be accepted. There was a significant ( $P=0.012$ ) decrease in relapses occurrences of infection at follow-up (90 days after the start of treatment) after the use of cefepime/fluorothiazinone compared with cefepime/placebo, 3/178 (1.7%; 95% CI: 0.3–4.8) and 14/175 (8.0%; 95% CI: 4.4–13.1), respectively. Adverse events were detected in 37 (20.6%; 13.4–25.3) patients in group cefepim/fluorothiazinone and in 27 (15.2%; 8.0–18.2) patients in group cefepim/placebo; their number did not significantly differ, they were not severe and did not require drug discontinuation. The results of the study showed the clinical and microbiological advantages of cefepime/fluorothiazinone combination compared with cefepime/placebo with an equal safety profile, which makes it possible to expand the effectiveness of empirical therapy for complicated urinary tract infections.

**Keywords:** complicated urinary tract infections; cefepime; fluorothiazinone

**For citation:** Beloborodov V.B., Zigangirova N.A., Lubenec N.L., Sheremet A.B., Nelyubina S.A., Bondareva N.E., Luyksaar S.I., Levchenko E.U., Luyksaar S.V., Koroleva E.A., Fedina E.D., Pushkar D.Y., Gintzburg A.L. The effect of cefepime/fluorothiazinone compared with cefepime/placebo on clinical cure and microbiological eradication in patients with complicated urinary tract infections: a prospective randomized clinical trial. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 31–39. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-31-39>. EDN: AAHDQM.

## Введение

Осложнённые инфекции мочевыводящих путей (оИМП) возникают на фоне органических и функциональных изменений мочевого пузыря, нейрогенной патологии или тяжёлых сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, нейтропения, иммуносупрессия), после применения инструментальных методов обследования и лечения [1]. Осложнённые ИМП представляют собой широкий спектр патологических состояний и включают неоднородную популяцию пациентов, требующих применения общих принципов ведения. Новые подходы в лечении этих инфекций связаны с высокой вероятностью выделения уропатогенов с множественной лекарственной устойчивостью и необходимости выбора антибактериальных препаратов способных преодолеть известные механизмы резистентности госпитальной флоры [2–4].

Цефепим — цефалоспорин четвёртого поколения обладает широким спектром действия в отношении грамотрицательных патогенов и используется для лечения оИМП, инфекций органов брюшной полости и пневмонии. Резистентность бактериальной флоры к цефепиму связана с ростом распространения продукции  $\beta$ -лактамаз рас-

ширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз [5, 6]. Фтортиазинон — антимикробный препарат, обладающий оригинальным механизмом действия, направленным на подавление ключевых факторов вирулентности бактерий — белков III типа и флагеллинов. *In vitro* и *in vivo* показана способность подавлять инвазию, движение и образование биоплёнок основными уропатогенами [7]. В комбинации с известными антибиотиками может создавать кумулятивный эффект подавления микробной флоры, повышать микробиологическую и клиническую эффективность [8]. Для регистрации исследуемого лекарственного препарата при осложнённых ИМП требуются доказательства его преимущества в рамках полноценного проспективного клинического исследования по данному показанию. По результатам проведённого клинического исследования Фтортиазинон зарегистрирован для лечения осложнённых ИМП в комбинации с цефепимом (ПУ ЛП-№(005077)-(РГ-РУ) от 03.04.2024).

## Материал и методы

Клиническое исследование проведено в соответствии с протоколом, одобренным локальными и федеральным этическим комитетом, принципами Хельсинкской Декларации

Всемирной Медицинской Ассоциации, стандартами по Надлежащей Клинической Практике (ICH E6 GCP), а также действующим законодательством Российской Федерации (РФ) и Евразийского экономического союза (ЕАЭС). До начала исследования было получено разрешение Минздрава России на проведение клинического исследования № 389 от 03 августа 2018 г. Дизайн исследования: проспективное многоцентровое рандомизированное слепое плацебо-контролируемое. Целью исследования была оценка безопасности и эффективности препарата Фтортиазинон, таблетки 300 мг (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России) или плацебо, в комбинации с препаратом «Цефепим» при лечении пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей, вызванными *Pseudomonas aeruginosa* и другими уропатогенами (идентификатор на портале ClinicalTrials.gov: NCT03638830). До начала исследования во всех 14 исследовательских центрах каждым участником подписывалась форма информированного согласия, утверждённая для центра соответствующим компетентным институциональным наблюдательным советом или независимыми комитетами по этике.

Дизайн исследования предполагал выявление преимуществ фтортиазинона по сравнению с плацебо в комбинации со стандартной антибактериальной терапией (цефепим). На основании ретроспективных данных о терапевтическом эффекте антибиотиков была использована оценка превосходства в 0%. Среднее значение клинической эффективности, полученное в результате метаанализа, составила 75,03% (доверительный интервал (ДИ) 65,64–90,28%). Поэтому эффективность комбинации в контрольной группе может быть оценена по нижнему пределу ДИ (65,64%). Учитывая отсутствие данных литературы об эффективности комбинации препаратов основной группы, её можно оценить как превосходящую на 12%, например, равную 82%. Был использован двусторонний ANOVA-тест, ошибка I типа ( $\alpha$ ) составила 0,05, ошибка II типа ( $\beta$ ) — 0,2. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) считает, что различия в 10% приемлемы при оценке новой антибактериальной лекарственной терапии в сравнении с признанным антибактериальным препаратом для лечения осложнённых ИМП с первичным исходом в виде микробиологического успеха и клинического разрешения исходных признаков и симптомов через 5 или более дней после окончания лечения [Food and Drug Administration. Complicated urinary tract infections: developing drugs for treatment. Guidance document. June 2018 (<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/complicated-urinary-tract-infections-developing-drugs-treatment>)].

Расчёт объёма предполагаемой выборки рассчитывали по стандартной процедуре: с учётом ошибок при скрининге, распространённости инфекций, вероятности исключения из исследования, достаточным количеством пациентов для рандомизации оказалось — не менее 351 [9].

Критериями отбора были: пациенты в возрасте 18 лет и старше с осложнённой ИМП, определяемой как наличие, по крайней мере, 2 из следующих новых или нарастающих симптомов: (1) дизурия, учащённое мочеиспускание или позывы к мочеиспусканию; (2) лихорадка ( $\geq 38^\circ\text{C}$ , наблюдаемая врачом в течение 24 ч после скрининга); (3) боль внизу живота или в области таза; (4) болезненность надлобковой области при физикальном осмотре; или (5) тошнота или рвота в течение 24 ч или менее до скрининга. Участники также должны были иметь, по крайней мере, 1 из следующих симптомов: (1) пациенты мужского пола с задержкой мочи; (2) прерывистая катетеризация мочевого пузыря или наличие постоянного катетера мочевого пузыря; (3) обструктивная уропатия с необходимостью медикаментозного или хирургического лечения во время и до окончания применения исследуемого лечения; (4) нарушение мочеиспускания, приводящее к остаточному объёму мочи не менее 100 мл; или (5) азотемия, вызванная различными уропатогенами ( $\geq 10^5$  колониеобра-

зующих единиц [КОЕ]/мл в моче), которые требовали госпитализации и лечения парентеральным антибиотиком не менее 7 дней и ассоциировались с пиурией (количество лейкоцитов  $>10$ /мкл в нецентрифугированной моче или  $\geq 10$  клеток/большом поле в осадке мочи, или положительным результатом исследования на наличие лейкоцитарной эстеразы в моче с помощью тест-полоски).

Рандомизация пациентов проводилась без разбивки по клиническим центрам, в день введения исследуемого препарата или плацебо. Схема рандомизации была подготовлена до начала исследования с использованием валидированного программного обеспечения. Включение пациентов в исследование и назначение лечения в соответствии со схемой рандомизации осуществлялось врачом-исследователем.

Плацебо не отличалось по внешнему виду, форме, цвету и полностью имитировало фтортиазинон, препараты принимались по одной и той же схеме. Исследуемый препарат был приготовлен не ослеплённым фармацевтом, введён и принят внутрь под контролем персонала, не знавшим о распределении участников по группам.

Пациенты получали 2-часовую инфузию цефепима в дозе 2 г через 12 ч в комбинации с фтортиазиноном 300 мг по 2 таблетки через 12 ч или такую же дозу цефепима и по 2 таблетки плацебо через 12 ч. Согласно протоколу, допускалось продолжение лечения до 14 дней у пациентов, требующих по мнению исследователя терапии антибиотиками  $>7$  дней.

Признаки и симптомы инфекции отслеживались с помощью ежедневного опросника. Клинические исходы оценивали в конце лечения, на 21-й день после окончания лечения, через 60 и 90 дней после прекращения лечения. Образцы мочи были получены во время скрининга, перед введением исследуемого препарата (исходный уровень), во время последующих оценочных визитов. Образцы мочи собирали из средней порции мочи или из вновь введённого катетера Фолея (образцы из мочевого пузыря, надлобкового катетера, нефростомической трубки или аспирации из мочеточника. Выделение из образцов мочи бактерий в концентрации  $\geq 10^5$  КОЕ/мл рассматривалось как выявление достоверных исходных патогенов и направлялись в центральную лабораторию для подтверждения идентификации, тестирования на чувствительность и генотипирования. При выделении из мочи 3 и более вероятных патогенов — моча считалась контаминированной.

## Результаты

В первичный анализ были включены все пациенты, получившие не менее 1 дозы исследуемого препарата и имевшие исходный возбудитель в моче в количестве  $10^5$  КОЕ/мл или более (популяция MITT). Также были проанализированы все данные пациентов, соответствующих критериям включения вне зависимости от результатов определения чувствительности, вне зависимости от уровня минимальной ингибирующей концентрации, в том числе с возбудителями резистентными к цефепиму (минимальная ингибирующая концентрация  $\geq 16$  мкг/мл).

Включение пациентов в исследование проводилось с августа 2021 г. по январь 2023 г., всего рандомизировано 357 пациентов, получивших лечение (рисунок). Средняя продолжительность лечения составил 7 дней, летальных исходов не наблюдалось. Основные демографические и клинические характеристики включённых в исследование пациентов представлены в табл. 1.

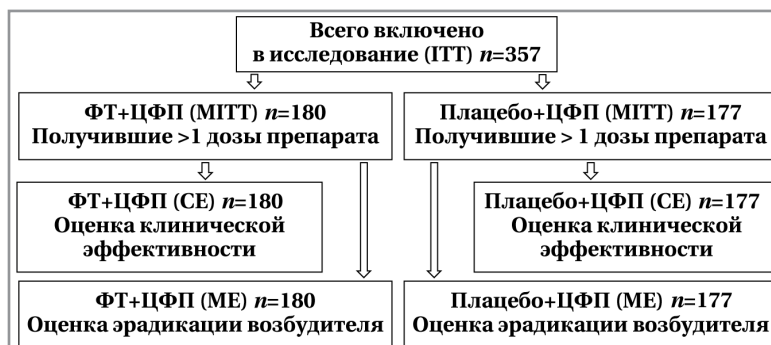
**Таблица 1. Основные демографические, клинические и микробиологические показатели пациентов на момент включения в исследование**

**Table 1. Basic demographic, clinical, and microbiological parameters of patients at the time of inclusion in the study**

| Показатель                                                            | Фтортиазинон/Цефепим<br>(n=180) | Плацебо/Цефепим<br>(n=177) |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Возраст, среднее значение, лет                                        | 55,6±18,6 (18,0–89,0)           | 58,6±16,8 (20,0–86,0)      |
| <b>Возрастная категория, лет</b>                                      |                                 |                            |
| <65                                                                   | 93 (51,5)                       | 94 (52,8)                  |
| 65 до <75                                                             | 58 (32,4)                       | 54 (30,6)                  |
| ≥75                                                                   | 29 (16,1)                       | 29 (16,6)                  |
| <b>Пол</b>                                                            |                                 |                            |
| Мужчины                                                               | 234 (45,3)                      | 232 (44,8)                 |
| Женщины                                                               | 282 (54,7)                      | 286 (55,2)                 |
| Средняя масса, кг                                                     | 76,0±15,0 (47,2–130,5)          | 76,7±13,4 (45,3–130,0)     |
| Средний рост, см                                                      | 169,0±9,9 (142,0–193,4)         | 168,2±10,2 (144,0–196,1)   |
| Средний индекс массы тела                                             | 26,7±5,4 (16,6–45,2)            | 27,9±5,5 (17,4–45,3)       |
| Средний показатель клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> | 72,62 (22,0)                    | 72,43 (23,8)               |
| <b>Предшествующая антибактериальная терапия</b>                       |                                 |                            |
| До 24 ч                                                               | 12 (6,7)                        | 9 (5,3)                    |
| Не применяли                                                          | 168 (93,3)                      | 168 (94,7)                 |
| <b>Индекс коморбидности Charlson перед исследованием</b>              |                                 |                            |
| <3                                                                    | 113 (62,5)                      | 109 (61,3)                 |
| ≥3                                                                    | 68 (37,5)                       | 68 (38,7)                  |
| Наличие бактериемии при включении в исследование                      | 0                               | 1 (0,6)                    |
| Сахарный диабет                                                       | 23 (12,6)                       | 25 (14,1)                  |
| Основной возбудитель:                                                 | 74 (41,2)                       | 72 (40,6)                  |
| Enterobacterales — продуцент β-лактамаз расширенного спектра          |                                 |                            |

У всех 357 пациентов была диагностирована осложнённая инфекция мочевыводящих путей. Инфекция, вызванная Enterobacterales, выявлена у 61,6% (220 из 357) пациентов. Наиболее распространёнными грамотрицательными возбудителями при включении в исследование были *Escherichia coli* (28,9%; 103/357), *Klebsiella pneumoniae* (12,6%; 45/357), *Proteus mirabilis* (5,6%; 11/357) и *Pseudomonas aeruginosa* (2,0%; 7/357). Наиболее распространёнными грамположительными возбудителями были *Enterococcus* spp. (12,3%; 44/357) и *Staphylococcus* spp. (7,0%; 25/357).

**Оценка достижения основной цели исследования — первичной конечной точки.** Первичная конечная точка исследования состояла в полном устранении исходных признаков и симптомов, присутствующих при скрининге (клиническое излечение) и снижении количества исходных патогенов до уровня менее 10<sup>3</sup> КОЕ/мл в моче (микробиологическая эрадикация) на 21-е сут наблюдения (табл. 2). Первичная конечная точка была достигнута у 136/180 (75,6% [95% CI: 68,6–81,6]) пациентов в группе получивших фтортиазинон/цефепим и у 90/177 (50,8%; [95% CI: 43,0–58,1]) пациентов получивших плацебо/цефепим (разница — 24,8%). Нижняя граница одностороннего 97,5% доверительного интервала для разности значений 75,6 и 50,8 составила 14,7%, что по условиям статистической



**Распределение пациентов по группам.**

**Примечание.** ФТ — фтортиазинон; ЦФП — цефепим.

**Distribution of patients into groups**

**Note.** ФТ — fluorothiazinone; ЦФП — cefepime.

обработки превышало величину клинически значимых различий и позволило принять альтернативную гипотезу (H1): фтортиазинон/цефепим обладает превосходством в сравнении с плацебо/цефепимом в лечении пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей.

Клиническая эффективность у пациентов с выделенным возбудителем (m-MITT) в группе комбинированной терапии с фтортиазиноном оказалась достоверно выше на 21,5%, чем в группе пациентов с плацебо. Эрадикация микробов также была выше на 13,2% в указанных группах, соответственно.

**Вторичные исходы лечения (анализ подгрупп).** Доля пациентов с ответом в виде клиниче-

**Таблица 2. Первичный результат клинического исследования, результаты клинического излечения и микробиологическая эрадикация**

**Table 2. Primary clinical outcome, clinical cure rates, and microbiological eradication**

| Результат                                                                | Цефепим/Фтортиазинон<br>n (%)        | Цефепим/Плацебо<br>n (%)             | Различия<br>результатов,<br>% (95% CI) |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>Основные результаты: день 21 после последней дозы антибиотика</b>     |                                      |                                      |                                        |
| Клиническая эффективность у всех исследованных пациентов (MITT)          | 136/180<br>(75,6; 95% CI: 68,6–81,6) | 90/177<br>(50,8; 95% CI: 43,0–58,1)  | 24,7; 97,5%<br>CI: — 14,7 <sup>1</sup> |
| Клиническая эффективность у пациентов с выделенным уропатогеном (m-MITT) | 135/176<br>(76,7; 95% CI: 69,7–82,7) | 90/163<br>(55,2; 95% CI: 47,2–63,0)  | $p=0,0001^2$                           |
| Клиническое излечение (MITT)                                             | 159/180<br>(89,2; 95% CI: 83,7–93,4) | 110/163<br>(67,5; 95% CI: 59,7–74,6) | $p=0,0001^2$                           |
| Клиническое излечение (CE)                                               | 159/180<br>(88,3; 95% CI: 82,7–92,6) | 123/177<br>(69,5; 95% CI: 62,1–76,2) | $p=0,0001^2$                           |
| Клиническое излечение (ME)                                               | 153/172<br>(89,0; 95% CI: 83,3–93,2) | 109/162<br>(67,3; 95% CI: 59,5–74,4) | $p=0,0001^2$                           |
| Микробиологическая эрадикация (MITT)                                     | 150/180<br>(83,3; 95% CI: 77,1–88,5) | 124/177<br>(70,1; 95% CI: 62,3–76,3) | $p=0,003$                              |
| <b>Последующее наблюдение после последней дозы антибиотика</b>           |                                      |                                      |                                        |
| Рецидив (CE): 60 дней                                                    | 2/179<br>(1,1%; CI: 0,1–4,0)         | 29/175<br>(16,0%; CI: 10,9–22,3)     | $<0,0001$                              |
| Рецидив (CE): 90 дней                                                    | 5/179<br>(2,8%; CI: 0,9–6,4)         | 8 (42)/175<br>(21,7%; CI: 15,8–28,6) | $<0,0001$                              |

**Примечание.** <sup>1</sup> — двусторонний ANOVA-тест; MITT — все пациенты, получивших хотя бы одну дозу исследуемых препаратов; m-MITT — все пациенты, получивших хотя бы одну дозу исследуемых препаратов с выделенным из мочи возбудителем; CE — все пациенты с клинической оценкой исхода; ME — все пациенты с подтвержденной микробной эрадикацией.

**Note.** <sup>1</sup> — two-way ANOVA test; MITT — all patients who received at least one dose of study drugs; m-MITT — all patients who received at least one dose of study drugs with the pathogen isolated from urine; CE — all patients with clinical outcome assessment; ME — all patients with confirmed microbial eradication.

ского излечения на 21-е сутки после прекращения применения препаратов, предусмотренных Протоколом исследования (популяция MITT) оказалась достоверно выше на 21,2% у пациентов, получивших цефепим/фтортиазинон (135/176 (76,7%; [95% CI: 69,7–82,7])) по сравнению с получившими цефепим/плацебо (90/163 (55,2%; [95% CI: 47,2–63,0])) ( $p<0,0001$ ). В этой же популяции пациентов была изучена эрадикация всех выделенных патогенов сразу после окончания лечения и на 21-е сутки последующего наблюдения. На момент окончания лечения антибиотиками эрадикация патогенов была достоверно выше на 10,4% у пациентов, получивших цефепим/фтортиазинон (159/180 (87,8%; [95% CI: 82,1–92,2])) по сравнению с получившими цефепим/плацебо (137/177 (77,4%; [95% CI: 70,1–82,9])) ( $p=0,011$ ). На 21-е сутки после окончания лечения тенденция сохранялась: различие составило 13,2% у пациентов получивших цефепим/фтортиазинон (150/180 (83,3%; [95% CI: 77,1–88,5])) по сравнению с получившими цефепим/плацебо (124/177 (70,1%; [95% CI: 62,3–76,3])) ( $p=0,003$ ).

Результаты сравнения долей пациентов с общим ответом в виде излечения на 21-е сутки в группе пациентов с бактериологически подтвержденной инфекцией (популяция m-MITT) указывают на существенное преимущество (21,1%) цефепима/фтортиазинона (135/176 (76,7% [CI:

69,7–82,7%]) по сравнению с цефепимом/ плацебо (90/163 (55,2% [CI: 47,2–63,0])) ( $p<0,0001$ ). В этой же популяции пациентов была изучена эрадикация всех выделенных патогенов сразу после окончания лечения и на 21-е сутки последующего наблюдения, достоверных различий между группами обнаружено не было, что указывает на то, что результат, полученный сразу после прекращения лечения исследуемыми препаратами, оставался таковым до 21 сут наблюдения.

Доля пациентов с общим ответом в виде излечения в популяции, подходящей для клинической оценки (популяция CE), на тот же период наблюдения также оказалась достоверно выше на 19,7% у получивших цефепим/фтортиазинон (157/176 (89,2% [CI: 83,7–93,4%])) по сравнению с цефепимом/ плацебо (123/177 (69,5% [CI: 62,1–76,2])) ( $p<0,0001$ ).

Доля пациентов с эрадикацией возбудителя (популяция ME) через 21-е сутки после окончания лечения также оказалась достоверно больше на 21,7% у получивших цефепим/фтортиазинон (153/172 (89,0% [CI: 83,3–93,2%])) по сравнению с цефепимом/плацебо (109/162 (67,3% [CI: 59,5–74,4])) ( $p<0,0001$ ). Причём, у пациентов, получивших цефепим/фтортиазинон, эффективность эрадикации на момент окончания лечения и на 21-е сутки последующего наблюдения не изменилась.



В процессе последующего наблюдения на 60-е сутки после окончания лечения выявлено достоверно меньшее количество рецидивов инфекции на 14,9% в популяции пациентов подходящих для клинической оценки (популяция СЕ) получивших цефепим/фтортиазинон (1/179 (1,1% [CI: 0,1–4,0%]) по сравнению с цефепимом/плацебо (28/175 (16,0% [CI: 10,9–22,3] ( $p < 0,0001$ )). Этот же показатель на 90-е сутки наблюдения также оставался достоверно ниже на 18,9% у пациентов, получивших цефепим/фтортиазинон (5/179 (2,8% [CI: 0,9–6,4%]) по сравнению с цефепимом/плацебо (38/175 (21,7% [CI: 15,8–28,6] ( $p < 0,0001$ )). Необходимо отметить, что на 21-е сутки после окончания лечения в популяции МЕ на визите последующего наблюдения достоверных различий по количеству рецидивов не было обнаружено.

При сравнении частоты выхода пациентов из исследования в связи с недостаточной эффективностью терапии ИП/ПС достоверных различий между группами выявлено не было, в обеих группах по данной причине выбыло по 1 пациенту.

**Нежелательные явления (НЯ).** Всего в ходе исследования было зарегистрировано 63 НЯ, по степени тяжести 62 из 63 (98,4%) отнесены к лёгкой степени тяжести, 1 случай (1,6%) — среднетяжёлой. В 15 из 63 случаев (23,8%) причинно-следственная связь с препаратом оценена как «не подлежащая классификации», в 22 случае (34,9%) — «возможная», в 1 случае (1,6%) — «вероятная», в 4 случаях (6,3%) — «условная» и в 21 случае (33,3%) — «сомнительная». В 52 из 63 случаев (82,5%) никакой медикаментозной коррекции не потребовалось, в 11 случаях (17,5%) — проводилась медикаментозная терапия.

У пациентов получивших, по крайней мере, 1 дозу исследуемого препарата, у 37 из 180 пациентов (20,6%) в группе цефепима/фтортиазинона и у 26 из 177 пациентов (14,7%) в группе цефепима/плацебо наблюдались нежелательные явления, связанные с лечением, тяжёлых нежелательных явлений выявлено не было. Наиболее частыми нежелательными явлениями, возникающими при лечении, были: нарушения сна (3,3 против 2,8%), повышение показателей функционального состояния печени: аланинаминотрансферазы (6,4 против 6,6%) и билирубина крови (2,8 против 2,9%).

## Обсуждение

Основным механизмом резистентности грамотрицательных бактерий является продукция  $\beta$ -лактамаз. Продукция  $\beta$ -лактамаз возбудителями осложнённых ИМП приводит к ограничению терапевтических возможностей, росту экономических затрат и увеличению летальности. Одной из стратегий преодоления резистентности,

связанной с продукцией  $\beta$ -лактамаз является применение подходящих ингибиторов, которые ковалентно связывают активный центр фермента, предотвращая гидролиз бета-лактамного антибиотика. Клавулановая кислота, тазобактам и сульбактам относятся к первому поколению ингибиторов  $\beta$ -лактамаз и способны подавлять активность определённых сериновых  $\beta$ -лактамаз класса А, однако оказываются неэффективными в отношении  $\beta$ -лактамаз класса С (цефалоспорииназы, сериновые карбапенемазы) и металло- $\beta$ -лактамаз класса В. Эта быстрая эволюция резистентности была связана со сходством химической структуры  $\beta$ -лактамов и ингибиторов. Последующее поколение не- $\beta$ -лактамных ингибиторов  $\beta$ -лактамаз (авибактам, релебактам) оказалось активным в отношении новых целей —  $\beta$ -лактамаз КРС-типа и ОХА-типа [10]. Ещё одним представителем этой группы ингибиторов является ваборбактам, обладающий активностью только в отношении  $\beta$ -лактамаз КРС-типа [11]. Однако ни один из указанных препаратов не активен в отношении металло- $\beta$ -лактамаз, что послужило причиной разработки новых ингибиторов  $\beta$ -лактамаз, активных против всех 4 классов  $\beta$ -лактамаз [12, 13].

Изучению эффективности лечения осложнённых ИМП уделяется повышенное внимание, причём большинство исследований посвящено изучению новых комбинаций бета-лактамов/ингибиторов  $\beta$ -лактамаз [13–15]. Первоначально стандартным препаратом сравнения для новых комбинаций был пиперациллин/тазобактам, иногда применялись карбапенемы или препараты других групп (фосфомицин) [14, 16, 17]. Сравнение пиперациллина/тазобактама с последующими более новыми комбинациями препаратов с не- $\beta$ -лактамными ингибиторами  $\beta$ -лактамаз для защиты от гидролиза основного препарата целесообразно, так как пиперациллин/тазобактам входит в клинические рекомендации в качестве одного из основных препаратов для лечения осложнённых ИМП [18]. С другой стороны, спектр подавления  $\beta$ -лактамаз не- $\beta$ -лактамными ингибиторами существенно шире, чем ингибиторами 1 поколения. Поэтому теоретически, при прочих равных условиях, они должны всегда обеспечивать более высокий уровень активности и эффективности основных препаратов, по крайней мере в отношении продуцентов ESBL [19]. При этом уже заложен фундамент для преодоления резистентности, связанной с продукцией карбапенемаз, ингибиторами  $\beta$ -лактамаз, созданными специально для этой цели, но также обладающих высокой активностью в отношении ESBL [14, 15, 17, 20].

При комбинированной оценке клинической и микробиологической эффективности лечения осложнённых ИМП комбинацией цефалоспори-

нов III–IV генерации/ингибиторов карбапенемаз или карбапенемов различия составили 12,6 и 6,7% [15, 17], а при сравнении с пиперациллином/тазобактамом — 21,2% [14]. При этом показатели эрадикации патогенов (5,9 и 6,4%) различными комбинациями препаратов несущественно различались в исследованиях, опубликованных в 2018 г. и ранее [17, 20], но значительно отличались по сравнению с исследованиями, опубликованными в 2022 г. и позднее (19 и 20%) [14, 15]. Эти данные могут свидетельствовать о нарастающем вкладе в резистентность возбудителей–продуцентов карбапенемаз и снижении активности препаратов сравнения.

Наше исследование комбинации цефалоспорины IV генерации цефепима с фтортиазином или плацебо у пациентов с осложнёнными ИМП закончилось в 2023 г., поэтому сравнение эффективности и эрадикации возбудителей будет более корректным с подобными исследованиями, опубликованными в последние 3 года. Фтортиазин, точно также как и ингибиторы  $\beta$ -лактамаз не имеет собственной антимикробной активности и отличается тем, что не способен связываться с  $\beta$ -лактамазами, при этом резистентность возбудителей к антибиотикам никак не влияет на его противомикробное действие. Биологическая активность фтортиазиона связана с блокированием ряда механизмов бактерий, что приводит к подавлению движения, формирования биоплёнок, тканевой и внутриклеточной инвазии.

По результатам комбинированной оценки клиническая и микробиологическая эффективность цефепима/фтортиазиона (75,6%) по сравнению цефепимом/плацебо (50,8%) различались на 24,8%, что соответствует или превосходит результаты других исследований (21,2%). Пациенты, получившие цефепим/фтортиазин (89,0%) достоверно отличались от получивших цефепим/плацебо (67,3%) на 21,7% и соответствовало данным, полученным другими авторами в

те же годы исследования — 19 и 20% [14, 15]. Важной особенностью настоящего исследования было продолжительное (90 дней) клиническое наблюдение за пациентами с целью выявления возникновения рецидивов инфекции. У пациентов, получивших цефепим/фтортиазин рецидивы инфекции к концу последующего наблюдения возникли в 2,8% по сравнению с 21,7% у получивших цефепим/плацебо.

Результаты проведённого исследования доказали возможность и эффективность применения нового противомикробного препарата фтортиазиона в комбинации с традиционными. Важнейшей особенностью фтортиазиона является отсутствие влияния на его активность известных механизмов резистентности к антимикробным препаратам и отсутствие селективного давления на флору — основного фактора способствующего росту резистентности.

### Ограничения исследования

Основным ограничением данного исследования является отсутствие рутинных методов определения чувствительности выделенной флоры к фтортиазиону, которые обычно применяются для оценки активности возбудителей оИМП. Это обстоятельство на первом этапе клинического внедрения препарата потребует дополнительных исследований безопасности эффективности фтортиазиона в виде монотерапии у пациентов с неосложнёнными уроинфекциями.

### Основной вывод исследования

У пациентов с осложнённой ИМП комбинация цефепим/фтортиазин, по сравнению с цефепимом/плацебо в рандомизированном исследовании, показала превосходство в отношении первичного исхода клинического излечения, микробиологической эрадикации и снижения количества рецидивов инфекции в течение продолжительного периода последующего наблюдения.

## Литература/References

- EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Paris 2024. ISBN 978-94-92671-23-3. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands. <http://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/>
- Bader M. S., Loeb M., Brooks A. A. An update on the of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med.* 2017 Mar; 129 (2): 242–258. doi: 10.1080/00325481.2017.1246055.
- Zhou Y., Zhou, Z., Zheng L., Gong, Z., Li, Y., Jin Y., Huang Y., Chi M. Urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli*: mechanisms of infection and treatment options. *Int J Mol Sci.* 2023, 24, 10537. doi: org/10.3390/ijms241310537.
- Wagenlehner F. M., Gasink L. B., McGovern P. C., Moeck G., McLeroth P., Dorr M., Dane A., Henkel T., CERTAIN-1 study team. *N Engl J Med* 2024; 390: 611–22. doi: 10.1056/NEJMoa2304748.
- Isler B., Harris P., Stewart A. G., Paterson D. L. An update on cefepime and its future role in combination with novel  $\beta$ -lactamase inhibitors for MDR *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2021 Feb 11; 76 (3): 550–560. doi: 10.1093/jac/dkaa511.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022–2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2022.
- Koroleva E. A., Soloveva A. V., Morgunova E. Y. et al. Fluorothiazinon inhibits the virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* involved in the development of urinary tract infection. *J Antibiot (Tokyo).* 2023 May; 76 (5): 279–290. doi: 10.1038/s41429-023-00602-5.
- Tsarenko S. V., Zigangirova N. A., Soloveva A. V., Bondareva N. E., Koroleva E. A., Sheremet A. B., Kapotina L. N., Shevlyagina N. V., Andreevskaya S. G., Zhukhovitsky V. G., Filimonova E. V., Gintsburg A. L. A novel antiviral compound fluorothiazinone inhibits *Klebsiella pneumoniae* biofilm *in vitro* and suppresses model pneumonia. *J Antibiot (Tokyo).* 2023; 76 (7): 397–405. doi: 10.1038/s41429-023-00621-2.
- Chow S., Shao J., Wang H., Lokhnygina Y. Sample size calculations in clinical research. Third Edition. 2018 by Taylor & Francis Group, LLC. International Standard Book Number-13: 978-1-138-74098-3.
- Papp-Wallace K. M., Bonomo R. A. New  $\beta$ -lactamase inhibitors in the clinic. *Infect Dis Clin North Am.* 2016; 30 (2): 441–464. doi: 10.1016/j.idc.2016.02.007.
- Hecker S. J., Reddy K. R., Totrov M. et al. Discovery of a cyclic boronic acid  $\beta$ -lactamase inhibitor (RPX7009) with utility vs class A serine carbapenemases. *J Med Chem.* 2015; 58, 3682–3692. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00127.
- Burns C. J., Liu B., Chu G. et al. Discovery of VNRX-5133: A broad-spectrum serine- and metallo- $\beta$ -lactamase Inhibitor (BLI) for carbapene-

nem-resistant bacterial infections («superbugs»). Proceedings of the 255<sup>th</sup> National Meeting of the American Chemical Society, New Orleans, LA, 2018; American Chemical Society: Washington, DC, 2018; Abstract MEDI-309.

13. *Kaye K. S., Belley A., Barth P., Lahlou O., Knechtle P., Motta P., Velicitat P.* Effect of cefepime/enmetazobactam vs piperacillin/tazobactam on clinical cure and microbiological eradication in patients with complicated urinary tract infection or acute pyelonephritis. *JAMA*. 2022 Oct 4; 328 (13): 1304–1314. doi: 10.1001/jama.2022.17034
14. *Saeed M. W., Gillani S. W., Mahmood R. K., Vipadapu P., Hussain M. W., Rathore H. A.* A meta-analysis on clinical outcomes of ceftolozane versus piperacillin in combination with tazobactam in patients with complicated urinary tract infections. *Hindawi BioMed Research International Volume* 2022, Article ID 1639114, 13. doi.org/10.1155/2022/1639114.
15. *Florian M., Wagenlehner M. D., Leanne B. Gasink, M. D., Paul C. McGovern et al.* Cefepime–taniboractam in complicated urinary tract infection. *N Engl J Med*. 2024; 390 (7): 611–622. doi: 10.1056/NEJMoa2304748.
16. *Kaye K. S., Rice L. B., Dane A. L., Stus V., Sagan O., Fedosiuk E., Das A. F., Skarinsky D., Eckburg P. B., Ellis-Grosse E. J.* Fosfomycin for injection (ZTI-01) versus piperacillin-tazobactam for the treatment of complicated urinary tract infection including acute pyelonephritis: ZEUS, a phase 2/3 randomized trial. *Clin Infect Dis*. 2019 Nov 27; 69 (12): 2045–2056. doi: 10.1093/cid/ciz181.
17. *Wagenlehner F. M., Sobel J. D., Newell P., Armstrong J., Huang X., Stone G. G., Yates K., Gasink L. B.* Ceftazidime-avibactam versus doripenem for the treatment of complicated urinary tract infections, including acute pyelonephritis: RECAPTURE, a phase 3 randomized trial program. *Clin Infect Dis*. 2016 Sep 15; 63 (6): 754–762. doi: 10.1093/cid/ciw378.
18. *Tamma P. D., Aitken S. L., Bonomo R. A., Mathers A. J., van Duin D., Clancy C. J.* IDSA guidance on the treatment of antimicrobial-resistant gram-negative infections: version 1.0. March 7, 2022. Accessed April 19, 2022. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/amr-guidance/#>
19. *Husna A., Rahman M. M., Badruzzaman A. T.M., Sikder M. H., Islam M. R., Rahman M. T., Alam J., Ashour H. M.* Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL): challenges and opportunities. *Biomedicines*. 2023 Oct 30; 11 (11): 2937. doi: 10.3390/biomedicines11112937.
20. *Kaye K. S., Bhowmick T., Metallidis S., et al.* Effect of meropenem-vaborbactam vs piperacillin-tazobactam on clinical cure or improvement and microbial eradication in complicated urinary tract infection: the TANGO I randomized. *Clinical Trial*. *JAMA*. 2018; 319 (8): 788–799. doi: 10.1001/jama.2018.0438.

Поступила / Received 17.06.2024

Принята в печать / Accepted 10.07.2024

## Информация об авторах

*Белобородов Владимир Борисович* — д. м. н., профессор, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Зигангирова Наиля Ахатовна* — д. б. н., профессор, заведующая отделом клинической микробиологии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Лубенец Надежда Леонидовна* — начальник отдела внедрения инновационных лекарственных средств и медицинских изделий в производство ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Шеремет Анна Борисовна* — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории хламидиозов ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Нелюбина Станислава Андреевна* — младший научный сотрудник лаборатории хламидиоза ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Бондарева Надежда Евгеньевна* — к. м. н., научный сотрудник лаборатории хламидиозов, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Луйксаар Сергей Игоревич* — к. х. н., заведующий лабораторией органического синтеза биологически активных молекул, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Левченко Евгения Юрьевна* — научный сотрудник лаборатории хламидиозов, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Луйксаар Светлана Владимировна* — ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микро-

## About the authors

*Vladimir B. Beloborodov* — D. Sc. in Medicine, Professor, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Nailya A. Zigangirova* — D. Sc. in Biology, Professor, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia.

*Nadezhda L. Lubenec* — Head of the Department for the Implementation of Innovative Medicines and Medical Devices in Production, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Anna B. Sheremet* — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Chlamydia Laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Stanislava A. Nelyubina* — Junior Researcher at the Chlamydia Laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Nadezhda E. Bondareva* — Ph. D. in Medicine, Research Fellow at the Chlamydia Laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Sergey I. Luyksaar* — Ph. D. in Chemistry, Head of the Laboratory of Organic Synthesis of Biologically Active Molecules, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Evgeniya Yu. Levchenko* — Research Fellow at the Chlamydia Laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Svetlana V. Luyksaar* — National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician

биологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Королева Екатерина Андреевна* — к. б. н., младший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Федина Елена Дмитриевна* — к. м. н., лаборатория хламидиозов, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

*Пушкар Дмитрий Юрьевич* — д. м. н., профессор, Академик РАН, руководитель Московского урологического центра, заведующий кафедрой урологии ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Россия

*Гинцбург Александр Леонидович* — д. б. н., профессор, Академик РАН, директор ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Ekaterina A. Koroleva* — Ph. D. in Biology, Junior Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Elena D. Fedina* — Ph. D. in Medicine, Chlamydia Laboratory, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Dmitry Yu. Pushkar* — D. Sc. in Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Moscow Urological Center, Head of the Urology Department, A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

*Alexander L. Gintsburg* — D. Sc. in Biology, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia



# Коморбидный туберкулёз в условиях формирования локальной эпидемической ситуации

В. М. КОЛОМИЕЦ<sup>1</sup>, Н. А. ПОЛЬШИКОВА<sup>1</sup>, А. Ю. ПЕТРОВ<sup>2</sup>,  
А. Л. КОВАЛЕНКО<sup>3</sup>, М. А. АЛЫМЕНКО<sup>4</sup>, \*Е. В. ТАЛИКОВА<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», «Медицинский институт СПбГУ», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБУ «Научно-консультативный центр токсикологии им. С. Н. Голикова» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Московский финансово-промышленный университет «Синергия», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

Цель исследования — анализ эпидемиологических данных по туберкулёзу (ТБ) в Курской области с учётом изменяющейся социально-экономической ситуации в регионе и исследование возможностей применения ремаксола в схемах сопроводительной терапии гепатотоксических реакций пациентов с ТБ. В ходе анализа массива данных было отмечено, что динамика инфекционных процессов была схожей с другими регионами Российской Федерации: снижение на фоне COVID-19 и постепенный рост заболеваемости в постпандемический период. У трети больных, включённых в исследование, были диагностированы коморбидные формы ТБ, отличавшиеся большей тяжестью течения заболевания и более низкой эффективностью терапии: у пациентов с моноинфекцией выздоровление (со снятием с учёта) было зарегистрировано у половины (49,8%), в то время как у больных с коморбидным вариантом течения этот показатель составил 35%. Вместе с тем клиническое выздоровление было диагностировано у 38,2% пациентов с моно- и 47% — с коморбидным туберкулёзом ( $p < 0,5$ ). Включение ремаксола (внутривенно капельно, 400 мл/сут, через день курс №5, далее — 1 раз в неделю №4) в схемы терапии гепатотоксических реакций на фоне основного курса лечения (ОКЛ) пациентов с ТБ как моно-, так и коморбидными формами способствовало более быстрому купированию отклонений клинико-лабораторных показателей и повышению эффективности лечения: 84,2% у больных с ТБ и 85,7% с коморбидной формой ТБ против 81,9 и 83,7% — у пациентов группы сравнения ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** туберкулёз; заболеваемость; коморбидный туберкулёз; эпидемическая ситуация; эффективность терапии; ремаксол

**Для цитирования:** Коломиец В. М., Польшикова Н. А., Петров А. Ю., Коваленко А. Л., Алыменко М. А., Таликова Е. В. Коморбидный туберкулёз в условиях формирования локальной эпидемической ситуации. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 40–46. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-40-46>. EDN: AKIHVF

## Comorbid Tuberculosis in the Context of the Formation of a Local Epidemic Situation

VLADISLAV M. KOLOMIETS<sup>1</sup>, NATALYA A. POLSHIKOVA<sup>1</sup>, ANDREY YU. PETROV<sup>2</sup>,  
ALEKSEY L. KOVALENKO<sup>3</sup>, MAKSIM A. ALYMENKO<sup>5</sup>, \*EKATERINA V. TALIKOVA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Kursk State Medical University, Kursk, Russia

<sup>2</sup> Institute of Medicine of St Petersburg University, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Scientific Advisory Center of Toxicology Named after S.N. Golikov of the FMBA of Russia, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Moscow Financial and Industrial University «Synergy», Moscow, Russia

<sup>5</sup> St. Petersburg Medical and Social Institute, Saint Petersburg, Russia

## Abstract

*The aim of the study was to analyze epidemiological data on tuberculosis in the Kursk region, taking into account the changing socio-economic situation in the region, as well as to study the possibilities of using remaxol in the regimens of accompanying therapy for hepatotoxic reactions in patients with tuberculosis. During the analysis of the data array, it was noted that the dynamics of infectious processes were similar to the other regions of the Russian Federation: a decrease against the background of COVID-19 and a gradual increase in morbidity in the post-pandemic period. A third of the patients included in the study were diagnosed with comorbid forms of tuberculosis, characterized by greater severity of the disease and lower effectiveness of therapy: recovery (with deregistration) was recorded in half (49.8%) of patients with monoinfection, while in patients with a comorbid course of the disease, this figure was 35%. At the same time, clinical recovery was diagnosed in 38.2% of patients with monoinfection and in 47% of patients with comorbid tuberculosis ( $P < 0.5$ ). The inclusion of remaxol (intravenous drip, 400 ml/day, every*

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: e\_talikova@polysan.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: e\_talikova@polysan.ru



EDN: AKIHVF

other day — course No. 5, then 1 time per week No. 4) in the treatment regimens for hepatotoxic reactions during the main course of treatment in patients with tuberculosis, in both mono-infection and comorbid forms, contributed to a more rapid relief of deviations in clinical and laboratory parameters and an increase in the effectiveness of treatment: 84.2% in patients with tuberculosis and 85.7% with a comorbid form of tuberculosis versus 81.9% and 83.7% in patients in the comparison group ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** tuberculosis; morbidity; comorbid tuberculosis; epidemic situation; effectiveness of therapy; remaxol

**For citation:** Kolomiets V. M., Polshikova N. A., Petrov A. Yu., Kovalenko A. L., Alymenko M. A., Talikova E. V. Comorbid tuberculosis in the context of the formation of a local epidemic situation. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 40–46. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-40-46>. EDN: AKIHVF

В последние годы в Российской Федерации сохранялась тенденция к снижению заболеваемости и распространённости туберкулёза (ТБ) среди населения. При этом патоморфоз современного ТБ имеет ряд особенностей: во-первых, увеличение доли прогрессирующих тяжёлых поражений лёгких (казеозной пневмонии, генерализованного и диссеминированного ТБ) и внелёгочных форм (туберкулёзного менингоэнцефалита, поражения кишечника и др.). Во-вторых, регистрируются качественные изменения возбудителя — распространение штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ), широкой (ШЛУ-ТБ) и сверхустойчивостью [1, 2].

На этом фоне отмечается стабильный прирост коморбидной патологии, в частности сочетание туберкулёза и ВИЧ-инфекции (ТБ/ВИЧ) и как доли в структуре заболеваемости социально-значимыми инфекционными заболеваниями (СЗИЗ), и в абсолютных значениях. Распространение данного варианта коморбидности в настоящее время признано закономерным из-за превалирования инфекций в одних и тех же социальных группах и особенностей иммунных механизмов заболеваний. Отмечено, что ТБ наиболее часто являлся причиной смерти у больных ВИЧ-инфекцией [3]. Кроме того, среди пациентов с впервые выявленным ТБ/ВИЧ регистрируется больше случаев с первичной МЛУ-ТБ и меньше — с сохранённой лекарственной чувствительностью возбудителя. Это также оказывает влияние на эффективность терапии: при ТБ/ВИЧ частота успешного лечения меньше в 1,5 раза для впервые выявленных и случаев рецидива заболевания, и в 1,9 раза — для больных с устойчивостью возбудителя как минимум к рифампицину [4].

Важнейшим этапом в борьбе с ТБ явилась пандемия новой коронавирусной инфекции (НКИ, COVID-19). В Докладе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2021 г. о глобальной борьбе с туберкулёзом подчёркивалось, что COVID-19 значительно повлиял на темпы борьбы с ТБ: впервые за более чем десять лет показатели смертности от данной инфекции увеличились. В связи с карантинными мерами в 2020 г. регистрировалось снижение численности людей, прошедших диагностику, лечение или профилактическую противотуберкулёзную терапию. Всё это происходило на фоне сокращения финансиру-

ния основных видов специализированной помощи в связи с переориентацией бюджетирования на борьбу с COVID-19. Таким образом, показатель снижения заболеваемости ТБ в этот период в настоящее время признан неблагоприятным, в том числе в прогностическом плане. На этом фоне отмечалось снижение регистрации случаев впервые выявленного ТБ и рецидивов заболевания на фоне роста доли пациентов с деструктивными изменениями лёгочной ткани, бактериовыделением и увеличение посмертной диагностики ТБ [5].

Изменения эпидемиологической и клинической картины ТБ и увеличение регистрации случаев коморбидности патологии требуют коррекции схем лечения: расширения спектра и включения новых препаратов этиотропной терапии с одновременным назначением от 4 до 9 препаратов и длительностью курсов 6–24 мес. При этом повышается риск развития побочных эффектов: рифампицин, изониазид, пиразинамид, фторхинолоны, бедаквилин и др. обладают потенциальным гепатотоксическим действием. Кроме того, у пациентов с коморбидным ТБ/ВИЧ-инфекцией схема, включающая противотуберкулёзные препараты (ПТП) и препараты антиретровирусной терапии (АРВТ), приводит, с одной стороны, к снижению смертности, а с другой — гепатотоксическим реакциям и увеличению доли хронизации ТБ [6, 7].

Таким образом, увеличение случаев развития гепатотоксических реакций у пациентов с ТБ и коморбидной патологии, в частности ТБ/ВИЧ, затрудняющих соблюдение режимов применения этиотропных препаратов и снижающих тем самым эффективность лечения, определяет целесообразность включения гепатопротекторов в схемы комплексной терапии этих пациентов. Одним из таких препаратов, успешно применяемых во фтизиатрии, является Ремаксол (ООО «НТФФ» ПОЛИСАН, Россия). Янтарная кислота, входящая в его состав, интенсифицирует клеточное дыхание, способствуя утилизацию кислорода тканями, повышает устойчивость мембран гепатоцитов к перекисному окислению. Метионин, являясь незаменимой аминокислотой, участвует в регуляции жирового и белкового обмена, препятствуя жировому перерождению гепатоцитов и обеспечивает липотропный эффект. Таким образом, пре-

парат способствует улучшению связывания не-прямой фракции билирубина с глюкуроновой кислотой в гепатоците и экскреции прямого билирубина в желчь, ускоряя переход анаэробных процессов в аэробные, улучшая энергетическое обеспечение гепатоцитов, стимулируя синтез макроэргов, прежде всего АТФ. Клинически доказано, что десятидневный курс ремаксола в начале стандартного лечения инфильтративного туберкулёза лёгких способствует нормализации лабораторных показателей состояния печени, а также ускоренному регрессу деструкции в туберкулёзных инфильтратах с последующим сокращением потребности во фтизиохирургической помощи. Назначение препарата показано в случаях повышения активности печёночных ферментов и развитии печёночной недостаточности [8].

Цель исследования — анализ эпидемиологических данных по туберкулёзу в Курской области с учётом изменяющейся социально-экономической ситуации в регионе и исследование возможностей применения в схемах сопроводительной терапии коморбидного туберкулёза препарата ремаксол.

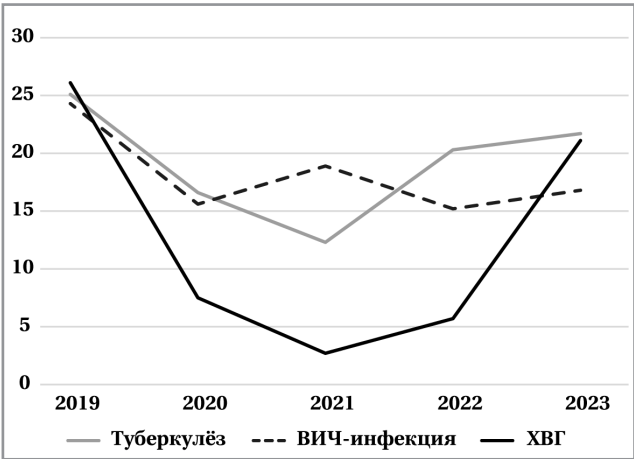
### Материал и методы

Нами был проведён анализ данных формы № 030/у «Контрольная карта диспансерного наблюдения» пациентов, получивших лечение в ОБУЗ «Областной клинический противотуберкулёзный диспансер» г. Курска за 2003–2023 гг. В исследование были включены данные 5608 больных и переболевших туберкулёзом (4163 (74,2%) мужчины и 1445 (25,7%) женщин).

Статистический анализ проводился с применением программы Statistica 10.0. Применялся ранговый коэффициент корреляции Спирмена, где значимым считалось значение  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Отмечено, что за последние пять лет (2019–2023 гг.) динамика заболеваемости основными СЗИЗ имела сходные черты с ситуацией в других регионах Российской Федерации: снижение на фоне



Динамика заболеваемости основными СЗИЗ за 2019–2023 гг. (на 100 тыс. населения).

Dynamics of incidence of the main socially significant infectious diseases for 2019–2023 (per 100 thousand population).

COVID-19 и постепенный рост заболеваемости в постпандемийный период [2, 4] (рисунок). Необходимо учитывать, что на формирование эпидемического профиля в Курской области оказали влияние не только пандемия COVID-19 (2019–2020 гг.), но и то, что она является приграничной территорией, где с 2022 г. сложилась и периодически обостряется чрезвычайная ситуация.

При дальнейшем анализе массива данных была выявлена зависимость между клиническими формами ТБ лёгких и полом пациентов: у мужчин основными были диссеминированный (34,6%) и инфильтративный вариант (25%), а также фиброзно-кавернозная форма — (12,6%) случаев, у женщин на первом месте оказалась инфильтративная форма (31,5%), на втором — диссеминированная (25%), а на третьем — очаговый туберкулёз лёгких (16,2%),  $p > 0,05$  (табл. 1).

На начало пандемии 633 пациента умерли, а 308 выбыли (переехали из региона). Таким образом, ос-

Таблица 1. Клинические формы туберкулёза в зависимости от пола пациентов, включённых в исследование (абс, %).

Table 1. Clinical forms of tuberculosis depending on the gender of patients included in the study (abs, %).

| Клинические формы           | Пол          |             | Всего |
|-----------------------------|--------------|-------------|-------|
|                             | мужчины      | женщины     |       |
| Внелёгочные (ВНЛ)           | 55 (1,3%)    | 50 (3,4%)   | 105   |
| Генерализованные формы      | 18 (0,4%)    | 11 (0,8%)   | 29    |
| Диссеминированный (ДТЛ)     | 1442 (34,6%) | 361 (25%)   | 1803  |
| Инфильтративный (ИТЛ)       | 1039 (25%)   | 455 (31,5%) | 1494  |
| Казеозная пневмония (КПН)   | 31 (0,7%)    | 10 (0,7%)   | 41    |
| Кавернозный (КТЛ)           | 94 (2,3%)    | 33 (2,3%)   | 127   |
| Очаговый (ОТЛ)              | 449 (10,8%)  | 233 (16,2%) | 682   |
| Поражения плевры (Плевр.)   | 35 (0,8%)    | 9 (0,6%)    | 44    |
| Туберкулёма (ТТЛ)           | 420 (10,1%)  | 166 (11,5%) | 586   |
| Фиброзно-кавернозный (ФКТЛ) | 525 (12,6%)  | 92 (6,3%)   | 617   |
| Цирротический (ЦТЛ)         | 55 (1,3%)    | 25 (1,7%)   | 80    |
| Итого                       | 4163         | 1445        | 5608  |

**Таблица 2. Исходы основного курса лечения (ОКЛ) пациентов с туберкулёзом (моно- и коморбидным вариантами)****Table 2. Outcomes of the main course of treatment of patients with tuberculosis (mono- and comorbid variants)**

| Патология                                  | Исход ОКЛ                         |                          |               | Всего |
|--------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|---------------|-------|
|                                            | эффективен                        |                          | не эффективен |       |
|                                            | выздоровление<br>(снятые с учёта) | клиническое<br>излечение |               |       |
| ТБ                                         | 1645                              | 1260                     | 396           | 3301  |
| Коморбидность: ТБ +                        |                                   |                          |               |       |
| Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) | 43                                | 57                       | 30            | 130   |
| Болезни органов дыхания                    | 124                               | 129                      | 56            | 309   |
| Заболевания ССС                            | 61                                | 99                       | 30            | 190   |
| ВИЧ-инфекция                               | 21                                | 66                       | 17            | 104   |
| Вирусные гепатиты                          | 31                                | 41                       | 23            | 95    |
| Онкопатология                              | 11                                | 9                        | 9             | 29    |
| Психические заболевания                    | 34                                | 48                       | 10            | 92    |
| Сахарный диабет                            | 41                                | 49                       | 22            | 112   |
| Другие заболевания                         | 112                               | 144                      | 49            | 305   |
| Итог                                       | 2123                              | 1902                     | 642           | 4667  |

новой анализируемый резервуар туберкулёзной инфекции составили 4667 больных и переболевших ТБ. Анализ эффективности результатов терапии выявил, что основной курс лечения туберкулёза (ОКЛ) был более эффективен у пациентов с моноинфекцией ТБ: 88% против 82% — с коморбидным туберкулёзом ( $p>0,05$ ). Отмечены различия и в характере эффективности: у пациентов с ТБ выздоровление (со снятием с учёта) было зарегистрировано у половины (49,8%), в то время как у больных с коморбидным ТБ этот показатель составил 35%. Вместе с тем клиническое выздоровление было диагностировано у 38,2% пациентов с ТБ и 47% — с коморбидным ТБ ( $p<0,5$ ). Таким образом полученные результаты подтверждают данные литературы о более тяжёлом течении коморбидных форм ТБ [3].

При анализе сопутствующей патологии было отмечено, что коморбидность присутствовала у 1366 (30,5%) больных (табл. 2). Необходимо отметить, что у большинства (82%) больных коморбидным туберкулёзом ОКЛ был эффективен. Наименее эффективным он был у пациентов с сочетанием: ТБ + онкопатологией (31% пациентов), ТБ + вирусные гепатиты (24,2% больных) и ТБ + хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) (23,1% обследованных),  $p>0,05$ .

Развитие гепатотоксических реакций (повышение уровня общего билирубина и трансаминаз, ГГТП, появление дискомфорта и болей в левом подреберье) на фоне ОКЛ был отмечен у 316 пациентов: 228 (6,9%) больных с моноинфекцией ТБ и 88 (6,4%) — с коморбидным ТБ. Необходимо отметить, что у больных с коморбидным ТБ признаки лекарственного поражения печени появились уже в начале 4-го месяца. ОКЛ и имели большую выраженность и длительность купирования. Всем больным была назначена гепатопротекторная терапия: у 71 (основная, I группа) в схему терапии был включён ремаксол: внутривенно капельно,

400 мл/сут, через день курс №5, далее — 1 раз в неделю №4. У 245 (группа II, сравнения) — согласно регламентирующим документам. Кроме того, пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от патологии: IA ( $n=57$ ) и ПА ( $n=171$ ) — больные ТБ и IB ( $n=14$ ), и ПВ ( $n=74$ ) — с коморбидным ТБ. Со всеми больными была проведена разъяснительная беседа, все подписали информированное согласие. Эффективность оценивали по скорости купирования клиничко-лабораторных данных и возможности сохранения полного объёма этиотропной терапии. Сравнение схем терапии выявило большую эффективность ремаксол: 84,2% у больных с ТБ и 85,7% с коморбидной формой ТБ против 81,9 и 83,7% — у пациентов группы сравнения ( $p\leq 0,05$ ), (табл. 3). На введение ремаксол нежелательных реакций выявлено не было, все больные получили лечение в полном объёме.

Таким образом, включение ремаксол в схемы терапии сопровождения ОКЛ пациентов с ТБ как моно-, так и коморбидными формами с гепатотоксическими реакциями способствовало более быстрому купированию отклонений клиничко-лабораторных показателей и тем самым — сохранению проводимой этиотропной терапии.

Всё большее внимание в настоящее время уделяется изучению взаимосвязи генетического профиля пациентов и эффективности используемых лекарственных препаратов, в частности, изучению генов детоксикации ксенобиотиков (ДК). К ксено-

**Таблица 3. Результаты схем комплексной терапии (абс, %)****Table 3. Results of complex therapy regimens (abs, %)**

| Группы         | Результат терапии |               |
|----------------|-------------------|---------------|
|                | эффективна        | не эффективна |
| I ( $n=71$ )   | IA ( $n=57$ )     | 48 (84,2%)    |
|                | IB ( $n=14$ )     | 9 (15,8%)     |
|                |                   | 12 (87,5%)    |
| II ( $n=245$ ) | ПА ( $n=171$ )    | 2 (14,3%)     |
|                | ПВ ( $n=74$ )     | 140 (81,9%)   |
|                |                   | 31 (18,1%)    |
|                |                   | 62 (83,7%)    |
|                |                   | 12 (16,2%)    |



биотикам относят различные сторонние для организма вещества: лекарственные препараты, пищевые добавки, никотин, алкоголь и др. Ферменты ДК обеспечивают общую устойчивость организма к факторам внешней и внутренней среды. Нарушение баланса в метаболических путях за счёт изменений активности ферментов, обусловленное генетическим полиморфизмом, может вызывать нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза. Установлено, что система ДК включает в себя три фазы. В первую фазу происходит идентификация и активация ксенобиотических субстратов с участием системы цитохрома P450, в результате чего образуются опасные для клеток активные промежуточные метаболиты. Во время второй фазы, благодаря участию глутатионтрансфераз, происходит нейтрализация опасных активных метаболитов с образованием водорастворимых нетоксических соединений, которые выводятся во время третьей фазы через органы выделения [9]. Для эффективной ДК необходимо равновесие между ферментами первой и второй фаз. Наиболее полно ферменты детоксикации представлены в печени, но для большинства из них показана экспрессия и в других органах, в том числе в лёгких и бронхах, например, глутатион-S-трансферазах и цитохроме P450. Установлено, что наличие полиморфизмов генов II фазы ДК предопределяет повышенный риск инфекционных заболеваний и выраженность эффекта от антибактериальной терапии [10, 11].

В связи с этим нами был проведён анализ генетического профиля у 316 пациентов (228 больных с моноинфекцией ТБ и 88 — с коморбидным ТБ). Все обследованные имели гепатоксические реакции различной выраженности и получили сопроводительную терапию: у 71 (основная, I группа) в схему терапии был включён ремаксол: внутривенно капельно, 400 мл/сут, через день курс № 5, далее — 1 раз в неделю №4. У 245 (группа II, сравнения), согласно регламентирующим документам.

Были исследованы гены цитохрома CYP2E1, N-ацетил-трансферазы 2 (NAT2), ген *t*-глутатион трансферазы (GSTT1) и ген *m*-глутатион трансферазы (GSTM1). Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции с последующей преципитацией ДНК этанолом. Генотипирование полиморфных вариантов проведено на генетическом анализаторе MassARRAY-4 (Agena Bioscience, США) в НИИ генетической молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета (КГМУ). Контроль качества генотипирования, выполненного на 5% случайно отобранных образцов ДНК, показал 100% воспроизводимость первичных результатов генотипирования.

Анализ полученных данных не выявил существенных различий генетического профиля ни в зависимости от схем терапии (табл. 4) и ни при

**Таблица 4. Эффективность ОКЛ при включении ремаксола у впервые выявленных больных туберкулёзом в зависимости от генотипов (абс, %)**

**Table 4. Efficiency of the main course of treatment with the inclusion of remaxol in newly diagnosed patients with tuberculosis depending on genotypes (abs, %)**

| Показатель |    | Результат лечения |               | Всего |
|------------|----|-------------------|---------------|-------|
|            |    | эффективен        | не эффективен |       |
| CYP2E1     |    |                   |               |       |
| I, n=245   | aa | 189               | 37            | 226   |
|            | AA | 13                | 6             | 19    |
| II, n=71   | aa | 58                | 9             | 67    |
|            | AA | 2                 | 2             | 4     |
| Итог       |    | 262               | 54            | 316   |
| NAT2       |    |                   |               |       |
| I, n=230   | aa | 101               | 18            | 119   |
|            | AA | 90                | 21            | 111   |
| II, n=65   | aa | 23                | 8             | 31    |
|            | AA | 29                | 5             | 34    |
| Итог       |    | 243               | 52            | 295   |
| GSTT1      |    |                   |               |       |
| I, n=245   | aa | 180               | 40            | 220   |
|            | AA | 22                | 3             | 25    |
| II, n=71   | aa | 53                | 10            | 63    |
|            | AA | 7                 | 1             | 8     |
| Итог       |    | 262               | 54            | 316   |
| GSTM1      |    |                   |               |       |
| I, n=245   | aa | 90                | 19            | 110   |
|            | AA | 112               | 24            | 136   |
| II, n=71   | aa | 31                | 2             | 33    |
|            | AA | 29                | 9             | 38    |
| Итог       |    | 262               | 54            | 316   |

**Примечание.** AA — доминантный ген; aa — рецессивный ген.

**Note:** AA — dominant gene; aa — recessive gene.

сравнении генетического профиля и эффективности — преобладал рецессивный вариант генов. Наряду с этим отмечена тенденция по соотношению рецессивных и доминантных вариантов по гену N-ацетил-трансферазы 2 (NAT2): у пациентов с эффективным вариантом терапии оно составило 51 и 49%, не эффективным — по 50%, соответственно ( $p>0,05$ ). Известно, что ген NAT-2 кодирует аминокислотную последовательность цитозольного фермента N-ацетил-трансферазы II типа, который вырабатывается в печени, кишечнике и некоторых других органах и участвует во второй фазе метаболизма ксенобиотиков — детоксикации посредством ацетилирования — присоединения ацетил-группы. Субстратами для N-ацетил-трансферазы 2 являются ароматические амины и гидрозины, к которым относятся многие канцерогены, а также некоторые лекарственные препараты.

По гену *m*-глутатион трансферазы (GSTM1) эти показатели составили: при эффективном результате терапии 46 и 54%, при не эффективном — 39 и 61%, соответственно ( $p>0,05$ ). Данный ген кодирует белок глутатион S-трансферазу. Генетическая вариабельность генов

глутатион S-трансфераз может обуславливать восприимчивость организма к канцерогенам и токсинам, а также влиять на токсичность и эффективность применения некоторых лекарственных средств. В связи с этим выявленная тенденция может быть связана с развитием гепатотоксических реакций на ОКЛ, что и наблюдалось у обследованных пациентов. Полученные результаты требуют дальнейших исследований.

## Заключение

В ходе анализа массива данных по заболеваемости туберкулёзом и другими социально-значимыми инфекционными заболеваниями в Курской области было отмечено, что динамика инфекционных процессов была схожей с другими регионами Российской Федерации: снижение на фоне COVID-19 и постепенный рост заболеваемости в поспандемийный период.

У трети больных, включённых в исследование, были диагностированы коморбидные формы туберкулёза, отличавшиеся большей тяжестью течения заболевания и более низкой эффективностью терапии: у пациентов с ТБ выздоровление (со снятием с учёта) было зарегистрировано у половины (49,8%), в то время как у больных с коморбидным ТБ этот показатель составил 35%.

## Литература/References

1. О стратегии развития здравоохранения Российской Федерации на период до 2025 г.: Указ Президента Российской Федерации от 06.06.2019 г. № 254. М.: 12. [On the strategy for the development of healthcare in the Russian Federation until 2025: Decree of the President of the Russian Federation of 06.06.2019 No. 254. Moscow, 12. (in Russian)]
2. Нечаева О. Б. Состояние и перспективы противотуберкулёзной службы России в период COVID-19. Туберкулёз и болезни лёгких. 2020; 98 (12): 7–19. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-12-7-19>. [Nechaeva O. B. The state and prospects of the anti-tuberculosis service in Russia during COVID-19. Tuberkulez i Bolezni Legkikh. 2020; 98(12): 7–19. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-12-7-19>. (in Russian)]
3. Азовцева О. В., Грицюк А. В., Гемаева М. Д., Карпов А. В., Архипов Г. С. ВИЧ-инфекция и туберкулёз как наиболее сложный вариант коморбидности. Вестник Новгородского государственного университета. 2020; 117 (1): 79–84. doi: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.1\(117\).79-84](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.1(117).79-84). [Azovtseva O. V., Gritsyuk A. V., Gemaeva M. D., Karpov A. V., Arkhipov G. S. HIV infection and tuberculosis as the most complex variant of comorbidity Vestnik Novgorodskogo Gosudarstvennogo Universiteta. 2020; 117 (1): 79–84. doi: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.1\(117\).79-84](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2020.1(117).79-84). (in Russian)]
4. Яблонский П. К., Старшинова А. А., Назаренко М. М., Беляева Е. Н., Чужов А. Л., Алексеев Д. Ю., Павлова М. В. Эффективность лечения туберкулёза с лекарственной устойчивостью возбудителя у больных с различным коморбидным статусом. Медицинский альманх. 2022; 10 (1): 6–15. doi: <https://doi.org/10.36422/23076348-2022-10-1-6-15>. [Yablonskiy P. K., Starshinova A. A., Nazarenko M. M., Belyaeva E. N., Chuzhov A. L., Alekseev D. Yu., Pavlova M. V. Efficiency of treatment of drug-resistant tuberculosis in patients with different comorbid status Meditsinskij Al'manh. 2022; 10 (1): 6–15. doi: <https://doi.org/10.36422/23076348-2022-10-1-6-15>. (in Russian)]
5. Савинцева Е. В., Исаева П. В., Низамова Г. Ф. Туберкулёз и COVID-19: медицинские и социальные аспекты Туберкулёз и болезни лёгких. 2022; 100 (3): 13–17. doi: <https://doi.org/10.36422/23076348-2022-10-1-6-15>. [Savintseva E. V., Isaeva P. V., Nizamova G. F. Tuberculosis and COVID-19: medical and social aspects Tuberkulyoz i Bolezni Lyogkikh. 2022; 100 (3): 13–17. doi: <https://doi.org/10.36422/23076348-2022-10-1-6-15>. (in Russian)]
6. Васильева И. А., Самойлова А. Г., Зими́на В. Н., Ловачева О. В., Абрамченко А. В. Химиотерапия туберкулёза в России — история

Вместе с тем клиническое выздоровление было диагностировано у 38,2% пациентов с ТБ и 47% — с коморбидным ТБ ( $p < 0,5$ ).

Включение ремаксоло (внутривенно капельно, 400 мл/сут, через день курс №5, далее — 1 раз в неделю №4) в схемы терапии гепатотоксических реакций на фоне ОКЛ пациентов с ТБ как моно-, так и коморбидными формами способствовало более быстрому купированию отклонений клинико-лабораторных показателей и повышению эффективности лечения: 84,2% у больных с ТБ и 85,7% с коморбидной формой ТБ против 81,9% и 83,7% — у пациентов группы сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Выявленная тенденция неоднородности генов N-ацетил-трансферазы 2 (NAT2) и m-глутатион трансферазы (GSTM1) у пациентов с туберкулёзом и гепатотоксическими реакциями требует дальнейших расширенных исследований.

## Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов.** Разработка модели, анализ и интерпретация результатов — Коломиец В. М., Польшикова Н. А., Таликова Е. В. Написание текста, редактирование — Коломиец В. М., Петров А. Ю., Коваленко А. Л., Таликова Е. В.

- продолжается. Туберкулёз и болезни лёгких. 2023; 101 (2): 8–12. doi: <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-2-8-12>. [Vasil'eva I. A., Samojlova A. G., Zimina V. N., Lovacheva O. V., Abramchenko A. V. Tuberculosis chemotherapy in Russia — the story continues. Tuberkulyoz i Bolezni Lyogkikh. 2023; 101 (2): 8–12. doi: <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-2-8-12>. (in Russian)]
7. Цыбикова Э. Б. Туберкулёз, сочетанный с ВИЧ-инфекцией, в России в период до и во время пандемии COVID-19. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2022; 14 (4): 29–35. doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2022-14-4-29-35>. [Tsybikova E. B. Tuberculosis combined with HIV infection in Russia before and during the COVID-19 pandemic. VICH-infektsiya i immunosupressii. 2022; 14 (4): 29–35. doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2022-14-4-29-35>. (in Russian)]
8. Мазина Н. К., Мазин П. В. Метааналитический подход к оценке клинической эффективности инфузионного сукцинатсодержащего препарата Ремасол при патологии печени различного генеза. Антибиотики и химиотерапия. 2015; 60 (11–12): 43–49. [Mazina N. K., Mazin P. V. Meta-analytical approach to assessing the clinical efficacy of the infusion succinate-containing drug Remaxol in liver pathology of various genesis. Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2015; 60 (11–12): 43–49. (in Russian)]
9. Шуматова Т. А., Коваленко Д. В. Роль генов второй фазы детоксикации ксенобиотиков в патогенезе мультифакториальных заболеваний. Тихоокеанский медицинский журнал. 2021; 4: 6–20. doi: <http://dx.doi.org/10.34215/1609-1175-2021-4-16-20>. [Shumatova T. A., Kovalenko D. V. The role of genes of the second phase of xenobiotic detoxification in the pathogenesis of multifactorial diseases Tikhookeanskij Meditsinskij Zhurnal. 2021; 4: 6–20. doi: <http://dx.doi.org/10.34215/1609-1175-2021-4-16-20>.]
10. Сычев Д. А. Генетические особенности пациента могут влиять на профиль эффективности и безопасности лекарственного препарата. Безопасность и риск фармакотерапии. 2024; 12 (2): 127–131. doi: <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2024-12-2-127-131>. [Sychev D. A. A patient's genetic characteristics may influence the efficacy and safety profile of a drug. Bezopasnost' i Risk Farmakoterapii. 2024; 12 (2): 127–131. doi: <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2024-12-2-127-131>. (in Russian)]
11. Альменко М. А., Валиев Р. И., Валиев Н. Р., Полоников А. В., Трагир И. Н., Шеенков Н. В. Ассоциация полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и цитокинов с деструкцией лёгочной ткани у больных туберкулёзом. Туберкулёз и болезни лёгких. 2022; 100 (8): 25–30. doi: <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2022-100-8-25>.

25–30. [Alymenko M. A., Valiev R. Sh., Valiev N. R., Polonikov A. V., Tragira I. N., Sheenkov N. V. Association of polymorphic variants of genes encoding enzymes for xenobiotic and cytokine biotransformation with lung tissue destruction in patients with tuberculosis Tuberkulyoz i Bolezni Lyogkikh.

2022; 100 (8): 25–30. doi: <http://doi.org/10.21292/2075-1230-2022-100-8-25-30>. (in Russian)]

Поступила / Received 01.01.2024  
Принята в печать / Accepted 10.10.2024

## Информация об авторах

*Коломиец Владислав Михайлович* — д. м. н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, Курск, Россия. ORCID ID: 0009-0002-2042-4460. Scopus Author ID: 594235

*Польшикова Наталья Александровна* — сотрудник кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, Курск, Россия. SPIN-код: 3857-6888, AuthorID: 1143730

*Петров Андрей Юрьевич* — к. ф. н., лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, доцент кафедры фармакологии Медицинского института СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6204-0145, SCIN 1946-4792

*Коваленко Алексей Леонидович* — д. б. н., к. х. н., лауреат премии правительства РФ в области науки и техники, ведущий научный сотрудник химико-аналитического отдела ФГБУ НКЦТ им. С. Н. Голикова ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3695-2671, SPIN-код: 7216-8364

*Алыменко Максим Алексеевич* — к. м. н. доцент кафедры общей биологии и фармации, медицинский факультет, Московский финансово-промышленный университет «Синергия», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7341-3648

*Таликова Екатерина Владимировна* — к. м. н., доцент кафедры морфологии, патологии и судебной медицины ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-6509-9425. SCIN-1129-8267

## About the authors

*Vladislav M. Kolomiets* — D. Sc. in Medicine, Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology, and Phthi-siopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID ID: 0009-0002-2042-4460, Scopus Author ID: 594235

*Natalya A. Polshikova* — Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. SPIN-code: 3857-6888, AuthorID: 1143730

*Andrey Yu. Petrov* — Ph. D. in Pharmaceutical Sciences, Laureate of the Russian Federation Government Prize in Science and Technology, Associate Professor of the Department of Pharmacology, Institute of Medicine of St Petersburg University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6204-0145, SCIN 1946-4792

*Aleksey L. Kovalenko* — D. Sc. in Biology, Ph.D. in Chemistry, Laureate of the Russian Federation Government Prize in Science and Technology, Leading Researcher of the Chemical-Analytical Department, Scientific Advisory Center of Toxicology Named after S. N. Golikov of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3695-2671, SPIN-code: 7216-8364

*Maksim A. Alymenko* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of General Biology and Pharmacy, Faculty of Medicine, Moscow Financial and Industrial University «Synergy», Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7341-3648

*Ekaterina V. Talikova* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Morphology, Pathology, and Forensic Medicine, St. Petersburg Medical and Social Institute, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-6509-9425. SCIN-1129-8267

# Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии фавипиравиром

\*Ю. В. ШЕВЧУК<sup>1,2</sup>, И. В. СЫЧЕВ<sup>2,3</sup>, А. В. КРЮКОВ<sup>1,2</sup>, И. И. ТЕМИРБУЛАТОВ<sup>2</sup>,  
К. Б. МИРЗАЕВ<sup>2</sup>, Н. П. ДЕНИСЕНКО<sup>2</sup>, Ш. П. АБДУЛЛАЕВ<sup>2</sup>, С. Н. ТУЧКОВА<sup>2</sup>,  
В. И. ВЕЧОРКО<sup>1,2</sup>, О. В. АВЕРКОВ<sup>1</sup>, Д. А. СЫЧЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», Саранск, Россия

## Резюме

**Фавипиравир** — противовирусный препарат, получивший широкое распространение для этиотропного лечения COVID-19. По данным ряда исследований, частота развития нежелательных реакций при терапии фавипиравиром достигает 93%, а наиболее частой нежелательной реакцией является повышение уровня ферментов печени в крови. **Цель.** Изучение влияния гендерно-возрастных, клинико-анамнестических и фармакогенетических факторов на развитие лекарственного поражения печени при терапии фавипиравиром у госпитализированных пациентов с COVID-19. **Материал и методы.** В исследование было включено 150 госпитализированных пациентов с COVID-19, получающих терапию препаратом фавипиравир. Пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 — 31 человек, у которых на фоне терапии фавипиравиром развилось повышение уровня аланиновой трансаминазы, кратное двум верхним границам нормы и более, группа 2 (контрольная) — 119 человек, у которых не развилось данной нежелательной реакции. У пациентов обеих групп был проведен ретроспективный анализ историй болезней, а также у 14 пациентов группы 1 и у 71 пациента группы 2 было проведено фармакогенетическое исследование. На основании полученных данных изучена ассоциация клинических, лабораторных, фармакологических и фармакогенетических показателей с развитием лекарственного поражения печени при терапии фавипиравиром. **Результаты.** В группе пациентов с развитием лекарственного поражения печени достоверно чаще, чем в группе контроля, встречались лица более молодого возраста ( $60,48 \pm 15,93$  и  $66,38 \pm 14,23$  лет соответственно,  $p=0,047$ ), с более низким уровнем лимфоцитов в крови ( $1,103 \pm 0,644$  и  $1,537 \pm 1,866 \cdot 10^9/\text{л}$  соответственно,  $p=0,022$ ) и более высоким уровнем интерлейкина-6 ( $288,019 \pm 344,794$  и  $152,490 \pm 274,67$  пг/мл соответственно,  $p=0,045$ ), а также получавших терапию цефалоспорином (ОШ=4,891, ДИ=1,610–14,862,  $\chi^2=9,047$ ,  $p=0,003$ ), бета-адреноблокаторами (ОШ=0,416, ДИ=0,177–0,978,  $\chi^2=4,190$ ,  $p=0,041$ ), диуретиками (ОШ=0,328, ДИ=0,107–1,006,  $p=0,043$ ), ингибиторами интерлейкина (ОШ=4,891, ДИ=1,610–14,862,  $\chi^2=9,047$ ,  $p=0,003$ ) и которым проводилось повторное введение ингибиторов интерлейкина (ОШ=6,884, ДИ=2,609–18,168,  $\chi^2=18,048$ ,  $p=0,000$ ). **Выводы.** Более молодой возраст, более низкий уровень лимфоцитов и более высокий уровень интерлейкина-6 в крови, а также сопутствующая терапия цефалоспорином, бета-адреноблокаторами, диуретиками и ингибиторами интерлейкина, в том числе повторное введение ингибиторов интерлейкина, повышают вероятность развития лекарственного поражения печени при терапии фавипиравиром. Вследствие этого необходимо учитывать эти факторы при назначении терапии фавипиравиром, проводить более тщательный мониторинг клинико-лабораторных показателей поражения печени и разрабатывать персонализированные подходы к лечению пациентов с COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19; фавипиравир; гепатотоксичность; нежелательные реакции; предикторы нежелательных реакций; фармакогенетическое исследование; клиническое исследование

**Для цитирования:** Шевчук Ю. В., Сычев И. В., Крюков А. В., Темирбулатов И. И., Мирзаев К. Б., Денисенко Н. П., Абдуллаев Ш. П., Тучкова С. Н., Вечорко В. И., Аверков О. В., Сычев Д. А. Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии фавипиравиром. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 47–55. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-47-55>. EDN: DULHEZ.

## A Model for Predicting the Risk of Developing Drug-Induced Liver Injury During Therapy with Favipiravir

\*YULIYA V. SHEVCHUK<sup>1,2</sup>, IVAN V. SYCHEV<sup>2,3</sup>, ALEXANDER V. KRYUKOV<sup>1,2</sup>,  
ILYAS I. TEMIRBULATOV<sup>2</sup>, KARIN B. MIRZAEV<sup>2</sup>, NATALIA P. DENISENKO<sup>2</sup>,

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: ju-viktorovna@yandex.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

EDN: DULHEZ





## Abstract

Favipiravir is an antiviral drug that has become widely used for the etiotropic treatment of COVID-19. According to a number of studies, the incidence of adverse reactions during favipiravir therapy reaches 93%, and the most common adverse reaction is an increase in the level of liver enzymes in the blood. *The aim* was to study the influence of gender-age, clinical-anamnestic and pharmacogenetic factors on the development of drug-induced liver injury during favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. *Material and methods.* The study included 150 hospitalized patients with COVID-19 receiving favipiravir therapy. Patients were divided into 2 groups: group 1 — 31 patients who developed an increase in alanine transaminase levels multiple of two upper limits of normal or more against the background of favipiravir therapy; group 2 (control) — 119 patients who did not develop this adverse reaction. A retrospective analysis of case histories was performed in patients of both groups, and a pharmacogenetic study was performed in 14 patients of group 1 and 71 patients of group 2. Based on the data obtained, the association of clinical, laboratory, pharmacological, and pharmacogenetic parameters with the development of drug-induced liver injury during favipiravir therapy was studied. *Results.* There were significantly more younger individuals in the group of patients who developed drug-induced liver injury than in the control group ( $60.48 \pm 15.93$  and  $66.38 \pm 14.23$  years respectively,  $P=0.047$ ), with a lower level of lymphocytes in the blood ( $1.103 \pm 0.644$  and  $1.537 \pm 1.866 \cdot 10^9/l$  respectively,  $P=0.022$ ) and a higher level of interleukin-6 ( $288.019 \pm 344.794$  and  $152.490 \pm 274.67$  pg/ml respectively,  $P=0.045$ ), as well as those receiving cephalosporin therapy (OR=4.891, CI=1.610–14.862,  $\chi^2=9.047$ ,  $P=0.003$ ), beta-blockers (OR=0.416, CI=0.177–0.978,  $\chi^2=4.190$ ,  $P=0.041$ ), diuretics (OR=0.328, CI=0.107–1.006,  $P=0.043$ ), interleukin inhibitors (OR=4.891, CI=1.610–14.862,  $\chi^2=9.047$ ,  $P=0.003$ ) and those who underwent repeated administration of interleukin inhibitors (OR=6.884, CI=2.609–18.168,  $\chi^2=18.048$ ,  $P=0.000$ ). *Conclusions.* Younger age, lower lymphocyte counts, and higher interleukin-6 levels in the blood, as well as concomitant therapy with cephalosporins, beta-blockers, diuretics, and interleukin inhibitors, including repeated administration of interleukin inhibitors, increase the likelihood of developing drug-induced liver injury during favipiravir therapy. Therefore, it is necessary to take these factors into account when prescribing favipiravir therapy, conduct more careful monitoring of clinical and laboratory indicators of liver damage, and develop personalized approaches to the treatment of patients with COVID-19.

**Keywords:** COVID-19; favipiravir; hepatotoxicity; adverse reactions; adverse reaction predictors; pharmacogenetic study; clinical trial

**For citation:** Shevchuk Yu. V., Sychev I. V., Kryukov A. V., Temirbulatov I. I., Mirzaev K. B., Denisenko N. P., Abdullaev Sh. P., Tuchkova S. N., Vechorko V. I., Averkov O. V., Sychev D. A. A model for predicting the risk of developing drug-induced liver injury during therapy with favipiravir. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 47–55. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-47-55>. EDN: DULHEZ.

## Введение

Пандемия COVID-19 привела к необходимости поиска эффективных препаратов для этиотропной терапии данного заболевания. Фавипиравир — противовирусный препарат, одобренный для лечения лёгкой и средней степени тяжести коронавирусной инфекции и получивший широкое распространение в клинической практике. Однако имеется мало данных о его безопасности, фармакокинетических свойствах и лекарственном взаимодействии при лечении COVID-19.

Существуют исследования, посвящённые характеру и распространённости нежелательных реакций при использовании фавипиравира для лечения коронавирусной инфекции. Так, согласно данным ряда исследований, распространённость нежелательных реакций при терапии фавипиравиром составила от 11,9 до 93% [1, 2]. По данным проспективного обсервационного исследования, проведённого в Турции, наиболее частой нежелательной реакцией стали признаки токсического поражения печени, распространённость которых составила 38,7% [3]. Данные систематического обзора и метаанализа также подтверждают, что наибольшую распространённость

среди всех выявленных нежелательных реакций имеет повышение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) [4], являющееся одним из признаков поражения печени.

В связи с широкой распространённостью лекарственного поражения печени (ЛПП) при терапии фавипиравиром, необходимо дальнейшее изучение его безопасности и разработка методов персонализированного подхода при его использовании у пациентов с COVID-19.

Фавипиравир является пролекарством и подвергается фосфорилированию и рибозилированию с образованием активного метаболита рибофуранозил-5'-трифосфат фавипиравира, который блокирует РНК-зависимую РНК полимеразу вируса COVID-19 [5]. Дальнейший метаболизм происходит под действием альдегидоксидазы (АОХ) и, в меньшей степени, ксантинооксидазы (ХАО) с образованием неактивного метаболита Т-705М, выводящегося почками [6]. По этой причине, полиморфизм генов, кодирующих данные ферменты, может оказывать влияние на фармакокинетику фавипиравира.

Фермент альдегидоксидаза имеет широкую субстратную специфичность, в связи с чем ряд ле-

карственных препаратов подвергается метаболизму под его действием [7, 8], вследствие этого их совместное применение с фавипиравиром может вызывать клинически значимые лекарственные взаимодействия. Так, применение субстрата альдегидоксидазы метотрексата, метаболизирующегося под её действием до неактивного метаболита, совместно с ингибиторами альдегидоксидазы приводит к его гепатотоксическому действию [9]. Приведённые выше данные свидетельствуют, что при терапии фавипиравиром необходимо учитывать генетические особенности пациентов и соответствующую лекарственную терапию.

Цель — изучить влияние гендерно-возрастных, клиничко-анамнестических и фармакогенетических факторов на развитие лекарственного поражения печени при терапии фавипиравиром у госпитализированных пациентов с COVID-19.

## Материал и методы

**Дизайн исследования.** Проспективное обсервационное открытое исследование типа «случай–контроль».

**Клиническая база и продолжительность исследования.** Исследование проводилось в период с ноября 2021 г. по февраль 2022 г. на базе ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова» Департамента здравоохранения города Москвы.

**Этическая экспертиза.** Исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Протокол № 15 от 16.10.21). От всех пациентов или их законных представителей было получено добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании.

**Критерии включения.** Установленный диагноз новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (U07.1; U07.2 по МКБ), подписанное добровольное информированное согласие, длительность госпитализации >48 ч, использование фавипиравира в качестве этиотропной терапии.

**Критерии не включения.** Противопоказания к назначению фавипиравира — тяжёлая печёночная недостаточность (класс C по Чайлд–Пью), почечная недостаточность тяжёлой или терминальной степени тяжести (скорость клубочковой фильтрации меньше 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), беременность, период грудного вскармливания.

**Методология исследования.** Всего в исследование было включено 150 пациентов, 85 из которых было проведено молекулярно-генетическое тестирование. Возраст всех пациентов составил от 21 до 94 лет, средний возраст — 65,16±14,7 лет. Из них 57 (38%) мужчин со средним возрастом 65,43±15 лет, и 93 (62%) женщины со средним возрастом 65,16±14,73 лет.

Подбор режима дозирования препарата производился в зависимости от массы тела пациента, согласно инструкции к лекарственному препарату: для пациентов с массой тела менее 75 кг — по 1600 мг два раза в день в первые сутки, далее — 600 мг два раза в день, для пациентов с массой тела более 75 кг — по 1800 мг два раза в день в первые сутки, далее — по 800 мг два раза в день.

В дальнейшем, с учётом цели исследования, пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (основная,  $n=31$ ) — у пациентов которой на фоне терапии фавипиравиром возникло повышение уровня аланиновой трансаминазы (АЛТ), кратное двум и более верхним границам нормы, из них 21 (67,74%) женщина, средний возраст которых составил 65,21±14,95 лет, а также 10 (32,26%) мужчин, средний возраст —

65,43±15 лет; 2-я группа (контрольная,  $n=119$ ) — у пациентов которой не возникло ЛПП на фоне терапии фавипиравиром, из них 72 (60,5%) женщины со средним возрастом 65,17±14,79 лет и 47 (39,5%) мужчин со средним возрастом 65,32±14,59 лет.

**Молекулярно-генетическое исследование.** Для оценки влияния генетических маркеров были выбраны полиморфизмы гена альдегидоксидазы (AOX1), участвующей в метаболизме фавипиравира и имеющей клинически значимые полиморфизмы. Также на базе отдела биоинформатики Института биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича был проведён дополнительный *in silico* поиск генов-кандидатов. Для этого использовалась компьютерная программа PASS 2022, которая по структурной формуле лекарственно-подобного органического соединения предсказывает профиль его биологической активности с применением оригинального алгоритма анализа взаимосвязей «структура–активность». С помощью данной программы было спрогнозировано, что фавипиравир является субстратом CYP1A2. На основании этого для генотипирования дополнительно были выбраны полиморфизмы гена CYP1A2.

У пациентов был произведён забор 10 мл венозной крови для последующего генотипирования. Генотипирование проводилось на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Образцы хранились при –80°C вплоть до момента экстракции ДНК. Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью набора реагентов S-Corb для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «Синтол», Россия). Концентрация экстрагированной ДНК определялась с помощью спектрофотометра для микрообъёмов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, NY, USA). Определение носительства однонуклеотидных полиморфизмов гена AOX1 (AG rs55754655, AG rs10931910) проводилось методом аллель-специфической ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США) с использованием коммерческих наборов «TaqMan® SNP Genotyping Assays» и Taq-Man Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems, США) для гена AOX1 и набора реагентов для амплификации ДНК в молекулярно-генетических исследованиях (ООО «ТестГен», Россия) для гена CYP1A2, согласно инструкции производителя. В каждую пробу вносилось 20 нг очищенной геномной ДНК исследуемых образцов. Программа амплификации включала в себя этап инкубации при 95°C в течение 10 мин, затем денатурация при 95°C — 15 с и отжиг при 60°C — 1 мин в течение 49 циклов. Сигнал флуоресценции развивался по соответствующему каналу: FAM и VIC.

**Статистическая обработка.** При статистической обработке полученных результатов использовался стандартный пакет прикладных программ StatSoft Statistica 10.0 (США). Для оценки нормальности распределения количественных данных использовались графический (гистограмма частот) и расчётный методы Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Учитывая нормальность распределения количественных данных, они были выражены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), для анализа межгрупповых различий количественных признаков использовался *t*-тест Стьюдента.

Качественные показатели представлены в виде абсолютных значений ( $n$ ) и процентов (%). Для выявления межгрупповых различий частот качественных параметров и оценки их статистической значимости использовался тест  $\chi^2$  (хи-квадрат Пирсона). При малом числе наблюдений рассчитывался точный тест Фишера. Для оценки корреляции между изучаемыми параметрами рассчитывалось отношение шансов (OR) развития события с 95% доверительным интервалом (ДИ). Распределение частот генотипов всех изученных полиморфных маркеров соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Также был проведён многофакторный регрессионный анализ для выявления предикторов, связанных с развитием лекарственного поражения печени на фоне терапии препаратом фавипиравир. Значимость выявленных различий и корреляций во всех видах анализа принималась на уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты

**Гендерно-возрастная характеристика.** При анализе демографических данных было выявлено, что возраст пациентов между изучаемыми группами имел статистически значимые различия ( $p=0,046$ ). В группе пациентов с лекарственным поражением печени средний возраст составил  $60,48 \pm 15,93$  лет относительно пациентов группы контроля, где средний возраст составил  $66,38 \pm 14,23$  лет. При этом группы были сопоставимы по гендерной принадлежности ( $\chi^2=0,547$ ,  $p=0,460$ ) (табл. 1).

**Анамнестические характеристики.** Согласно данным анамнеза, группы были сопоставимы по времени начала заболевания и по имеющимся в прошлом нежелательным реакциям при терапии лекарственными препаратами любых групп (см. табл. 1).

**Клинические характеристики.** При проведении анализа клинических характеристик было выявлено, что у пациентов с энцефалопатией достоверно реже развивается ЛПП, других статистически значимых различий не обнаружилось (см. табл. 1).

**Лабораторные данные.** Анализ показателей общего анализа крови до начала терапии фавипиравиром показал, что уровень лимфоцитов в группе с ЛПП был достоверно ниже, чем в группе контроля, а при анализе показателей биохимического анализа крови была выявлена статистически значимая разница в уровне ИЛ-6 и общего билирубина (табл. 2). Других различий, имеющих статистическую значимость, не наблюдалось.

**Лекарственная терапия.** При анализе патогенетической лекарственной терапии COVID-19 было выявлено, что совместное назначение ин-

**Таблица 1. Сравнение клинических характеристик**  
**Table 1. Comparison of clinical characteristics**

| Характеристики                                                                    | Количество пациентов, чел.         |                                     | Критерии достоверности ( $p, \chi^2$ ) | Отношение шансов (95% ДИ) |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
|                                                                                   | основная группа (группа 1), $n=31$ | группа контроля (группа 2), $n=119$ |                                        |                           |
| Возраст, лет                                                                      | $60,48 \pm 15,93$                  | $66,38 \pm 14,23$                   | 0,047**                                | —                         |
| Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>                                              | $29,71 \pm 5,71$                   | $28,46 \pm 5,70$                    | 0,277                                  | —                         |
| Нежелательные реакции в анамнезе                                                  | 4 (12,9%)                          | 10 (8,4%)                           | 0,443*                                 | 1,615<br>(0,470–5,545)    |
| <b>Тяжесть состояния</b>                                                          |                                    |                                     |                                        |                           |
| Средняя                                                                           | 19 (61,29%)                        | 74 (62,18%)                         | 0,927<br>0,008                         | 0,963<br>(0,427–2,169)    |
| Тяжёлая                                                                           | 11 (35,48%)                        | 34 (28,57%)                         | 0,454<br>0,560                         | 1,375<br>(0,596–3,173)    |
| Крайне тяжёлая                                                                    | 1 (3,23%)                          | 11 (9,24%)                          | 0,271*<br>—                            | 0,327<br>(0,041–2,637)    |
| Коморбидность                                                                     | 22 (70,97%)                        | 96 (80,67%)                         | 0,240<br>1,380                         | 0,586<br>(0,238–1,439)    |
| Сердечно-сосудистые заболевания                                                   | 21 (67,74%)                        | 90 (75,63%)                         | 0,372<br>0,795                         | 0,677<br>(0,286–1,602)    |
| Ишемическая болезнь сердца                                                        | 8 (25,81%)                         | 49 (41,18%)                         | 0,116<br>2,466                         | 0,497<br>(0,205–1,202)    |
| Хроническая сердечная недостаточность                                             | 4 (12,9%)                          | 16 (13,45%)                         | 0,937*<br>—                            | 0,954<br>(0,295–3,087)    |
| Артериальная гипертензия                                                          | 18 (58,06%)                        | 89 (74,79%)                         | 0,067<br>3,364                         | 0,467<br>(0,205–1,065)    |
| Сахарный диабет                                                                   | 8 (25,81%)                         | 29 (24,37%)                         | 0,869<br>0,027                         | 1,079<br>(0,436–2,673)    |
| Ожирение                                                                          | 12 (38,71%)                        | 32 (26,89)                          | 0,198<br>1,657                         | 1,717<br>(0,750–3,932)    |
| Хроническая болезнь почек                                                         | 1 (3,23%)                          | 11 (9,24%)                          | 0,271*<br>—                            | 0,327<br>(0,041–2,637)    |
| Активный рак (диагностированный менее, чем за 6 мес. до включения в исследование) | 1 (3,23%)                          | 16 (13,45%)                         | 0,110*<br>—                            | 0,215<br>(0,027–1,685)    |
| Энцефалопатия                                                                     | 6 (19,35%)                         | 58 (48,74%)                         | 0,003**<br>8,681                       | 0,252<br>(0,097–0,660)    |

**Примечание.** ОШ — отношение шансов. Здесь и в табл. 2–5: ДИ — доверительный интервал;  $p$  — уровень значимости;  $\chi^2$  — критерий согласия Пирсона. \* — значение  $p$  было сопоставимо с точным критерием Фишера. \*\* — различия статистически значимы.

**Note.** OR — odds ratio (OR). Here and tables 2–5: CI — confidence interval (CI);  $P$  — significance level;  $\chi^2$  — Pearson's chi-squared test. \* — The  $P$ -value was comparable with Fisher's exact test. \*\* — Differences are statistically significant.

Таблица 2. Сравнение лабораторных данных основной и контрольной групп

Table 2. Comparison of laboratory data of the main and control groups

| Показатели общего и биохимического анализов крови     | Основная группа (группа 1) <i>n</i> =31 | Группа контроля (группа 2) <i>n</i> =119 | Уровень значимости, <i>p</i> |
|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------|
| Уровень гемоглобина, г/л                              | 134,645±16,940                          | 131,975±19,743                           | 0,492                        |
| Количество лейкоцитов, 10 <sup>9</sup> /л             | 7,543±4,521                             | 7,115±4,437                              | 0,352                        |
| Абсолютное количество нейтрофилов, 10 <sup>9</sup> /л | 4,669±3,040                             | 4,824±3,034                              | 0,806                        |
| Абсолютное количество лимфоцитов, 10 <sup>9</sup> /л  | 1,103±0,644                             | 1,537±1,866                              | 0,022**                      |
| Аланиновая трансаминаза, МЕ/л                         | 41,048±31,192                           | 31,290±29,123                            | 0,104                        |
| Аспарагиновая трансаминаза, МЕ/л                      | 51,468±38,753                           | 40,496±24,864                            | 0,056                        |
| Коэффициент де Ритиса                                 | 1,400±0,500                             | 1,555±0,790                              | 0,302                        |
| Билирубин общий, мкмоль/л                             | 9,107±5,434                             | 16,783±26,267                            | 0,000**                      |
| Глюкоза, ммоль/л                                      | 7,013±2,556                             | 8,640±12,422                             | 0,478                        |
| Креатинин, мкмоль/л                                   | 96,981±20,348                           | 96,993±25,892                            | 0,998                        |
| Лактатдегидрогеназа, МЕ/л                             | 363,021±174,659                         | 325,070±148,582                          | 0,280                        |
| Ферритин, мг/моль                                     | 509,233±356,695                         | 416,288±362,538                          | 0,224                        |
| Интерлейкин-6, пг/мл                                  | 288,019±344,794                         | 152,490±274,674                          | 0,045**                      |
| Прокальцитонин, нг/мл                                 | 0,418±1,443                             | 0,494±2,241                              | 0,863                        |
| С-реактивный белок, мг/л                              | 81,726±71,607                           | 61,409±64,475                            | 0,134                        |
| D-димер, нг/мл                                        | 1103,376±1780,984                       | 1471,767±1975,052                        | 0,355                        |

Таблица 3. Сравнение патогенетической лекарственной терапии COVID-19

Table 3. Comparison of pathogenetic drug therapy for COVID-19

| Характеристики                              | Количество пациентов, чел.               |                                           | Критерии достоверности ( <i>p</i> , $\chi^2$ ) | Отношение шансов (95% ДИ) |
|---------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|
|                                             | основная группа (группа 1), <i>n</i> =31 | группа контроля (группа 2), <i>n</i> =119 |                                                |                           |
| Глюкокортикостероиды                        | 22 (70,97%)                              | 71 (59,66%)                               | 0,248<br>1,334                                 | 1,653<br>(0,701–3,896)    |
| Ингибиторы янус-киназ                       | 16 (51,61%)                              | 48 (40,34%)                               | 0,258<br>1,278                                 | 1,578<br>(0,713–3,490)    |
| Моноклональные антитела                     | 4 (12,9%)                                | 11 (9,24%)                                | 0,545*<br>—                                    | 1,455<br>(0,430–4,925)    |
| Ингибиторы интерлейкина                     | 27 (87,1%)                               | 69 (57,98%)                               | 0,003**<br>9,047                               | 4,891<br>(1,610–14,862)   |
| Повторное введение ингибиторов интерлейкина | 12 (38,71%)                              | 10 (8,4%)                                 | 0,000**<br>18,048                              | 6,884<br>(2,609–18,168)   |
| Эноксапарин натрия                          | 30 (96,77%)                              | 112 (94,12%)                              | 0,558<br>0,344                                 | 1,875<br>(0,222–15,836)   |

гибиторов интерлейкина с фавипиравиром, а также их повторное введение достоверно повышает вероятность ЛПП (табл. 3).

Анализ лекарственной терапии, применяемой для лечения сопутствующих заболеваний, показал, что совместное применение бета-адреноблокаторов и диуретических препаратов, а также антибактериальных препаратов из группы цефалоспоринов достоверно повышает риск развития ЛПП (табл. 4).

**Генетические данные.** При проведении анализа результатов молекулярно-генетического исследования нами не было выявлено статистически значимых различий в риске развития ЛПП в зависимости от имеющегося у пациента генотипа (табл. 5).

**Клинические исходы.** Средняя продолжительность госпитализации в 1-й группе составила 13,484±8,140 койко-дней, во 2-й группе — 9,345±7,577 койко-дней, в группе с ЛПП продолжительность госпитализации была достоверно больше (*p*=0,008).

**Многофакторный логистический регрессионный анализ.** С целью определения набора факторов, в наибольшей степени связанных с вероятностью развития ЛПП на фоне терапии фавипиравиром, выполнена процедура многофакторной логистической регрессии. В структуре многофакторной модели при пошаговом включении и исключении остался единственный положительный предиктор в виде совместного с фавипиравиром применения ингибиторов интерлейкина в схемах медикаментозной терапии COVID-19. Отрицательные результаты не исключают наличия связи между факторами по причине небольшого объема выборки.

## Обсуждение

Частота развития нежелательных реакций при терапии фавипиравиром, согласно исследованиям, достигает 93% [2]. Одной из наиболее частых нежелательных реакций при терапии фавипиравиром является повышение активно-



**Таблица 4. Сравнение лекарственной терапии сопутствующих заболеваний**  
**Table 4. Comparison of drug therapy for concomitant diseases**

| Характеристики                                | Количество пациентов, чел.         |                                     | Критерии достоверности ( $p, \chi^2$ ) | Отношение шансов (95% ДИ) |
|-----------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
|                                               | основная группа (группа 1), $n=31$ | группа контроля (группа 2), $n=119$ |                                        |                           |
| Статины                                       | 9 (29,03%)                         | 45 (37,82%)                         | 0,364<br>0,823                         | 0,673<br>(0,285–1,589)    |
| Бета-адреноблокаторы                          | 9 (29,03%)                         | 59 (49,58%)                         | 0,041**<br>4,190                       | 0,416<br>(0,177–0,978)    |
| Блокаторы кальциевых каналов                  | 4 (12,9%)                          | 26 (21,85%)                         | 0,267*<br>—                            | 0,530<br>(0,170–1,651)    |
| Антагонисты рецепторов ангиотензина II        | 5 (16,13%)                         | 34 (28,57%)                         | 0,160<br>1,979                         | 0,481<br>(0,171–1,355)    |
| Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента | 5 (16,13%)                         | 25 (21,01%)                         | 0,545<br>0,366                         | 0,723<br>(0,252–2,074)    |
| Агонисты имидазолиновых рецепторов            | 4 (12,9%)                          | 14 (11,76%)                         | 0,862*<br>—                            | 1,111<br>(0,338–3,649)    |
| Диуретики                                     | 4 (12,9%)                          | 37 (31,09%)                         | 0,043**<br>—                           | 0,328<br>(0,107–1,006)    |
| Салицилаты                                    | 5 (16,13%)                         | 20 (16,81%)                         | 0,928<br>0,008                         | 0,952<br>(0,326–2,778)    |
| Бета-лактамы антибактериальные препараты      | 18 (58,06%)                        | 51 (42,86%)                         | 0,130<br>2,290                         | 1,846<br>(0,829–4,111)    |
| Пенициллины                                   | 3 (9,68%)                          | 25 (21,01%)                         | 0,149*<br>—                            | 0,403<br>(0,113–1,434)    |
| Цефалоспорины                                 | 16 (51,61%)                        | 25 (21,01%)                         | 0,001**<br>11,597                      | 4,011<br>(1,747–9,208)    |
| Карбапенемы                                   | 1 (3,23%)                          | 6 (5,04%)                           | 0,669*<br>—                            | 0,628<br>(0,073–5,416)    |
| Фторхинолоны                                  | 2 (6,45%)                          | 5 (4,2%)                            | 0,597*<br>—                            | 1,572<br>(0,290–8,519)    |
| Нестероидные противовоспалительные средства   | 12 (38,71%)                        | 34 (28,57%)                         | 0,276<br>1,189                         | 1,579<br>(0,692–3,603)    |

**Таблица 5. Сравнение лекарственной терапии сопутствующих заболеваний**  
**Table 5. Comparison of drug therapy for concomitant diseases**

| Характеристики           | Генотип | Количество пациентов, чел.         |                                     | Критерии достоверности ( $p, \chi^2$ ) | Отношение шансов (95% ДИ) |
|--------------------------|---------|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
|                          |         | основная группа (группа 1), $n=31$ | группа контроля (группа 2), $n=119$ |                                        |                           |
| AOX1 (rs55754655) A>G    | AA      | 13 (92,86%)                        | 59 (83,1%)                          | 0,354<br>0,860                         | 2,644<br>(0,315–22,173)   |
|                          | AG      | 1 (7,14%)                          | 12 (16,9%)                          | 0,354*<br>—                            | 0,378<br>(0,045–3,172)    |
|                          | GG      | 0                                  | 0                                   | —                                      | —                         |
| AOX1 (rs10931910) A>G    | AA      | 7 (50%)                            | 18 (25,35%)                         | 0,064<br>3,422                         | 2,944<br>(0,908–9,546)    |
|                          | AG      | 5 (35,71%)                         | 41 (57,75%)                         | 0,131<br>2,286                         | 0,407<br>(0,124–1,337)    |
|                          | GG      | 2 (14,29%)                         | 12 (16,9%)                          | 0,809*<br>—                            | 0,819<br>(0,162–4,143)    |
| CYP1A2*F1 (rs762551) C>T | AA      | 6 (42,86%)                         | 39 (54,93%)                         | 0,408<br>0,684                         | 0,615<br>(0,193–1,957)    |
|                          | AC      | 7 (50%)                            | 28 (39,44%)                         | 0,463<br>0,539                         | 1,536<br>(0,486–4,853)    |
|                          | CC      | 1 (7,14%)                          | 4 (5,63%)                           | 0,826*<br>—                            | 1,288<br>(0,133–12,476)   |

сти трансаминаз, свидетельствующее о поражении печени [3]. В литературе имеются сообщения и о других нежелательных реакциях, таких как желудочно-кишечные нарушения (тошнота, рвота, диарея), гипергликемия и гиперурикемия [10]. В связи с этим возникает не-

обходимость в разработке персонализированного подхода для своевременного прогнозирования развития осложнений при использовании фавипиравира для лечения пациентов с COVID-19. Имеющиеся научные работы в этой области немногочисленны.

Согласно данным клинических рекомендаций по лекарственному поражению печени у взрослых, предрасполагающими к развитию идиосинкразического лекарственного поражения печени являются следующие факторы: возраст, пол, беременность, истощение, ожирение и сахарный диабет, а также ЛПП в анамнезе [11].

По данным одного проспективного исследования, проведенного в 2020–2021 гг. в Японии, возраст пациентов, получавших фавипиравир, не влиял на распространенность возникновения нежелательных реакций, за исключением повышения уровня АЛТ, которое достоверно чаще отмечалось у пациентов более молодого возраста [12]. В нашем исследовании мы также выявили, что пациенты, которые имели в среднем более молодой возраст, оказались больше подвержены развитию ЛПП, чем пациенты, у которых не развилось данной нежелательной реакции. Совместно с этим нами не было выявлено влияния половой принадлежности на повышение риска развития ЛПП.

В проведенном нами исследовании была выявлена связь между уровнем лимфоцитов и ИЛ-6 до начала терапии фавипиравиром с риском развития ЛПП: более низкий уровень лимфоцитов и более высокий уровень ИЛ-6 встречались достоверно чаще в группе с ЛПП. Как известно, для течения COVID-19 характерна ассоциация с активно происходящими процессами воспаления [13]. Факторы, ответственные за воспаление, в частности ИЛ-6, снижает активность и экспрессию ферментов системы цитохрома в печени, что приводит к изменению метаболизма препаратов [14, 15], это может повысить риск возникновения нежелательных реакций при фармакотерапии пациентов с COVID-19. Стойкое снижение количества лимфоцитов является одним из маркеров развития более тяжелого течения COVID-19 и также ассоциируется с активно происходящими процессами воспаления [16, 17].

В клинических рекомендациях по ЛПП у взрослых выделены препараты, повышающие риск развития ЛПП, к ним относятся: антибактериальные препараты, противогрибковые препараты системного действия, относящиеся к группе азолов, статины, нестероидные противовоспалительные средства, ацетилсалициловая кислота, антигипертензивные средства, среди которых выделяют некоторые бета-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и блокаторы кальциевых каналов [11]. Мы выявили, что совместная терапия бета-адреноблокаторами и фавипиравиром достоверно повышают риск развития ЛПП.

Антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов, в частности, наиболее часто используемый цефтриаксон может приводить к ЛПП [18,

19]. В нашем исследовании была выявлена ассоциация с более частым развитием ЛПП у пациентов, получающих терапию антибактериальными препаратами из группы цефалоспоринов совместно с фавипиравиром. Также мы выявили более высокий риск развития ЛПП у пациентов, получающих диуретическую терапию, однако данная закономерность требует дальнейшего изучения.

Согласно данным различных клинических исследований, самой распространенной НР при терапии ингибиторами ИЛ было поражение печени, проявляющееся повышением активности аланиновой и аспарагиновой трансаминаз, встречаемость которой составила от 3,7 до 35,8% [20–27]. В связи с этим, совместная терапия фавипиравиром с этой группой препаратов может повышать риск токсического действия на печень. Мы выявили, что при терапии фавипиравиром совместно с ингибиторами ИЛ достоверно повышается риск развития ЛПП.

**Ограничения исследования.** Ограничениями данного исследования были: небольшой объем выборки, в связи с чем некоторые возможные клинически значимые ассоциации между факторами не могли быть доказаны статистическими методами, ограниченное число генов-кандидатов и аллельных вариантов в анализе, ограниченный период наблюдения. Исследование соответствовало по дизайну типу «случай–контроль» и имеет соответствующие для данного типа исследования недостатки.

## Заключение

В результате анализа взаимосвязи развития ЛПП при терапии фавипиравиром с гендерно-возрастными, клинико-анамнестическими, лабораторными показателями и сопутствующей лекарственной терапией было выявлено, что у пациентов, имеющих в среднем более молодой возраст, более низкий уровень лимфоцитов, более высокий уровень ИЛ-6, а также получающих терапию антибактериальными препаратами из группы цефалоспоринов, бета-адреноблокаторами, диуретиками и ингибиторами ИЛ достоверно чаще развивалось ЛПП. Полученные данные свидетельствуют, что при назначении терапии фавипиравиром необходимо оценивать эти факторы и проводить более тщательный и детальный мониторинг клинических и лабораторных признаков поражения печени у данных групп пациентов, а в дальнейшей перспективе — разрабатывать методику персонализированного подхода к фармакотерапии пациентов с COVID-19.

**Финансирование.** Данная работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, тематика го-

сударственного задания «Разработка системы поддержки принятия врачебных решений для прогнозирования нежелательных лекарственных ре-

акций у пациентов с COVID-19 на основе фармакогенетического тестирования» (ЕГИСУ НИОКТР №122021800321-2).

## Литература/References

1. Reddy P K., Patil S., Khobragade A., Balki A., Raj A., Kalikar M. et al. Evaluation of the safety and efficacy of favipiravir in adult Indian patients with mild-to-moderate COVID-19 in a real-world setting. *Int J Gen Med.* 2022; 15: 4551–4563. doi: 10.2147/IJGM.S349241.
2. Shinkai M., Tsushima K., Tanaka S., Hagiwara E., Tarumoto N., Kawada I. et al. Efficacy and Safety of Favipiravir in Moderate COVID-19 Pneumonia Patients without Oxygen Therapy: A Randomized, Phase III Clinical Trial. *Infect Dis Ther.* 2021; 10 (4): 2489–2509. doi: 10.1007/s40121-021-00517-4.
3. Tukenmez Tigen E., Erturk Sengel B., Ozben B., Perk Gurun H., Balcan B., Bilgili B. et al. The safety and adverse event profile of favipiravir in the treatment of COVID-19 patients, Turkey. *J Infect Dev Ctries.* 2023; 17 (11): 1549–1555. doi: 10.3855/jidc.18041.
4. Hung D. T., Ghula S., Aziz J. M.A., Makram A. M., Taufik G. M., Abozaid A. A. et al. The efficacy and adverse effects of favipiravir on patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis of published clinical trials and observational studies. *Int J Infect Dis.* 2022; 120: 217–227. doi: 10.1016/j.ijid.2022.04.035.
5. Shiraki K., Daikoku T. Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections. *Pharmacol Ther.* 2020; 209: 107512. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107512.
6. Madelain V., Nguyen T. H., Olivo A., de Lamballerie X., Guedj J., Taburet A. M. et al. Ebola virus infection: review of the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs considered for testing in human efficacy trials. *Clin Pharmacokinet.* 2016; 55 (8): 907–923. doi: 10.1007/s40262-015-0364-1.
7. Dalvie D., Di L. Aldehyde oxidase and its role as a drug metabolizing enzyme. *Pharmacol Ther.* 2019; 201: 137–180. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.05.011.
8. Cheshmazar N., Dastmalchi S., Terao M., Garattini E., Hamzeh-Mivehroud M. Aldehyde oxidase at the crossroad of metabolism and pre-clinical screening. *Drug Metab Rev.* 2019 Nov; 51 (4): 428–452. doi: 10.1080/03602532.2019.1667379.
9. Moriyama A., Ueda H., Narumi K., Asano S., Furugen A., Saito Y. et al. Contribution of aldehyde oxidase to methotrexate-induced hepatotoxicity: in vitro and pharmacoeconomic approaches. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2024; 20 (5): 399–406. doi: 10.1080/17425255.2024.2352453.
10. Ruzhentsova T. A., Osheshnyuk R. A., Soluyanov T. N., Dmitrikova E. P., Mustafaev D. M., Pokrovskiy K. A. et al. Phase 3 trial of coronavir (favipiravir) in patients with mild to moderate COVID-19. *Am J Transl Res.* 2021; 13 (11): 12575–12587. doi: 10.2139/ssrn.3696907.
11. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Лекарственные поражения печени (ЛПП) у взрослых, 2022. Доступно по: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/747\\_1?ysclid=lm9n3chyjg835121911](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/747_1?ysclid=lm9n3chyjg835121911). Ссылка активна на: 01.05.2024. [Ministry of Health of the Russian Federation. Clinical recommendations. Drug-induced liver damage (DILD) in adults, 2022. Dostupno po: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/747\\_1?ysclid=lm9n3chyjg835121911](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/747_1?ysclid=lm9n3chyjg835121911). Ssylka aktivna na: 01.05.2024. (in Russian)]
12. Yanagisawa K., Takara K., Suga H., Saito A., Hayashi T., Igarashi T. et al. The assessment of the efficacy and safety of favipiravir for patients with SARS-CoV-2 infection: a multicenter non-randomized, uncontrolled single-arm prospective study. *Intern Med.* 2022; 61 (21): 3197–3204. doi: 10.2169/internalmedicine.9691-22.
13. Merad M., Blish C. A., Sallusto E., Iwasaki A. The immunology and immunopathology of COVID-19. *Science.* 2022; 375 (6585): 1122–1127. doi: 10.1126/science.abm8108.
14. Stavropoulou E., Pircalabioru G. G., Bezirtoglou E. The Role of Cytochromes P450 in Infection. *Front Immunol.* 2018; 9: 89. doi: 10.3389/fimmu.2018.00089.

15. Morgan E. T. Impact of infectious and inflammatory disease on cytochrome P450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2009; 85 (4): 434–438. doi: 10.1038/clpt.2008.302.
16. Gao Y. D., Ding M., Dong X., Zhang J. J., Kursat Azkur A., Azkur D. et al. Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy.* 2021; 76 (2): 428–455. doi: 10.1111/all.14657.
17. Wang F., Nie J., Wang H., Zhao Q., Xiong Y., Deng L. et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis.* 2020; 221 (11): 1762–1769. doi: 10.1093/infdis/jiaa150.
18. LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012. Ceftriaxone. 2021 Dec 20. [cited 2024 May 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548258/>.
19. Barman M., Al Hariri B., Rahman Mustafa A., Ambra N., Amjed I., Eid Nazzal Alharafsheh A. et al. Ceftriaxone-induced hepatotoxicity in patients with common medical infections in Qatar: A retrospective study. *Qatar Med J.* 2022; 2022 (3): 27. doi: 10.5339/qmj.2022.27.
20. Stone J. H., Frigault M. J., Serling-Boyd N. J., Fernandes A. D., Harvey L., Foulkes A. S. et al.; BACC Bay Tocilizumab Trial Investigators. Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383 (24): 2333–2344. doi: 10.1056/NEJMoa2028836.
21. Perrone F., Piccirillo M. C., Ascierto P. A., Salvarani C., Parrella R., Marata A. M. et al.; TOCIVID-19 investigators, Italy. Tocilizumab for patients with COVID-19 pneumonia. The single-arm TOCIVID-19 prospective trial. *J Transl Med.* 2020; 18 (1): 405. doi: 10.1186/s12967-020-02573-9.
22. Lescure F. X., Honda H., Fowler R. A., Lazar J. S., Shi G., Wung P. et al.; Sarilumab COVID-19 Global Study Group. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2021; 9 (5): 522–532. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00099-0.
23. Hermine O., Mariette X., Porcher R., Resche-Rigon M., Tharaux P. L., Ravaud P.; CORIMUNO-19 Collaborative Group. Effect of interleukin-6 receptor antagonists in critically ill adult patients with COVID-19 pneumonia: two randomised controlled trials of the CORIMUNO-19 Collaborative Group. *Eur Respir J.* 2022; 60 (2): 2102523. doi: 10.1183/13993003.02523-2021.
24. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C., Della-Torre E., Ripa M., Canetti D. et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020; 6 (2): e325–e331. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2.
25. Kyriazopoulou E., Poulakou G., Milonis H., Metallidis S., Adamis G., Tsiakos K. et al. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial. *Nat Med.* 2021; 27 (10): 1752–1760. doi: 10.1038/s41591-021-01499-z.
26. Huet T., Beaussier H., Voisin O., Jouvessomme S., Dauriat G., Lazareth I. et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020; 2 (7): e393–e400. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8.
27. Lomakin N. V., Bakirov B. A., Protsenko D. N., Mazurov V. I., Musaev G. H., Moiseeva O. M. et al. The efficacy and safety of levilimab in severely ill COVID-19 patients not requiring mechanical ventilation: results of a multicenter randomized double-blind placebo-controlled phase III CORONA clinical study. *Inflamm Res.* 2021; 70 (10–12): 1233–1246. doi: 10.1007/s00011-021-01507-5.

Поступила / Received 25.08.2024

Принята в печать / Accepted 10.09.2024

## Информация об авторах

Шевчук Юлия Викторовна — аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; врач-клинический фармаколог ГБУЗ «ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗМ», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2289-1900

Сычев Иван Витальевич — младший научный сотрудник НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; ас-

## About the authors

Yuliya V. Shevchuk — Postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy n.a. Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; clinical pharmacologist at the Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2289-1900

Ivan V. Sychev — Junior researcher at the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; postgradu-

пирант кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева», Саранск, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0227-2651

*Крюков Александр Валерьевич* — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; заведующий отделом клинической фармакологии ГБУЗ «ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗМ», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7903-2977

*Темирбулатов Ильяс Ильдарович* — аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1242-0833

*Мирзаев Карин Бадавинович* — д. м. н., доцент, проректор по научной работе и инновациям, профессор кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9307-4994

*Денисенко Наталья Павловна* — к. м. н., заместитель директора Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3278-5941

*Абдуллаев Шерзод Пардабоевич* — к. б. н., заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499

*Тучкова Светлана Николаевна* — младший научный сотрудник НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0001-2744-2752

*Вечорко Валерий Иванович* — д. м. н., главный врач ГБУЗ «ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗМ»; профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3568-5065

*Аверков Олег Валерьевич* — д. м. н., профессор, заместитель главного врача, руководитель регионального сосудистого центра ГБУЗ «ГКБ №15 им. О. М. Филатова ДЗМ», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3010-755X.

*Сычев Дмитрий Алексеевич* — д. м. н., профессор, Академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала; и. о. ректора, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680.

ate student of the Department of Faculty Therapy, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0227-2651

*Alexander V. Kryukov* — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy n.a. Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Head of the Department of Clinical Pharmacology of Moscow Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7903-2977

*Ilyas I. Temirbulatov* — Postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy n. a. Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1242-0833

*Karin B. Mirzaev* — D. Sc. in Medicine, Associate professor, Vice Rector for Research and Innovation, Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9307-4994

*Natalia P. Denisenko* — Ph. D. in Medicine, Deputy Director of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Associate Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3278-5941

*Sherzod P. Abdullaev* — Ph. D. in Biology, Head of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499

*Svetlana N. Tuchkova* — Junior researcher, Research Institute of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0001-2744-2752

*Valery I. Vechorko* — D. Sc. in Medicine, Chief Physician of the Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov; Professor of the Department of Healthcare Organization and Public Health, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3568-5065

*Oleg V. Averkov* — D. Sc. in Medicine, Professor, Deputy Chief Physician, Head of the Regional Vascular Center, Moscow Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3010-755X

*Dmitry A. Sychev* — D. Sc. in Medicine, Professor, Member of the RAS, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B. E. Votchal; acting Rector, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680



# Случай врождённого комбинированного иммунодефицита с тяжёлой атопией: целесообразность ранней диагностики и особенности терапевтических стратегий

\*Е. Н. СЕРЕБРЯКОВА<sup>1,2</sup>, Т. В. ШИЛОВА<sup>1,2</sup>, А. С. КОЖЕВНИКОВ<sup>1,2</sup>, А. М. РАЗЖИВИН<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск, Россия

<sup>2</sup> Челябинская областная детская клиническая больница, Челябинск, Россия

## Резюме

В статье представлено описание случая врождённого комбинированного иммунодефицита с тяжёлой атопией — дефицита регулятора цитогенеза (DOCK8). В статье рассматриваются современные представления о роли белка DOCK8 в обеспечении основных функций иммунной системы, следствиях потери функции белка DOCK8, эпидемиологии, клинических проявлениях, современных принципах диагностики и лечения дефицита DOCK8.

**Ключевые слова:** дефицит DOCK8; врождённый иммунодефицит; диагностика; клинические проявления; лечение

**Для цитирования:** Серебрякова Е. Н., Шилова Т. В., Кожевников А. С., Разживин А. М. Случай врождённого комбинированного иммунодефицита с тяжёлой атопией: целесообразность ранней диагностики и особенности терапевтических стратегий. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 56–60. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-56-60>. EDN: HNYAYH.

## The Case of Congenital Combined Immunodeficiency with Severe Atopy: The Importance of Early Diagnosis and Features of Therapeutic Strategies

\*ELENA N. SEREBRYAKOVA<sup>1,2</sup>, TATIANA V. SHILOVA<sup>1,2</sup>, ARTEM S. KOZHEVNIKOV<sup>1,2</sup>, ARTEM M. RAZZHIVIN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup> Chelyabinsk Regional Children's Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

## Abstract

The article describes a case of congenital combined immunodeficiency with severe atopy – deficiency of the cytogenesis regulator (DOCK8) The article examines modern ideas about the role of DOCK8 protein in ensuring the basic functions of the immune system, the consequences of loss of function of DOCK8 protein, epidemiology, clinical manifestations, modern principles of diagnosis and treatment of DOCK8 deficiency.

**Keywords:** DOCK8 deficiency; congenital immunodeficiency; diagnosis; clinical manifestations; treatment

**For citation:** Serebryakova E. N., Shilova T. V., Kozhevnikov A. S., Razzhivin A. M. The case of congenital combined immunodeficiency with severe atopy: the importance of early diagnosis and features of therapeutic strategies. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (9–10): 56–60. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-56-60>. EDN: HNYAYH.

## Введение

В последние годы наблюдается неуклонный рост числа не диагностированных ранее врождённых дефектов иммунной системы, связанный с внедрением в клиническую практику экономичных по затратам и времени методов секвенирования ДНК. Дефицит DOCK8 — врождённый комбинированный иммунодефицит, характеризующийся дис-

функцией Т- и В-лимфоцитов, ранее относили к аутосомно-рецессивным синдромам гиперпродукции IgE. Более глубокое понимание функций белка DOCK8 позволило отнести данное заболевание к группе комбинированных врождённых иммунодефицитов. Ген *DOCK8* располагается на коротком плече 9 хромосомы, включает 48 экзонов и кодирует балок массой около 190 кДа. Делеции — самый ча-

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: doctor-hit@yandex.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: doctor-hit@yandex.ru



EDN: HNYAYH

стый вид мутаций, обнаруживаемых в гене *DOCK8*, результатом которых чаще всего становится потеря функции белка *DOCK8*. Подсемейство белков *DOCK* включает 11 белков — атипичных факторов обмена гуаниновых нуклеотидов, в частности, белок *DOCK8* регулирует ремоделирование цитоскелета и полимеризацию актина в клетках иммунной системы, тем самым, оказывая влияние на клеточную морфологию, миграцию, различные сигнальные пути и транспорт белка в лимфоцитах.

Потеря белка *DOCK8* нарушает функциональную активацию и секрецию цитокинов в Т-лимфоцитах, нарушает передачу сигнала рецепторами В-лимфоцитов. Белок *DOCK8*, таким образом, играет важную роль в осуществлении функций врождённого и адаптивного иммунитета. При наличии дефицита *DOCK8* снижается выживаемость лимфоцитов, страдает их цитотоксическая, регуляторная функция, снижается способность к синтезу интерферона-альфа.

В результате дефицита *DOCK8* развивается высокая восприимчивость к вирусным инфекциям кожи (включая вирусы герпеса, контагиозный моллюск, вирус ветряной оспы), к злокачественным новообразованиям, имеет место повышенная восприимчивость к грибковой и бактериальной инфекции, у пациентов с дефицитом *DOCK8* имеют место рецидивирующие инфекции верхних и нижних дыхательных путей, поражение ЦНС, различные аутоиммунные проявления, гиперпродукция IgE, тяжёлая пищевая аллергия, атопический дерматит, бронхиальная астма. Вариабельности фенотипов дефицита *DOCK8* способствует остаточная продукция белка *DOCK8* [1, 2].

Заболевание встречается редко, примерно в 1 случае на 1 000 тыс. населения, выявляется преимущественно в популяциях с высокой частотой близкородственных браков. В мире описано около 200 пациентов с дефицитом *DOCK8* и выявленными мутациями в гене *DOCK8*, это преимущественно турецкое и арабское население, однако случаи дефицита *DOCK8* встречаются во всех этнических группах [1, 3].

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) на сегодняшний день считается эффективным методом лечения дефицита *DOCK8*. ТГСК улучшает течение экземы, аллергии, снижает восприимчивость к инфекциям. В отсутствие ТГСК проводится антибактериальная, противовирусная, противогрибковая терапия, используется лечение иммуноглобулинами, иммуносупрессивная терапия и терапия препаратами интерферона. Пациенты с дефицитом *DOCK8* без ТГСК часто погибают в детском возрасте от сепсиса, поражения ЦНС [2, 4, 5]. Для дефицита *DOCK8* в настоящее время разрабатываются стратегии генной терапии, в частно-

сти, редактирование генома с использованием технологий CRISPR/Cas [1].

## Материал и методы

Мы представляем описание случая дефицита *DOCK8*, подтверждённого выявленной мутацией в гене *DOCK8* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции.

## Результаты

Ребёнок М., мальчик, 4,5 лет, поступил в отделение аллергологии и иммунологии Челябинской областной детской клинической больницы (ЧОДКБ) с жалобами на зуд, высыпания на коже, повышение температуры тела.

Из анамнеза заболевания известно, что у ребёнка с 4 мес. отмечается упорный, рецидивирующий атопический дерматит в паховой области, со второго полугодия жизни — распространённый, осложняющийся периодически инфицированием, требующий стационарного лечения, плохо поддающийся стандартной терапии атопического дерматита. В возрасте до двух лет жизни ребёнок переносит повторные острые респираторные заболевания, протекающие с синдромом бронхиальной обструкции, абсцесс мягких тканей, лимфаденит, панариций, пневмонию, отит. В возрасте 2 лет ребёнку установлен диагноз «Первичный иммунодефицит, недифференцированный» во время госпитализации в ЧОДКБ, по улучшению состояния ребёнок выписан из стационара, наблюдается амбулаторно педиатром и аллергологом иммунологом, получает симптоматическую, антибактериальную, противовоспалительную терапию местно, на поражённые участки кожи, системную антибактериальную терапию перорально при наличии показаний. При нарастании тяжести состояния ребёнок получает лечение в стационаре по месту жительства — системную антибактериальную терапию парентерально, противовоспалительную терапию. В 2,5 года у ребёнка развивается тяжёлое распространённое поражение контагиозным моллюском (диагноз уточнён проведением биопсии кожи), не поддающееся лечению (рисунок).

Ребёнок госпитализируется в ЧОДКБ, где при лабораторном обследовании выявляется гиперлейкоцитоз ( $30,7 \times 10^9/\text{л}$ ), гиперэозинофилия (64,8%), повышение уровня IgE (6216 ЕД/мл), по результатам молекулярно-генетического исследования ДНК методом клинического секвенирования получены данные за наличие гомозиготной делеции сегмента хромосомы chr9 в области гена *DOCK8*. Ребёнок направляется на госпитализацию в Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Ро-



**Тяжёлое поражение кожи генитальной области контагиозным моллюском пациента с дефицитом DOCK8.**

**Severe genital skin lesion with molluscum contagiosum in a patient with DOCK8 deficiency.**

гачева г. Москвы, где при обследовании выявлено значительное снижение экспрессии белка DOCK8 лимфоцитами, молекулярно-генетическое исследование методом мультиплексной полимеразной цепной реакции подтвердило делецию в гене *DOCK8*, включающую экзоны с 6 по 25 (chr9p24.3:302060-386850) в гомозиготном состоянии, и, таким образом, подтверждён диагноз врождённого комбинированного иммунодефицита — дефицита DOCK8.

На третьем и четвёртом году жизни у ребёнка сохраняется тяжёлое течение атопического дерматита, тяжёлое течение бактериальных инфекций — пневмония, осложнившаяся развитием дыхательной недостаточности, оксигенотерапии и переводом на искусственную вентиляцию лёгких, абсцесс плеча, абсцесс волосистой части головы, панариций, вирусных инфекций — тяжёлая распространённая форма контагиозного моллюска, в крови в высоком титре обнаружены цитомегаловирусная инфекция, вирус Эпштейна–Барр. Ребёнок получает комбинированную антибактериальную терапию, противогрибковую терапию, заместительную терапию иммуноглобулином, препаратами интерферона 2-альфа, ганцикловиром, иммуносупрессивную терапию ритуксимабом (антитела к CD20). Учитывая отсутствие контроля над заболеванием, родителям ребёнка была предложена ТГСК, от которой родители ребёнка отказались.

Из анамнеза жизни известно, что ребёнок родился от близкородственного брака (родители двоюродные брат и сестра), от 4-й беременности, протекавшей на фоне кольпита, цервицита, 3 своевременных родов (одна из беременностей — регресс), один из сибсов имеет аналогичный дефицит DOCK8, подтверждённый молекулярно-генетическим методом, один из сибсов здоров, масса тела при рождении 3480 г, по Апгар 8–9 баллов, с рождения и в раннем возрасте на грудном вскармливании, в неонатальном периоде не болел.

Во время последней госпитализации в течение 4 мес. состояние ребёнка с выраженной отрицательной динамикой, согласие родителей на ТГСК получено, однако, учитывая, что для поиска подходящего для ТГСК донора (здоровый сибс для ТГСК не подошёл), подготовки к ТГСК ребёнка необходимо время, ТГСК провести не удалось, так как состояние ребёнка за время госпитализации прогрессивно ухудшилось за счёт инфекционного

поражения ЦНС (менингоэнцефалит грибковой этиологии). Несмотря на интенсивную посиндромную терапию, наступил летальный исход.

## Обсуждение

Атопия может быть проявлением врождённых дефектов иммунной системы, в том числе признаком дефицита DOCK8, однако в силу неспецифичности таких проявлений, как атопический дерматит, диагностика дефицита DOCK8 в раннем возрасте может быть затруднена. Учитывая, что прогноз при дефиците DOCK8 зависит от ранней диагностики и ранней ТГСК, важно провести молекулярно-генетическую диагностику дефицита DOCK8 в ранние сроки, что требует учёта клинических характеристик, позволяющих из группы детей с атопическим дерматитом выделить группу риска по врождённым дефектам иммунной системы для проведения молекулярно-генетического исследования.

Для дефицита DOCK8 характерным является возникновение атопического дерматита с первых месяцев жизни, атопический дерматит при дефиците DOCK8 плохо поддаётся стандартному лечению, течёт упорно. Экзема локализуется в ретроаурикулярных, подмышечных, крестцовой и генитальной областях [6–8]. У представленного нами пациента упорный атопический дерматит в первом полугодии жизни, плохо поддающийся лечению, имел место в генитальной и крестцовой области. Наличие кровнородственного брака у пациента с выявленной мутацией в гене *DOCK8* увеличивает вероятность обнаружения мутации у сибсов, которым показано молекулярно-генетическое исследование с целью ранней диагностики дефицита DOCK8 и подготовки поражённых сибсов к ТГСК.

Следует учитывать, что наличие клинических проявлений дефицита DOCK8 и отсутствие мута-



ций в гене *DOCK8* при проведении рутинных молекулярно-генетических тестов не позволяет исключить дефицит *DOCK8*, так как мутация в гене *DOCK8* может располагаться в интронных областях, которые не захватываются при полном экзомном секвенировании, данная ситуация требует расширенных молекулярно-генетических тестов и изучения качественных и количественных характеристик лимфоцитов методом проточной цитометрии [9]. В нашем случае молекулярно-генетический анализ в семье пациента выявил аналогичную мутацию в гене *DOCK8* у одного из сибсов, второй сибс не имел мутации в гене *DOCK8*.

Согласно данным [9], принятие решения о ТГСК родителями несовершеннолетнего ребёнка при дефиците *DOCK8* сопряжено со взвешиванием рисков, связанных с ТГСК и рисками, связанными с течением заболевания, процесс принятия решения о проведении ТГСК может занять срок от нескольких месяцев до нескольких лет. В нашем случае родители отказались от предложенной их ребёнку ТГСК, а после получения согласия родителей на ТГСК, провести ТГСК пациенту не удалось по причине резкого ухудшения состояния и наступления летального исхода.

Для пациентов с дефицитом *DOCK8* характерно снижение показателей TREC/KREC, используемых при проведении расширенного неонатального скрининга на врождённые дефекты иммунной системы [10, 11]. Введение с 2023 г. программ расширенного неонатального скрининга на врождённые иммунодефициты на территории Российской Федерации позволит диагностировать врождённые дефекты иммунной системы в ранние сроки, своевременно проводить молекулярно-генетический анализ у детей с риском врождённых дефектов иммунной системы, проводить лечение до начала возникновения осложнений.

**Ограничения в исследовании.** Наш пациент родился до внедрения на территории Российской Федерации программы расширенного неонатального скрининга на врождённые иммунодефициты, мы не имеем данных об уровне TREC/KREC в неонатальном периоде у нашего пациента.

## Литература/References

1. Ravendran S., Hernández S. S., König S., Bak R. O. CRISPR/Cas-Based Gene Editing Strategies for *DOCK8* Immunodeficiency Syndrome. *Front Genome Ed.* 2022 Mar 17;4:793010. doi: 10.3389/fgeed.2022.793010.
2. Liquidano-Pérez E., Maza-Ramos G., Yamazaki-Nakashimada M. A., Barragán-Arévalo T., Lugo-Reyes S. O., Scheffler-Mendoza S., Espinosa-Padilla S. E., González-Serrano M. E. Combined immunodeficiency due to *DOCK8* deficiency. State of the art. *Rev Alerg Mex.* 2022 Jul 1; 69 (1): 31–47. Spanish. doi: 10.29262/ram.v69i1.1104.
3. Mamtazmanesh S., Rayzan E., Zoghi S., Shahkarami S., Molatefi R., Mohammadzadeh I., Ghaffari J., Mahmoudi H., Dmytrus J., Segarra-Roca A., Somekh I., Witzel M., Hauck F., Boztug K., Klein C., Rezaei N. Novel variants of *DOCK8* deficiency in a case series of Iranian patients. *endocr metab immune disord drug targets.* 2022; 22 (1): 159–168. doi: 10.2174/1871530321666210226143912.

## Заключение

Дефицит *DOCK8* является редким комбинированным врождённым иммунодефицитом, связанным с потерей функции белка *DOCK8*, который играет важную роль в осуществлении функций врождённого и адаптивного иммунитета. Внедрение в клиническую практику экономичных по затратам и времени методов секвенирования ДНК позволяет диагностировать дефицит *DOCK8* в ранние сроки и своевременно провести ТГСК — эффективный метод лечения *DOCK8*. Дети с упорным течением атопического дерматита с первых месяцев жизни, плохо поддающимся лечению, в сочетании с другими признаками атопии, рецидивирующими вирусными и бактериальными заболеваниями, аномальными результатами неонатального скрининга на врождённые иммунодефициты, требуют исключения врождённых аномалий иммунной системы, в том числе дефицита *DOCK8*.

## Дополнительная информация

**Благодарности.** Коллектив авторов признателен врачам государственного автономного учреждения здравоохранения «Челябинская областная детская клиническая больница» (г. Челябинск), врачам Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева (г. Москва), проводившим лабораторные, инструментальные исследования, лечение пациента с редким врождённым комбинированным иммунодефицитом.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов.** Серебрякова Е. Н. — написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи, Шилова Т. В. — редактирование текста, предоставление иллюстративных материалов и материалов генетического исследования, Кожевников А. С. — наблюдение за пациентом, сбор данных, Разживин А. М. — наблюдение за пациентом, сбор данных.

4. Ollech A., Mashiah J., Lev A., Simon A. J., Somech R., Adam E., Barzilai A., Hagin D., Greenberger S. Treatment options for *DOCK8* deficiency-related severe dermatitis. *J Dermatol.* 2021 Sep; 48 (9): 1386–1393. doi: 10.1111/1346-8138.15955.
5. Silbert S., Cole K., Bedoya S. Z., Freeman A. E., Whangbo J. S., Avila D. N., Su H. C., Yates B., Epstein M., Wendler D. S., Pai S. Y., Hickstein D. D., Wiener L., Shah N. N. Tandem hematopoietic stem cell transplant considerations in families with multiple siblings affected by *DOCK8* deficiency. *Bone Marrow Transplant.* 2022 Nov; 57 (11): 1721–1723. doi: 10.1038/s41409-022-01778-4.
6. Sams L., Wijetilleka S., Ponsford M., Gennery A., Jolles S. Atopic manifestations of inborn errors of immunity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2023 Dec 1; 23 (6): 478–490. doi: 10.1097/ACI.0000000000000943.
7. Gracci S., Novelli T., D'Elia S., Bernardini R., Peroni D. Hyper IgE syndromes. *Curr Pediatr Rev.* 2024; 20 (3): 253–264. doi: 10.2174/1573396320666230912103124.



8. Kasap N., Kara A., Celik V., Bilgic Eltan S., Akay Haci I., Kose H., Aygun A., Akkelle E., Yakici N., Guner S. N., Reisli I., Keles S., Cekic S., Kilic S. S., Karaca N. E., Gulez N., Genel F., Ozen A., Yucelten A. D., Karakoc-Aydiner E., Schmitz-Abe K., Baris S. Atypical localization of eczema discriminates DOCK8 or stat3 deficiencies from atopic dermatitis. *J Clin Immunol.* 2023 Nov; 43 (8): 1882–1890. doi: 10.1007/s10875-023-01554-z.
9. Tangye S. G., Gray P. E., Pillay B. A., Yap J. Y., Figgett W. A., Reeves J., Kummerfeld S. K., Stoddard J., Uzel G., Jing H., Su H. C., Campbell D. E., Sullivan A., Burnett L., Peake J., Ma C. S. Hyper-IgE syndrome due to an elusive novel intronic homozygous variant in DOCK8. *J Clin Immunol.* 2022 Jan; 42 (1): 119–129. doi: 10.1007/s10875-021-01152-x.
10. Shakerian L., Nourizadeh M., Badalzadeh M., Fazlollahi M. R., Shokouhi Shoormasti R., Saghaei S., Esmaeili B., Alizadeh Z., Borte S., Houshmand M., Hammarström L., Pourpak Z. Investigating the variation of TREC/KREC in combined immunodeficiencies. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2021 Aug 7; 20 (4): 402–412.
11. Dasouki M., Jabr A., Aldakheel G., Elbadaoui F., Alazami A. M., Al-Saud B., Arnaout R., Aldhekri H., Alotaibi I., Al-Mousa H., Hawwari A. TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity. *Clin Exp Immunol.* 2020 Oct; 202 (1): 60–71. doi: 10.1111/cei.13484.

Поступила / Received 15.09.2024

Принята в печать / Accepted 01.10.2024

## Информация об авторах

*Серебрякова Елена Николаевна* — д. м. н., доцент, профессор кафедры госпитальной педиатрии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4692-4802. ResearcherID: ABG-8330-2021. eLIBRARY SPIN-код: 8613-5714. Scopus Author ID: 36020648000

*Шилова Татьяна Васильевна* — ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9826-9654. eLIBRARY SPIN-код: 2028-9392. Scopus Author ID: 57211799427

*Кожевников Артем Сергеевич* — ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID ID: 0009-0008-5400-3043. ResearcherID: RID72103. eLIBRARY SPIN-код: 9614-1388. Scopus Author ID: 58103491300

*Разживин Артем Михайлович* — ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID ID: 0009-0001-4031-2821. ResearcherID: LIF-4379-2024.

## About the authors

*Elena N. Serebryakova* — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Professor of the Department of Hospital Pediatrics, South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4692-4802. ResearcherID: ABG-8330-2021. eLIBRARY SPIN-code: 8613-5714. Scopus Author ID: 36020648000

*Tatiana V. Shilova* — South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9826-9654. eLIBRARY SPIN-code: 2028-9392. Scopus Author ID: 57211799427

*Artem S. Kozhevnikov* — South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. ORCID ID: 0009-0008-5400-3043. ResearcherID: RID72103. eLIBRARY SPIN-code: 9614-1388. Scopus Author ID: 58103491300

*Artem M. Razzhivin* — South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. ORCID ID: 0009-0001-4031-2821. ResearcherID: LIF-4379-2024.

# Клиническая метагеномика — новый подход в диагностике инфекционных заболеваний человека

\*В. В. ГОСТЕВ<sup>1,2</sup>, Л. И. ЖЕЛЕЗОВА<sup>1</sup>, П. С. ЧУЛКОВА<sup>1</sup>,  
А. А. АВДЕЕВА<sup>1</sup>, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ<sup>1</sup>, В. А. АГЕЕВЕЦ<sup>1</sup>,  
И. А. ЦВЕТКОВА<sup>1,3</sup>, А. В. ЖУРАВЛЕВ<sup>1,4</sup>, С. В. СИДОРЕНКО<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

Несмотря на значительные успехи фундаментальных биологических и медицинских наук, инфекционные болезни остаются на глобальном уровне одной из ведущих причин смертей. Диагностика жизнеугрожающих состояний, таких как бактериемия, сепсис, менингит и энцефалит не редко ограничена низкой чувствительностью культурального метода. Использование ПЦР, как и разных серологических подходов, ограничено набором специфических праймеров, ДНК-зондов, антител и антигенов, которые специфичны только для узкого круга возможных потенциальных возбудителей. Точная и своевременная лабораторная диагностика инфекционных заболеваний имеет критическое значение. В последнее десятилетие сформировалось отдельное направление — клиническая метагеномика, как новый подход в медицинской микробиологии. Это диагностика без постановки клинической гипотезы (*hypothesis free diagnostics*), поскольку метод позволяет выявить потенциально любой патоген, в независимости от его биологической природы. В обзоре рассматриваются возможности и эффективность использования методов метагеномного секвенирования для идентификации бактериальных, вирусных, грибковых и паразитарных возбудителей инфекционных заболеваний человека.

**Ключевые слова:** клиническая метагеномика; метагеномное секвенирование; диагностика инфекций; молекулярная диагностика; таргетное секвенирование

Для цитирования: Гостев В. В., Железова Л. И., Чулкова П. С., Авдеева А. А., Калиногорская О. С., Агеевец В. А., Цветкова И. А., Журавлев А. В., Сидоренко С. В. Клиническая метагеномика — новый подход в диагностике инфекционных заболеваний человека. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 61–70. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-61-70>. EDN: KMMVLH.

## Clinical Metagenomics: a New Approach to Diagnostics of Infectious Diseases

\*VLADIMIR V. GOSTEV<sup>1,2</sup>, LUDMILA I. GELEZOVA<sup>1</sup>, POLINA S. CHULKOVA<sup>1</sup>,  
ALISA A. AVDEEVA<sup>1</sup>, OLGA S. KALINOGORSKAYA<sup>1</sup>, VLADIMIR A. AGEEVETS<sup>1</sup>,  
IRINA A. TSVETKOVA<sup>1,3</sup>, ANTON V. ZHURAVLEV<sup>1,4</sup>, SERGEY V. SIDORENKO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Clinical Infectious Diseases Hospital named after S. P. Botkin, Saint Petersburg, Russia

## Abstract

Globally, infectious diseases continue to be one of the leading causes of death, even in the face of substantial advancements in basic biological and medical sciences. Diagnostics of life-threatening conditions, including bacteremia, sepsis, meningitis, and encephalitis, is frequently constrained by the low sensitivity associated with culture methods. The application of PCR and various serological methods is constrained by a defined set of specific primers, DNA probes, antibodies, and antigens that are restricted to a limited range of potential pathogens. The accuracy and timeliness of laboratory diagnostics for infectious diseases are critical. In the past decade, a new discipline has emerged — clinical metagenomics, representing a novel approach in medical microbiology. Because clinical metagenomics can identify potentially any pathogen, regardless of its biological nature, it is a hypothesis-free diagnostic approach. The benefits and efficiency of using metagenomic

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: [guestvv11@gmail.com](mailto:guestvv11@gmail.com)



\*Correspondence to:  
E-mail: [guestvv11@gmail.com](mailto:guestvv11@gmail.com)

EDN: KMMVLH



methods of sequencing to identify bacterial, viral, fungal, and parasitic pathogens of infectious diseases in humans are discussed in this review.

**Keywords:** clinical metagenomics; metagenomic sequencing; infection diagnostics; molecular diagnostics; targeted sequencing

**For citation:** Gostev V. V., Gelezova L. I., Chulkova P. S., Avdeeva A. A., Kalinogorskaya O. S., Ageevets V. A., Tsvetkova I. A., Zhuravlev A. V., Sidorenko S. V. Clinical metagenomics: a new approach to diagnostics of infectious diseases. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 61–70. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-61-70>. EDN: KMMVLH.

## Введение

Несмотря на значительные успехи фундаментальных биологических и медицинских наук, инфекционные болезни остаются на глобальном уровне одной из ведущих причин смертей. Так, в мире в 2019 г. инфекции явились причиной 13,7 млн смертей, из которых 7,7 млн были связаны с бактериями, а остальные — с вирусами, грибами и простейшими [1]. Эффективная этиотропная терапия указанных инфекций основана на быстрой и точной диагностике. В этой связи точная и своевременная идентификация возбудителя инфекционных заболеваний имеет критическое значение [2]. Долгое время золотым стандартом лабораторной диагностики инфекционных заболеваний человека был культуральный метод, позволяющий выделить возбудителя в чистой культуре. Однако хорошо известны и существенные ограничения данного метода, прежде всего низкая чувствительность, так для получения роста микроорганизма необходимо не менее  $10^3$  клеток [3]. Такую клеточную концентрацию не часто можно обнаружить в биологических образцах, особенно при исследовании жидкостей, полученных из стерильных локусов — крови и ликвора.

Помимо этого, время анализа, необходимого для получения роста культуры и её идентификации в среднем составляет более 48 ч. Существенным ограничением культурального метода является невозможность выявления вирусных возбудителей. Различные молекулярные методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (полимеразная цепная реакция, ПЦР) характеризуются напротив высокой чувствительностью и специфичностью с минимальным временем выполнения исследования. С помощью ПЦР расширились возможности диагностики вирусных инфекций. Диагностическая ценность серологических подходов чаще всего связана с выявлением вирусных заболеваний и нередко требует проведение исследований парных сывороток человека.

Необходимо отметить также и синдромальную диагностику, обеспечивающую высокую скорость выполнения исследований. Пожалуй, самым высоким стандартом качества характеризуется технология BioFire® FilmArray®, с помощью которой менее чем за 3 ч можно провести идентификацию приоритетных бактериальных, вирусных или грибковых патогенов [4]. Использование ПЦР, как и разных серологических подходов ограничено набором специфических праймеров, ДНК-зондов, антител

и антигенов, соответственно которые специфичны только для узкого круга возможных потенциальных возбудителей. Как правило, доступные коммерческие тест-системы покрывают только наиболее часто встречающиеся возбудители. В таблице представлена сравнительная характеристика существующих подходов для этиологической диагностики инфекционных заболеваний. Таким образом, традиционная лабораторная диагностика направлена на использование определённых наборов реагентов для выявления конкретных патогенов. Выбор метода детекции и выбор определённых диагностикумов зависит от клинической картины исследуемого пациента, то есть при наличии «клинической гипотезы».

## Принцип метода клинической метагеномики

В последнее десятилетие сформировалось отдельное направление в микробиологии — клиническая метагеномика (clinical metagenomics). Это направление включает два подхода — собственно метагеномное секвенирование (МС) и таргетное секвенирование. Принцип метагеномного секвенирования основан на секвенировании всех молекул ДНК и/или РНК в исследуемом биологическом образце с использованием высокопроизводительных секвенаторов поколения NGS (next-generation sequencing), способных прочитывать  $>50$  Gb (млрд п. н.).

Основная особенность метода заключается в отсутствии необходимости предположения наличия какого-либо патогена. Иными словами, это диагностика без постановки клинической гипотезы (hypothesis free diagnostics), поскольку метод позволяет выявить потенциально любой патоген, независимо от его биологической природы. Данный метод включает несколько лабораторных этапов. Это выделение нуклеиновых кислот из исследуемого образца, подготовка ДНК-библиотек, процесс секвенирования на приборе, и биоинформатический анализ полученных данных [5].

В качестве данных выступают короткие прочтения (риды) ДНК или РНК, которые сравниваются с базами данных, содержащими ДНК-последовательности геномов живых организмов. Как правило, для проведения метагеномного секвенирования необходимо получать большое количество прочтений —  $>10$  млн прочтений на образец. При работе со стерильными локусами

(кровь, ликвор, биоптаты органов) получают количественный результат — ДНК-прочтения соответствующие ДНК человека, и «не человеческие» ДНК-прочтения, которые потенциально могут являться фрагментами патогенов. Идентификацию ДНК-прочтений осуществляют через существующие базы данных нуклеотидных последовательностей. Количественное соотношение фрагментов ДНК человека и потенциального возбудителя при проведении клинической метагеномики, как правило, имеет соотношение  $99,99 \text{ к} < 0,1$ , соответственно, что требует получения сиквенса с большой глубиной покрытия, как отмечалось ранее, более 10 млн прочтений на образец.

На сегодняшний день МС возможно осуществлять на различных платформах секвенирования, например, на приборах линейки Illumina® или MGI. Получение результатов во многом зависит от пробоподготовки, времени работы самого прибора и биоинформатического анализа результатов, что в целом может составлять более 72 ч. Платформа одномолекулярного нанопорового секвенирования (Oxford Nanopore Technology, ONT) предлагает решение секвенирования в режиме реального времени, когда результат можно получить уже через шесть часов от момента получения образца в лаборатории [6].

Учитывая, что метод МС достаточно трудоёмкий, требующий наличия специализированного оборудования, реагентов и специально обученного персонала, специалиста биоинформатика, это исследование развивается по пути развёртывания в крупных исследовательских центрах или же в специализированных частных лабораториях. Например, в США существуют две лаборатории, оказывающие услуги по МС для диагностики инфекционных заболеваний — это компания Karius [7, 8] и Fry Laboratories в Аризоне [9]. В Китае также существуют коммерческие центры, где

Сравнение различных подходов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний с точки зрения наличия или отсутствия клинической гипотезы

#### Comparison of different approaches to laboratory diagnostics of infectious diseases in terms of the presence or absence of a clinical hypothesis

| Свойства                                                                                                                                                  | Методы, основанные на наличии клинической гипотезы |                              | Отсутствие клинической гипотезы                                                  |                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
|                                                                                                                                                           | культуральный                                      | серологический               | ПЦР                                                                              | таргетное секвенирование |
|                                                                                                                                                           |                                                    |                              |                                                                                  |                          |
| Мишень                                                                                                                                                    | Живой микроорганизм                                | Антитела или антигены        | ДНК, РНК                                                                         | ДНК, РНК                 |
| Выявляемый объект (В, Б, Г, П)                                                                                                                            | Б, Г                                               | В, Б, Г, П                   | В, Б, Г, П                                                                       | В, Б, Г, П               |
| Возможность оценки чувствительности Б к АБ                                                                                                                | Да                                                 | Нет                          | Да, ограничено набором праймеров                                                 | Нет                      |
| Количество выявляемых патогенов                                                                                                                           | Любые культивируемые Б, Г                          | Часто встречающиеся патогены | Часто встречающиеся патогены, ограничено набором антител или антигенов праймеров | Большой спектр патогенов |
| Время анализа, ч                                                                                                                                          | 12–72                                              | <24                          | 4–24                                                                             | От 24                    |
| Сложность интерпретации результатов                                                                                                                       | Низкая                                             | Низкая                       | Низкая                                                                           | Высокая                  |
| Стоимость исследования                                                                                                                                    | Низкая                                             | Низкая                       | Низкая                                                                           | Высокая                  |
| Постановка диагноза на основании результатов метода                                                                                                       | Да                                                 | Да                           | Да                                                                               | Да, КС, МЦИ              |
| Примечание. Б — бактерии; В — вирусы; Г — грибы; П — простейшие и паразиты; АБ — антибиотики; КС — клинический случай; МЦИ — многоцентровые исследования. |                                                    |                              |                                                                                  |                          |

Note. Б — bacteria; В — viruses; Г — fungi; П — protozoa and parasites; АБ — antibiotics; КС — clinical case; МЦИ — multicenter studies.



выполняются услуги по МС для диагностики, например компании The Beijing Genomic Institute (BGI Genomics) и IngeniGen XunMinKang Biotechnology company [9, 10].

Сравнительный анализ результатов исследований частных компаний, показывает, что уровень выявляемости различных патогенов возрастает в 2–3 раза, по сравнению с традиционными методами диагностики, однако возможны ложноположительные результаты вследствие контаминации на разных этапах пробоподготовки [8, 9, 11]. В целом стоит отметить, что возможное наличие контаминации является важнейшим лимитирующим фактором метода МС. В этой связи предлагаются различные подходы биоинформатического анализа, позволяющие дифференцировать истинные патогены от возможного загрязнения [12].

Также достаточно сложно интерпретировать результаты при секвенировании образцов, полученных не из стерильных локусов, например, отделяемого верхних или нижних дыхательных путей, где может присутствовать большое количество разнообразных микроорганизмов, включая грибы и вирусы. В таких случаях, целью исследования является поиск наиболее представленных в количественном отношении видов микроорганизмов, либо же поиск истинных, облигатных патогенов, например респираторных или кишечных вирусов.

Другой подход клинической метагеномики — это таргетное секвенирование. Наиболее распространено секвенирование фрагментов рибосомальных генов — участков гена 16S рРНК для выявления любых прокариот или секвенирование локуса ITS (Internal transcribed spacer) для выявления и идентификации большинства известных грибов [13]. В этом случае изначально проводится ПЦР для получения возможных ампликонов рибосомальных фрагментов непосредственно из биологического образца, а вторым этапом проводят NGS секвенирование полученных ампликонов. В случае с 16S рРНК секвенированием большую роль играют длина и количество амплифицируемых фрагментов этого гена.

Чаще всего проводят секвенирование V3–V4 переменных участков. Использование 16S рРНК секвенирования чревато получением ложноположительных результатов, связанных с контаминацией и особенностями биоинформатического анализа [14]. Также результаты этого метода достаточно сложно интерпретировать при секвенировании биологических образцов, полученных из нестерильных локусов. Более того, секвенирование только одного переменного участка 16S рРНК не позволяет провести идентификацию до вида, и необходимо учитывать, что для некоторых бактерий в принципе невозможно провести видовую дифференциацию только по сиквенсу гена 16S рРНК.

Например, нельзя дифференцировать *Escherichia coli* и *Shigella* spp. Тем не менее, на рынке представлены несколько продуктов, которые можно использовать для диагностики инфекционных заболеваний, в частности бактериальных бактериемий. Например, наборы SepsiT<sup>TM</sup>Test компании Molzym (Германия), где применяется сложная и эффективная методика дифференциального лизиса бактериальных и эукариотических клеток, а также имеются сертификаты о высокой степени очистки ферментов, не содержащих ДНК биотехнологических штаммов кишечной палочки, что исключает производственную контаминацию.

Эффективность наборов SepsiT<sup>TM</sup>Test была продемонстрирована как в диагностике бактериемий [15], а также диагностике других бактериальных инфекций [16, 17]. Компания ONT предлагает набор для полноразмерного секвенирования гена 16S рРНК (фрагменты V1–V9), который позволяет проводить видовую идентификацию бактериальных возбудителей [18, 19]. Необходимо обратить внимание, что использование только одного метода секвенирования 16S рРНК недостаточно для постановки диагноза. Существуют и альтернативные подходы таргетного секвенирования, в частности, использование большого набора праймеров, включающего сотни и тысячи олигонуклеотидов, специфичных для разных микроорганизмов, таким образом, в одной реакции с последующим NGS секвенированием возможно проводить идентификацию большого количества потенциальных патогенов.

Например, компания BGI предлагает продукт PMseq<sup>TM</sup> для секвенирования и идентификации более 17 000 возможных микроорганизмов различной биологической природы [20–22]. Существуют также отдельные таргетные панели для секвенирования и идентификации известных ДНК- и РНК-содержащих вирусов [23, 24].

Отдельного внимания заслуживает технология VirCapSeq, представляющая собой платформу с несколькими миллионами олигонуклеотидов разной длины, которые комплементарны фрагментам геномов различных ДНК- или РНК-вирусов, при этом набор детектируемых вирусов может быть различным [25, 26]. Благодаря такому принципу, при наличии возбудителя в исследуемом образце, в процессе ПЦР образуются несколько ампликонов, которые либо полностью перекрывают геном вируса, либо его протяжённый фрагмент. После секвенирования продуктов ПЦР возможно провести точную идентификацию возбудителя. Данная технология демонстрирует высокую чувствительность и специфичность, в особенности в диагностике вирусных нейроинфекций [27].

Стоит отметить, что на сегодняшний день нет однозначного ответа, какой вариант — метагеномное или таргетное секвенирование — более эф-

фективен для диагностики инфекционных заболеваний, у каждого подхода есть свои преимущества и недостатки. Таргетное секвенирование рибосомальных генов в большей степени нашло своё применение при анализе микробиомов. При таргетном секвенировании нет строгой необходимости в удалении (деплеции) человеческой ДНК, а при метагеномном секвенировании эта процедура желательна, поскольку все ресурсы секвенирования затрачиваются на человеческую ДНК, что в свою очередь требует получения большого количества данных секвенирования и, следовательно, значительно удорожает диагностику.

С другой стороны, метагеномное секвенирование в принципе ничем не ограничивается в спектре возможных возбудителей инфекционных заболеваний и теоретически позволяет выявлять новые неизвестные патогены. Также МС в определённых случаях позволяет выявлять гены резистентности [28]. Тем не менее, развитие клинической метагеномики идёт параллельно по двум направлениям.

### Диагностика инфекционных заболеваний с помощью метагеномного секвенирования

Возможности использования метагеномного секвенирования, как диагностического инструмента, были продемонстрированы ещё в работах 2010-х гг. Например, в одной из первых работ [29] был описан следующий клинический случай. Пациент обратился в медицинское учреждение с лихорадкой и правосторонним воспалённым подмышечным лимфоузлом, который появился после травмы пальца, полученной при разделывании тушки кролика.

Эмпирическая терапия цефалоспорином III поколения привела к улучшению, но воспаление лимфоузла сохранялось длительное время. Посев образца пунктата лимфоузла не выявил роста каких-либо микроорганизмов. Однако после проведения МС содержимого лимфоузла, было получено 38 млн ДНК-прочтений, 99% из которых относились к человеческой ДНК, и 0,002% — к фрагментам ДНК *Francisella tularensis*, возбудителя туляремии. После назначения комбинации стрептомицина и миноциклина наблюдалось исчезновение воспаления.

В качестве ещё одного примера можно привести клинический случай, описанный в работе М. R. Wilson и соавт. [30]. У пациента, 14-летнего мальчика с тяжёлым первичным иммунодефицитом, находящимся в ремиссии после трёх трансплантаций костного мозга, после посещения пресноводного водоёма развились лихорадка, конъюнктивит и гематурия. Через несколько недель у пациента отмечалось развитие острого увеита и тромбоцито-

пении, а ещё через несколько месяцев подъём температуры тела до 39,5°C, с появлением тяжёлых неврологических нарушений, потребовавших введения пациента в искусственную кому.

Пациент получал антибактериальную терапию меропенемом и ванкомицином, однако это не приводило к улучшению. Результаты исследования ликвора с использованием доступных культурального, молекулярных методов диагностики не выявило каких-либо возбудителей. После проведения МС была выявлена лептоспира — *Leptospira santarosai*, смена антибактериальной терапии на пенициллин привела к полному выздоровлению пациента. Стоит отметить, что из трёх млн ДНК-прочтений только 0,016% относилось к ДНК-прочтениям возбудителя. Лептоспироз впоследствии был подтверждён серологическим методом. Недавний клинический случай описан в Германии [31], у молодой женщины 26 лет после перенесённой инфекции COVID-19 в течение полугода наблюдались односторонняя лимфоаденопатия, периодические подъёмы температуры, потеря массы тела, и обильное потоотделение в ночное время. Дифференциальная диагностика различных инфекционных, онкологических заболеваний и иммунопатологии не приводила к позитивным результатам. После проведения МС образца пунктата лимфоузла, было получено более 50 млн ДНК-прочтений, из которых только 16 — относилось к *Bartonella henselae*. Эта находка была подтверждена специфической ПЦР. Пациент призналась, что перед заболеванием COVID-19 её поцарапала кошка. После проведения терапии кларитромицином, все симптомы исчезли. Выявление возбудителей с помощью МС не ограничивается бактериальными возбудителями.

В работе С. Y. Chiu и соавт. [32] был описан случай тяжёлого энцефалита с персистирующим плейтиозом в ликворе у пожилого пациента. Несмотря на эмпирическую антибактериальную, противовирусную и противогрибковую терапию, пациент скончался. Был проведён большой объём исследований, включая ПЦР на известные вирусы, бактерии и грибы, но не было получено положительных результатов. Авторы использовали МС с приготовлением двух библиотек ДНК и РНК из образца ликвора. По результатам, из 8 млн РНК-прочтений, большая часть которых относилась к транскриптам человека, 3% приходилось на РНК-содержащий вирус энцефалита Сент-Луиса (St. Louis encephalitis virus). Подтверждением этой находки стало выделение вируса из ликвора в культуре тканей в специализированной лаборатории.

Случай фатального хронического энцефалита был описан авторами из Австралии [33]. Мужчина 34 лет вернулся из путешествия из США и после трёх недель стали появляться лихорадка, признаки энцефалита и судороги, в связи с тяжестью

заболевания пациент был переведён на ИВЛ в отделение реанимации. Из анамнеза было известно, что у пациента X-сцепленная агаммаглобулинемия. ПЦР на известные вирусы, посев ликвора и серологические исследования были отрицательными. На фоне проводимой эмпирической терапии были улучшения, и пациент был выписан, однако после этого в течение трёх лет отмечалось прогрессирование энцефалопатии, проявляющееся в потере памяти, заторможенности и треморе. Повторное исследование ликвора, а также биопсия тканей головного мозга снова не выявило возбудителей. Заболевание прогрессировало, и пациент умер после 42 мес. после первичного обращения в стационар.

По результатам МС ликвора (25 млн прочтений) и тканей мозга (14 млн прочтений) были выявлены фрагменты РНК-содержащего ортобуньявируса Cache Valley virus (CVV), эндемичного исключительно для регионов Северной и Южной Америки. Результаты МС были подтверждены методом ПЦР со специфическими праймерами, комплементарными вирусу CVV, а также иммуногистохимией с антителами против CVV.

Похожий случай тяжёлого энцефалита у 4-летнего ребёнка, вызванного флавивирусом Повассан (Powassan Virus, POWV), был описан в работе M. Farrington и соавт. [34]. При этом авторы отмечали, что после секвенирования образца ликвора были обнаружены не более десяти прочтений РНК-фрагментов вируса POWV, тем не менее, диагноз был подтверждён выявлением анти-POWV иммуноглобулинов IgM. Стоит отметить, что в обычной практике анализа данных после NGS секвенирования, такое маленькое количество прочтений с секвенатора обычно не принимается во внимание. Однако при исключении контаминации и исходя из клинической картины, связанной с обнаружением возможного патогена, одиночные и уникальные ДНК-прочтения могут быть расценены как истинные фрагменты возбудителя.

Если до 2010 г. количество публикаций с использованием МС в качестве диагностики инфекционных заболеваний составляло единицы и преимущественно это было описание отдельных клинических случаев, то к настоящему времени ежегодно публикуется большое количество исследований, включая крупные многоцентровые исследования, при этом подавляющее большинство работ публикуются из Китая и США [35, 36].

Например, в проспективное наблюдательное исследование, проведённое во Франции, было включено более 700 биологических образцов от 523 пациентов с подозрением на различные инфекции [37]. В 19% случаев удалось обнаружить различные патогены с помощью МС, при этом общий уровень сопоставимости (конкордантности) результатов МС и других

традиционных методов диагностики составлял 70%. В 84% случаев от числа несопоставимых результатов (30%) удавалось выявить патогены только с помощью МС, и в 16% случаев — результаты МС были отрицательными при положительных результатах традиционных методов. Так, с помощью МС не были обнаружены вирусы (Aichi virus, некоторые герпес вирусы, Sapovirus, HIV-1), бактерии — *Mycobacterium tuberculosis*, грибы — *Aspergillus fumigatus*, *Histoplasma* sp., *Paecilomyces lilacinus*. Отрицательные результаты МС авторы связывают с изначально низкой концентрацией патогенов в биологических образцах и сложностью выделения тотальной ДНК из некоторых образцов — биоптатов, костной ткани, ликвора.

В настоящее время метод МС используется для диагностики практически всех видов инфекций — для диагностики бактериемий, респираторных инфекций, нейроинфекций, гастроэнтеритов, урологических инфекций, инфекций костей и суставов и т. д. Пожалуй, ключевая особенность рассматриваемого подхода диагностики — это возможность выявления новых и редких патогенов, особенно при неясной и нестандартной клинической картине.

Так, в исследование Z. F. Fu и соавт. [38] были включены более 150 пациентов с лихорадкой неясного генеза, где использовались следующие критерии включения: длительное (3 нед.) повышение температуры тела  $>38,3^{\circ}\text{C}$  с возможной нейтропенией ( $<0,5 \times 10^9$  кл./л) и отрицательные микробиологические результаты. С помощью МС у 19% пациентов были выявлены различные патогены. Среди них преобладали вирусы — герпес-вирусы EBV и CMV; среди других микроорганизмов были идентифицированы *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, плесневые грибы *Penicillium marneffei*, *Aspergillus* spp. и в нескольких случаях — паразит *Trypanosoma brucei gambiense*. Было показано, что метод МС повышает уровень выявления клинически значимых патогенов у онкогематологических пациентов с фебрильной нейтропенией неясного генеза, что приводит к оптимизации целенаправленной антибактериальной терапии [39, 40].

## **Оценка эффективности методов метагеномного секвенирования в диагностике различных инфекционных заболеваний**

На сегодняшний день опубликовано большое количество проспективных и ретроспективных исследований, в которых показана высокая специфичность и чувствительность метода МС при



выявлении различных патогенов — возбудителей бактериемий и сепсиса [41, 42].

Например, в ретроспективном исследовании С. Jing и соавт. [42], включающим 209 пациентов с подозрением на бактериемию, было проведено сравнение результатов МС образцов плазмы крови и результатов гемокультур. Так, при использовании МС потенциальные патогены были выявлены в 39% образцах, при использовании только культурального метода — в 27% случаях. При этом наиболее часто идентифицируемые патогены с помощью МС относились к следующим микроорганизмам — *Escherichia coli*, *Candida tropicalis* и *Human betaherpesvirus 5*.

В крупном проспективном наблюдательном исследовании К. L. Kalantar и соавт. [41] были включены пациенты отделения ОРИТ, находящиеся в критическом состоянии с подозрением на сепсис. Авторы отмечали 100% чувствительность при сравнении с культуральным методом для выявления таких микроорганизмов как *E. coli*, *S. aureus*/*S. argenteus*, и низкую сопоставимость при выявлении *Streptococcus pyogenes*, который был получен в культуре, но отрицательный в МС, и при выявлении анаэробов. Авторы связывают это с тем, что образцы для МС были взяты у пациентов после начала антибактериальной терапии.

Диагностика нейроинфекций — одно из наиболее развивающихся разделов, где всё чаще используется клиническая метагеномика. В исследовании F. McGill и соавт. [27] в группе пациентов с подозрением на серозный менингит, но с отрицательными традиционными результатами исследований ликвора, с помощью технологии VirCap-Seq в 42% случаях удалось установить возможный этиологический агент. В частности, были выявлены такие вирусы, как *Toscana virus*, *Rotavirus*, *Saffold virus*, *Human Pegivirus*, *Human Papillomavirus*, герпес-вирусы и энтеровирусы. Примечательно, что ротавирусы и папилломавирусы не входят в стандартные диагностические панели (ПЦР или серологические исследования) для идентификации нейроинфекций.

В работе М. R. Wilson и соавт. [43] было проведено однолетнее проспективное исследование, которое включало 58 пациентов с клинически верифицированными признаками менингита и энцефалита. Для этих пациентов выполнялся весь возможный спектр лабораторных исследований, включая иммуногистохимию биоптатов мозга и МС. В результате у 19 пациентов различные патогены были обнаружены с использованием как традиционных методов диагностики, так и МС. У 13 пациентов возбудитель удалось установить только с помощью МС, и среди патогенов были выявлены такие микроорганизмы, как *Nocardia farcinica*, Hepatitis E virus (HEV), St. Louis encephalitis virus (SLEV), *Candida tropi-*

*calis* и другие бактериальные возбудители. Авторы исследования подчёркивали, что для 13 пациентов диагноз и последующая терапия была основана только на основании результатов идентификации с помощью МС.

МС возможно применять не только с использованием стерильных жидкостей человека, но и других субстратов. Так, во многих исследованиях было показано превосходство МС над традиционными методами в этиологической диагностике пневмоний при исследовании бронхоальвеолярного лаважа [44, 45]. В многоцентровом проспективном наблюдательном исследовании А. Tsitsiklis и соавт. [46] было включено 397 детей (от 3 мес. до 17 лет) с различными инфекциями нижних дыхательных путей и нуждающихся в искусственной вентиляции лёгких. В 90% случаях удалось выявить разные этиологические агенты с помощью метода МС. Бактериальные патогены были выявлены методом МС у 46% детей с отрицательными результатами посевов. По результатам комбинации традиционных методов диагностики и МС доминирующими возбудителями пневмоний были респираторно-синцитиальный вирус, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*. Использование МС позволило дополнительно выявить *Ureaplasma parvum* и *Bocavirus*.

В исследовании S. Mu и соавт. [47] использовали метод «быстрого» секвенирования в режиме «real-time» с использованием технологии ONT для диагностики пневмоний у 297 госпитализированных взрослых пациентов. Авторы отмечали, что время, затраченное на идентификацию возбудителей от момента поступления пробы в лабораторию, составляло  $6,4 \pm 1,4$  ч. При сравнении с культуральным методом и ПЦР-детекцией метод «real-time» МС характеризовался 97% чувствительностью и 88% специфичностью, при этом в 39% образцов, где не было выявлено роста микроорганизмов, удалось выявить бактериальные патогены.

В работе N. Li и соавт. [10] исследовали образцы бронхоальвеолярного лаважа, полученные от 138 госпитализированных пациентов с пневмонией. При этом сравнивали результаты идентификации возбудителей с использованием разных методов — культурального, ПЦР и МС. Бактериальные возбудители были выявлены в 53 образцах с помощью МС против 27 образцов, где использовался только культуральный метод. Вирусы были выявлены в 16 образцах, против одного с использованием ПЦР. Однако идентификация грибов с использованием МС была низкой по сравнению с культуральным методом. Авторы подчёркивали, что в 23 случаях удалось поставить окончательный диагноз и назначить соответствующую терапию только на основании результатов МС.



В метаанализе М. Lv с соавт. [48], включающем 24 исследования и более 3200 пациентов с пневмониями, отмечалась эффективность метода МС. В частности, высокий уровень идентификации возбудителей по сравнению с традиционными методами; поставленный корректный диагноз с помощью МС способствует снижению 28- и 90-дневной летальности; правильная идентификация и сокращение сроков выполнения исследования способствует снижению времени пребывания пациентов в отделении ОРИТ.

Выявление различных патогенов с помощью МС в раневом отделяемом и синовиальной жидкости эффективно применяется для диагностики инфекций костей и суставов [49].

Метод МС возможно использовать для диагностики паразитарных инфекций. Одно из первых сообщений было опубликовано М. R. Wilson и соавт. в 2015 г. [50]. Авторы описали клинический случай смертельного энцефалита у пожилой пациентки из Китая. Как и в подобных других случаях было проведено объёмное исследование ликвора на наличие различных инфекций, однако результаты были отрицательными. Только постмортальная биопсия тканей мозга с последующим проведением МС позволили выявить возбудителя — амёбу *Balamuthia mandrillaris*. В аналогичных исследованиях были описаны случаи диагностики с помощью МС ангиостронгилёза [51], лейшманиоза [52], аскаридоза [53]. Стоит однако отметить, что детекция генетического материала многих паразитов связана с определёнными сложностями, опосредованными наличием протяжённых гомополимерных повторов, и наличием локусов, идентичных человеку.

Выявление возбудителей микозов также возможно с использованием МС, в частности при исследовании стерильных локусов, однако нет единого мнения об интерпретации обнаружения дрожжевых грибов, возбудителей аспергиллёза и *Pneumocystis* в отделяемом нижних дыхательных путей. В разных исследованиях отмечают несостыковки между результатами идентификаций и клиническими исходами микозов [11, 54].

## Литература/References

1. GBDA. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. G. B. D. A. R. Collaborators. *Lancet*. 2022; 400 (10369): 2221–2248.
2. Руководство по инфекционным болезням. Под ред. Е. С. Белозеров, Ю. И. Буланьков, В. В. Васильев и др. 2. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2011; 743. ISBN 978-5-93929-219-1. [Rukovodstvo po infektsionnym boleznyam. E. S. Belozero, Yu. I. Bulan'kov, V. V. Vasil'ev i dr. (eds.). 2. SPb.: OOO «Izdatel'stvo Foliant», 2011; 743. ISBN 978-5-93929-219-1. (in Russian)]
3. Poole S., Kidd S. P., Saeed K. A review of novel technologies and techniques associated with identification of bloodstream infection etiologies and rapid antimicrobial genotypic and quantitative phenotypic determination. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018; 18 (6): 543–555. doi: 10.1080/14737159.2018.1480369.
4. Khan A. R., Hussain W. L., Shum H. C., Hassan S. U. Point-of-care testing: a critical analysis of the market and future trends. *Frontiers in Lab on a Chip Technologies*. 2024; 3.

## Заключение

На сегодняшний день клиническая метагеномика — это один из самых перспективных и точных методов этиологической диагностики практически любых инфекционных заболеваний человека. Ещё одним принципиальным преимуществом метагеномного секвенирования является потенциальная возможность детекции генов резистентности, что необходимо для оптимизации антимикробной терапии [28]. Революционный подход «быстрого» секвенирования в режиме «real-time» позволит в значительной степени сократить время выявления возбудителя, что крайне важно для пациентов находящихся в критическом состоянии. Основным ограничением является сложность использования этого подхода для нестерильных локусов человека [55].

Достаточно сложно дифференцировать истинного патогена от комменсальных микроорганизмов в биологическом материале, полученным из таких локусов. Дополнительно относительно высокая стоимость и сложность выполнения МС тормозит внедрение подходов клинической метагеномики в диагностический процесс медицинских учреждений. Отсутствие универсальных стандартов, протоколов для валидации, оценки качества и воспроизводимости клинических метагеномных исследований также ограничивают широкое использование данного подхода [56].

Получаемые разными исследователями результаты существенно различаются между собой, что связано с использованием абсолютно разных «мокрых» этапов в пробоподготовке, которые включают выделение ДНК, подготовку ДНК-библиотек, использование разных платформ для секвенирования и вариативность алгоритмов биоинформатической обработки результатов секвенирования [57]. Клиническая метагеномика находится на стадии становления, однако требуется внедрение стандартных протоколов и оценочных параметров с использованием контрольных образцов для широкого использования в диагностических лабораториях.

5. Chiu C. Y., Miller S. A. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet*. 2019; 20 (6): 341–355. doi: 10.1038/s41576-019-0113-7.
6. Charalampous T., Kay G. L., Richardson H., Aydin A., Baldan R. et al. Nanopore metagenomics enables rapid clinical diagnosis of bacterial lower respiratory infection. *Nat Biotechnol*. 2019; 37 (7): 783–792. doi: 10.1038/s41587-019-0156-5.
7. Blauwkamp T. A., Thair S., Rosen M. J., Blair L., Lindner M. S. et al. Analytical and clinical validation of the karius plasma next-generation sequencing test for infectious disease. *Nat Microbiol*. 2019; 4 (4): 663–674. doi: 10.1038/s41564-018-0349-6.
8. Thair S., Seng H., Holleman D., Hong D., Blauwkamp T. et al. The SEP-SEQ trial: clinical validation of the karius plasma next-generation sequencing test for pathogen detection in sepsis. *Open Forum Infectious Diseases*. 2017; 4 (Suppl 1): 735–735.
9. Batool M., Galloway-Pena J. Clinical metagenomics-challenges and future. *Front Microbiol*. 2023; 14: 1186424. doi: 10.3389/fmicb.2023.1186424.
10. Li N., Ma X., Zhou J., Deng J., Gu C. et al. Clinical application of metagenomic next-generation sequencing technology in the diagnosis and

- treatment of pulmonary infection pathogens: A prospective single-center study of 138 patients. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36 (7): e24498. doi: 10.1002/jcla.24498.
11. Hogan C. A., Yang S., Garner O. B., Green D. A., Gomez C. A. et al. Clinical impact of metagenomic next-generation sequencing of plasma cell-free DNA for the diagnosis of infectious diseases: a multicenter retrospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 2021; 72 (2): 239–245. doi: 10.1093/cid/ciaa035.
  12. Du J., Zhang J., Zhang D., Zhou Y., Wu P. et al. Background filtering of clinical metagenomic sequencing with a library concentration-normalized model. *Microbiol Spectr.* 2022; 10 (5): e0177922. doi: 10.1128/spectrum.01779-22.
  13. Fida M., Khalil S., Abu Saleh O., Challener D. W., Sohail M. R. et al. Diagnostic value of 16S ribosomal RNA gene polymerase chain reaction/sanger sequencing in clinical practice. *Clin Infect Dis.* 2021; 73 (6): 961–968. doi: 10.1093/cid/ciab167.
  14. Salter S. J., Cox M. J., Turek E. M., Calus S. T., Cookson W. O. et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol.* 2014; 12: 87. doi: 10.1186/s12915-014-0087-z.
  15. Stevenson M., Pandor A., Martyn-St James M., Rafia R., Uttley L. et al. Sepsis: the lightcycler sepiFast test MGRADE (R), sepiTest and IRIDICA BAC BSI assay for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi — a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2016; 20 (46): 1–246. doi: 10.3310/hta20460.
  16. Haag H., Locher F., Nolte O. Molecular diagnosis of microbial aetiologies using SepsitTest in the daily routine of a diagnostic laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 76 (4): 413–418. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.04.027.
  17. Meyer T., Franke G., Polywka S. K., Lutgehetmann M., Gbadamosi J. et al. Improved detection of bacterial central nervous system infections by use of a broad-range PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2014; 52 (5): 1751–1753. doi: 10.1128/JCM.00469-14.
  18. Vanhee M., Flore K., Vanthourenhout S., Hellemans J., Muyldermans A. et al. Implementation of full-length 16S nanopore sequencing for bacterial identification in a clinical diagnostic setting. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024; 108 (2): 116156. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2023.116156.
  19. Lao H. Y., Wong L. L., Hui Y., Ng T. T., Chan C. T. et al. The clinical utility of Nanopore 16S rRNA gene sequencing for direct bacterial identification in normally sterile body fluids. *Front Microbiol.* 2023; 14: 1324494. doi: 10.3389/fmicb.2023.1324494.
  20. Chen X., Cheng K., Sun X., Zhang Y., Cao Z. et al. Comparison of traditional methods and high-throughput genetic sequencing in the detection of pathogens in pulmonary infectious diseases. *Ann Transl Med.* 2021; 9 (8): 702. doi: 10.21037/atm-21-1322.
  21. Wang C., You Z., Fu J., Chen S., Bai D. et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary invasive fungal disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 949505. doi: 10.3389/fcimb.2022.949505. eCollection 2022.
  22. Zhang M., Wang W., Li X., Zhang X., Yang D. Fast and precise pathogen detection and identification of overlapping infection in patients with CUTI based on metagenomic next-generation sequencing: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2021; 100 (49): e27902. doi: 10.1097/MD.00000000000027902.
  23. Yang Y., Walls S. D., Gross S. M., Schroth G. P., Jarman R. G. et al. Targeted sequencing of respiratory viruses in clinical specimens for pathogen identification and genome-wide analysis. *Methods Mol Biol.* 2018; 1838: 125–140. doi: 10.1007/978-1-4939-8682-8\_10.
  24. Pogka V., Papadopoulou G., Valiakou V., Sgouras D. N., Mentis A. F. et al. Targeted virome sequencing enhances unbiased detection and genome assembly of known and emerging viruses—the example of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2022; 14 (6): 1272. doi: 10.3390/v14061272.
  25. Briese T., Kapoor A., Mishra N., Jain K., Kumar A. et al. Virome capture sequencing enables sensitive viral diagnosis and comprehensive virome analysis. *mBio.* 2015; 6 (5): e01491–15. doi: 10.1128/mBio.01491-15.
  26. Kapoor V., Briese T., Ranjan A., Donovan W. M., Mansukhani M. M. et al. Validation of the VirCapSeq-VERT system for differential diagnosis, detection, and surveillance of viral infections. *J Clin Microbiol.* 2024; 62 (1): e0061223. doi: 10.1128/jcm.00612-23.
  27. McGill F., Tokarz R., Thomson E. C., Filipe A., Sameroff S. et al. Viral capture sequencing detects unexpected viruses in the cerebrospinal fluid of adults with meningitis. *J Infect.* 2022; 84 (4): 499–510. doi: 10.1016/j.jinf.2021.12.042.
  28. Gan M., Zhang Y., Yan G., Wang Y., Lu G. et al. Antimicrobial resistance prediction by clinical metagenomics in pediatric severe pneumonia patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2024; 23 (1): 33. doi: 10.1186/s12941-024-00690-7.
  29. Kuroda M., Sekizuka T., Shinya F., Takeuchi F., Kanno T. et al. Detection of a possible bioterrorism agent, *Francisella* sp., in a clinical specimen by use of next-generation direct DNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2012; 50 (5): 1810–2. doi: 10.1128/JCM.06715-11.
  30. Wilson M. R., Naccache S. N., Samayoa E., Biagtan M., Bashir H. et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing. *N Engl J Med.* 2014; 370 (25): 2408–2417. doi: 10.1056/NEJMoa1401268.
  31. Aubry A., Corvilain E., Ghelfenstein-Ferreira T., Camelena F., Meignin V. et al. Unmasking *Bartonella henselae* infection in the shadows of long COVID thanks to clinical metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2024; 43 (5): 1025–1029. doi: 10.1007/s10096-024-04801-2.
  32. Chiu C. Y., Coffey L. L., Murkey J., Symmes K., Sample H. A. et al. Diagnosis of fatal human case of St. Louis encephalitis virus infection by metagenomic sequencing, California, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23 (10): 1964–1968. doi: 10.3201/eid2310.161986.
  33. Wilson M. R., Suan D., Duggins A., Schubert R. D., Khan L. M. et al. A novel cause of chronic viral meningoencephalitis: Cache Valley virus. *Ann Neurol.* 2017; 82 (1): 105–114. doi: 10.1002/ana.24982.
  34. Farrington M., Elenz J., Ginsberg M., Chiu C. Y., Miller S. et al. Powassan virus infection detected by metagenomic next-generation sequencing, Ohio, USA. *Emerg Infect Dis.* 2023; 29 (4): 838–841. doi: 10.3201/eid2904.221005.
  35. He S., Wei J., Feng J., Liu D., Wang N. et al. The application of metagenomic next-generation sequencing in pathogen diagnosis: a bibliometric analysis based on Web of Science. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13: 1112229. doi: 10.3389/fcimb.2023.1112229.
  36. Forbes J. D., Knox N. C., Peterson C. L., Reimer A. R. Highlighting clinical metagenomics for enhanced diagnostic decision-making: a step towards wider implementation. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018; 16: 108–120. doi: 10.1016/j.csbj.2018.02.006.
  37. Fourgeaud J., Regnault B., Ok V., Da Rocha N., Sitterle E. et al. Performance of clinical metagenomics in France: a prospective observational study. *Lancet Microbe.* 2024; 5 (1): e52–e61. doi: 10.1016/S2666-5247(23)00244-6.
  38. Fu Z. F., Zhang H. C., Zhang Y., Cui P., Zhou Y. et al. Evaluations of clinical utilization of metagenomic next-generation sequencing in adults with fever of unknown origin. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 745156. doi: 10.3389/fcimb.2021.745156.
  39. Feng S., Rao G., Wei X., Fu R., Hou M. et al. Clinical metagenomic sequencing of plasma microbial cell-free DNA for febrile neutropenia in patients with acute leukaemia. *Clin Microbiol Infect.* 2024; 30 (1): 107–113. doi: 10.1016/j.cmi.2023.05.034.
  40. Schulz E., Grumaz S., Hatzl S., Gornicec M., Valentin T. et al. Pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing during neutropenic fever in patients with hematological malignancies. *Open Forum Infect Dis.* 2022; 9 (8): ofac393. doi: 10.1093/ofid/ofac393.
  41. Kalantar K. L., Neyton L., Abdelghany M., Mick E., Jauregui A. et al. Integrated host-microbe plasma metagenomics for sepsis diagnosis in a prospective cohort of critically ill adults. *Nat Microbiol.* 2022; 7 (11): 1805–1816. doi: 10.1038/s41564-022-01237-2.
  42. Jing C., Chen H., Liang Y., Zhong Y., Wang Q. et al. Clinical evaluation of an improved metagenomic next-generation sequencing test for the diagnosis of bloodstream infections. *Clin Chem.* 2021; 67 (8): 1133–1143. doi: 10.1093/clinchem/hvab061.
  43. Wilson M. R., Sample H. A., Zorn K. C., Arevalo S., Yu G. et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis. *N Engl J Med.* 2019; 380 (24): 2327–2340. doi: 10.1056/NEJMoa1803396.
  44. Wang Y. N., Wu Y. T., Cao L., Niu W. Q. Application of metagenomic next-generation sequencing in the etiologic diagnosis of refractory pneumonia in children. *Front Microbiol.* 2024; 15: 1357372. doi: 10.3389/fmicb.2024.1357372.
  45. Zhan Y., Xu T., He F., Guan W. J., Li Z. et al. Clinical evaluation of a metagenomics-based assay for pneumonia management. *Front Microbiol.* 2021; 12: 751073. doi: 10.3389/fmicb.2021.751073.
  46. Tsitsiklis A., Osborne C. M., Kamm J., Williamson K., Kalantar K. et al. Lower respiratory tract infections in children requiring mechanical ventilation: a multicentre prospective surveillance study incorporating airway metagenomics. *Lancet Microbe.* 2022; 3 (4): e284–e293. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00304-9.
  47. Mu S., Hu L., Zhang Y., Liu Y., Cui X. et al. Prospective evaluation of a rapid clinical metagenomics test for bacterial pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 684965. doi: 10.3389/fcimb.2021.684965.
  48. Lv M., Zhu C., Zhu C., Yao J., Xie L. et al. Clinical values of metagenomic next-generation sequencing in patients with severe pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13: 1106859. doi: 10.3389/fcimb.2023.1106859.
  49. d'Humieres C., Gaia N., Gueye S., de Lastours V., Leflon-Guibout V. et al. Contribution of clinical metagenomics to the diagnosis of bone and joint infections. *Front Microbiol.* 2022; 13: 863777. doi: 10.3389/fmicb.2022.863777.
  50. Wilson M. R., Shanbhag N. M., Reid M. J., Singhal N. S., Gelfand J. M. et al. Diagnosing balamuthia mandrillaris encephalitis with metagenomic deep sequencing. *Ann Neurol.* 2015; 78 (5): 722–30. doi: 10.1002/ana.24499.
  51. Feng L., Zhang A., Que J., Zhou H., Wang H. et al. The metagenomic next-generation sequencing in diagnosing central nervous system an-

giostromglyiasis: a case report. BMC Infect Dis. 2020; 20 (1): 691. doi: 10.1186/s12879-020-05410-y.

52. Williams E., Isles N. S., Seemann T., Kilpatrick T., Grigg A. et al. Case report: confirmation by metagenomic sequencing of visceral leishmaniasis in an immunosuppressed returned traveler. Am J Trop Med Hyg. 2020; 103 (5): 1930–1933. doi: 10.4269/ajtmh.19-0841.
53. Schneeberger P. H. H., Becker S. L., Pothier J. F., Duffy B., N'Goran E. K. et al. Metagenomic diagnostics for the simultaneous detection of multiple pathogens in human stool specimens from Cote d'Ivoire: a proof-of-concept study. Infect Genet Evol. 2016; 40: 389–397. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.044.
54. Hoang M. T. V., Irinyi L., Hu Y., Schwessinger B., Meyer W. Long-reads-based metagenomics in clinical diagnosis with a special focus on fungal

infections. Front Microbiol. 2021; 12: 708550. doi: 10.3389/fmicb.2021.708550.

55. Lin L., Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. BMC Immunol. 2017; 18 (1): 2.
56. Greninger A. L. The challenge of diagnostic metagenomics. Expert Rev Mol Diagn. 2018; 18, (7): 605–615. doi: 10.1080/14737159.2018.1487292.
57. Dulanto Chiang A., Dekker J. P. From the pipeline to the bedside: advances and challenges in clinical metagenomics. J Infect Dis. 2020; 221 (Suppl 3): S331–S340. doi: 10.1093/infdis/jiz151.

Поступила / Received 06.10.2024

Принята в печать / Accepted 16.10.2024

## Информация об авторах

*Гостев Владимир Валерьевич* — к. б. н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

*Железова Людмила Ильинична* — к. м. н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Чулкова Полина Сергеевна* — младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Авдеева Алиса Александровна* — лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Калиногорская Ольга Серафимовна* — к. м. н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Агеевец Владимир Андреевич* — к. б. н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Цветкова Ирина Анатольевна* — к. б. н., младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет, Санкт-Петербург, Россия

*Журавлев Антон Вячеславович* — врач-инфекционист гепатологического центра СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина»; аспирант ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

*Сидоренко Сергей Владимирович* — д. м. н., профессор, чл.-корр. РАН, заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

## About the authors

*Vladimir V. Gostev* — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Associate Professor, Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

*Ludmila I. Gelezova* — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Polina S. Chulkova* — Junior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Alisa A. Avdeeva* — Laboratory assistant-researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Olga S. Kalinogorskaya* — Ph. D. in Medicine, Research Fellow at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Vladimir A. Ageevets* — Ph. D. in Biology, Research Fellow at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Irina A. Tsvetkova* — Ph. D. in Biology, Junior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Assistant at the Department of Microbiology, Virology, and Immunology, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

*Anton V. Zhuravlev* — Infectious disease specialist at the Hepatology Center, Clinical Infectious Diseases Hospital named after S. P. Botkin; postgraduate student, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

*Sergey V. Sidorenko* — D. Sc. in Medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Professor of the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia



# Применение бактериоцинов, включая микроцины: настоящее и будущее

\*М. Г. ТЕЙМУРАЗОВ, И. М. КОВАЛЕНКО, О. Е. ХОХЛОВА

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболensk, Россия

## Резюме

В последние десятилетия бактериоцины активно изучают как антимикробные соединения. Бактериоцины, в основном, использовались в качестве пищевых консервантов, однако в настоящее время они вызывают повышенный интерес как потенциальные клинические антимикробные препараты и возможные иммуномодулирующие агенты. Инфекции, вызванные бактериями, устойчивыми к антибиотикам, были объявлены глобальной угрозой общественному здравоохранению. Бактериоцины представляют собой потенциальное решение этой всемирной угрозы благодаря их широкому или узкому спектру действия против бактерий, устойчивых к антибиотикам. В частности, несмотря на их роль как природных альтернатив химическим консервантам в обеспечении безопасности пищевых продуктов, нисин остаётся единственным бактериоцином, одобренным регулируемыми органами в качестве пищевого консерванта. В статье освещены данные о безопасности применения бактериоцинов и их возможной токсичности, что может представлять барьер для более широкого их использования в медицине и отраслях промышленности. В статье описаны последние тенденции в разработке препаратов на основе бактериоцинов, их эффективности, спектре антимикробной активности и механизмах воздействия на микроорганизмы.

**Ключевые слова:** антимикробные пептиды; бактериоцины; микроцины; механизм действия; спектр антимикробной активности; препараты

**Для цитирования:** Теймуразов М. Г., Коваленко И. М., Хохлова О. Е. Применение бактериоцинов, включая микроцины: настоящее и будущее. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (9–10): 71–85. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-71-85>. EDN: JCQLUN.

# Application of Bacteriocins in Practice, Including Microcins: the Present and the Future

\*MARAT G. TEYMURAZOV, ILYA M. KOVALENKO, OLGA E. KHOKHLOVA

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russia

## Abstract

In recent decades, bacteriocins have been actively studied as antimicrobial compounds. Bacteriocins have been primarily used to preserve food, but they are currently of increasing interest as potential clinical antimicrobial agents and possible immunomodulatory agents. Infections caused by antibiotic-resistant bacteria have been declared a global public health threat. Bacteriocins represent a potential solution to this worldwide threat due to their broad- or narrow-spectrum activity against antibiotic-resistant bacteria. In particular, despite their role as natural alternatives to chemical preservatives in ensuring food safety, nisin remains the only bacteriocin approved by regulatory authorities for food preservation. The article highlights data on the safety of bacteriocins and their possible toxicity, which may become a barrier to their wider use in medicine and industry. The article describes the latest trends in the development of bacteriocin-based drugs, their effectiveness, spectrum of antimicrobial activity, and mechanisms of action on microorganisms.

**Keywords:** Antimicrobial peptides; bacteriocins; microcins; mechanism of action; spectrum of antimicrobial activity; drugs

**For citation:** Teymurazov M. G., Kovalenko I. M., Khokhlova O. E. Application of bacteriocins in practice, including microcins: the present and the future. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 71–85. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-71-85>. EDN: JCQLUN.

## Введение

Антагонизм между микроорганизмами, когда одна культура подавляет рост другой за счёт веществ антимикробного происхождения, является

достаточно распространённым явлением, которое могли наблюдать в своей практике микробиологи. Эра антибиотиков с пиком создания новых антимикробных химиопрепаратов (АМП),

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: marat\_teymurazov@mail.ru



EDN: JCQLUN

\*Correspondence to:  
E-mail: marat\_teymurazov@mail.ru





приходящимся на 60–70-х гг. XX в., настроил исследователей на оптимизм в отношении борьбы с патогенными бактериями и решении проблемы инфекционных заболеваний. С достижениями в диагностике инфекционных заболеваний, получением синтетических антибиотиков при помощи промышленной органической химии, биотехнологии казалось, что лечение инфекции будет сводиться лишь к правильному подбору препарата. Но уже к концу XX в. стало очевидно, что место наиболее эпидемически опасных инфекций, заболеваемость которых удалось снизить в том числе благодаря вакцинации, заняли возбудители инфекционных заболеваний «второго плана» — условно-патогенные микроорганизмы, которые вызывали ранее меньшую озабоченность в силу меньшей контагиозности и смертности. Отчасти, именно широкое применение АМП способствовало эволюции таких микроорганизмов, как представителей ESKAPE патогенов, включающих микроорганизмы с множественной лекарственной устойчивостью: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. При этом, представители указанных видов ESKAPE патогенов зачастую являются представителями нормально микрофлоры человека и животных, что также определяет трудности в разработке антимикробных препаратов и вакцин.

Открытие учёными антимикробных пептидов (АП) создало предпосылки если не решения проблемы инфекционных заболеваний, вызванных антибиотикоустойчивыми патогенами, но корректировки методов лечения и профилактики оппортунистических и пищевых инфекций. Помимо этого, существует несколько групп разрабатываемых учёными препаратов, являющихся альтернативой АМП и проявляющих активность в отношении антибиотикоустойчивых патогенов, каждая из которых имеет свои достоинства и недостатки, одной из них является группа пробиотических препаратов [1–3]. Одним из несомненных достоинств АП является узкий спектр активности, который не затрагивает представителей нормальной микрофлоры, а также некоторых представителей близкородственных видов, имеющих гены, кодирующие белки иммунитета к соответствующим бактериоцинам. На сегодняшний момент установлено, что АП способны продуцировать многие микроорганизмы, основной функцией которых является регулирование общей внутривидовой и близкородственной популяции микроорганизмов, и возможно АП играют роль в «quorum sensing».

В данной обзорной статье представлены данные по изучению различных бактериоцинов, включая микроцины и перспективы исследова-

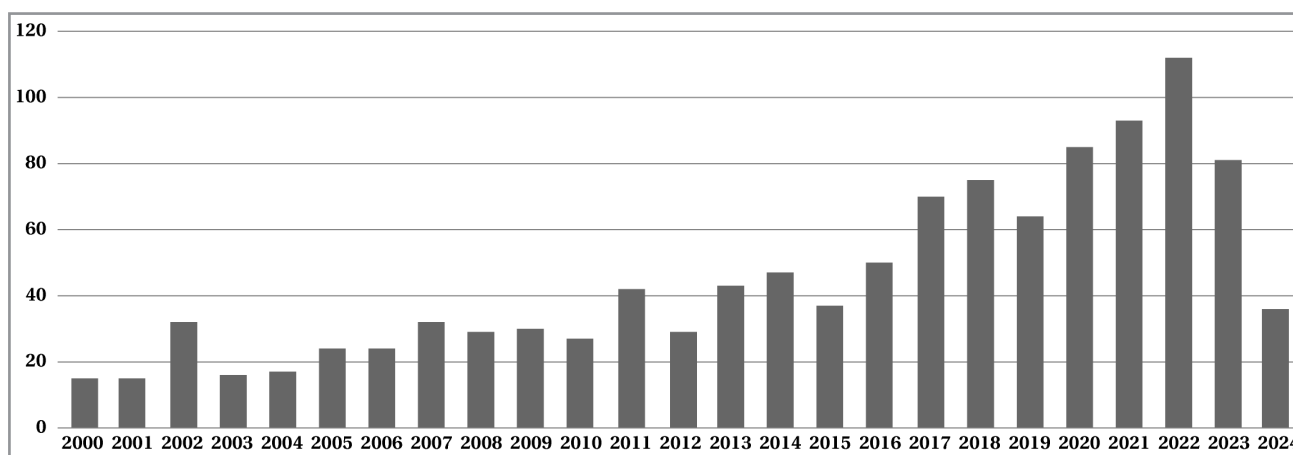
ний препаратов на их основе; а также возможности их применения в практике.

## **I. Гипотеза происхождения АП их роль в жизнедеятельности бактерий**

Биоактивные пептиды, известные как бактериоцины, привлекают внимание многих исследователей уже на протяжении порядка 100 лет, в связи с их потенциалом как альтернативы АМП в возможном лечении инфекционных заболеваний, вызванных грамположительными и грамотрицательными бактериями, а также дрожжеподобными грибами. При анализе публикационной активности авторов на темы, связанные с изучением бактериоцинов, установлено, что максимальное количество работ приходится на последнее десятилетие (рис. 1). Данные белковые молекулы обладают различными механизмами действия в отношении микроорганизмов. Например, микроцины — пептидные молекулы, блокирующие жизненно важные функции клетки-мишени, могут действовать следующим образом: путём образования пор в бактериальной мембране (MscV, MscE492, MscL); ингибирования аспартил-тРНК-синтетазы, необходимой для синтеза белка (MscC); ингибирования ДНК-гиразы GyrB, что приводит к двойным разрывам ДНК (MscB17); блокируют вторичный канал РНК-полимеразы, нарушая транскрипцию; ингибируя клеточное дыхание воздействуя на цитохромы, (MscJ25); нарушая клеточный протонный канал (MscH47 и, вероятно, MscM и MscI) или АТФ-синтетазу (MscH47).

С позиции продукции бактериоцинов особый интерес представляют молочнокислые бактерии, которые относительно безопасны и широко применяются в пищевой промышленности [4]. Эти микроорганизмы могут быть перспективными кандидатами для производства бактериоцинов в целях биоконтроля патогенов в пищевых продуктах, так как они обладают уникальными свойствами, включая высокую продуктивность и адаптивные механизмы выживания в различных условиях [5]. Возможность использования бактериоцинов для биоконсервации пищевых продуктов может варьировать в зависимости от типа продукта и желаемого эффекта [6]. Инокуляция продуктов специфичными штаммами, продуцирующими бактериоцины, может быть одним из вариантов биоконсервации, а также возможно введение уже очищенных или полуочищенных бактериоцинов, что может привести к сохранению пищевых продуктов и продлению срока годности [7].

В публикациях приводятся данные о возможности получения бактериоцинов из штаммов представителей нормальной микрофлоры человека, животного происхождения, а также выде-



**Рис. 1.** Диаграмма публикаций научных работ с тематикой «Бактериоцины» на электронной площадке PubMed.  
**Fig. 1.** Diagram of research papers on the topic of «Bacteriocins» on the PubMed electronic platform.

ленных из пищевых продуктов [8–10]. Микроорганизмы желудочно-кишечного тракта, способные к секреции бактериоцинов, представлены разнообразными видами, включая лактобациллы, энтерококки, стрептококки, стафилококки и др. Их активность способствует укреплению иммунных механизмов организма, обеспечивая неспецифическую защиту от патогенов. Кроме того, бактериоцины, действуя как медиаторы, могут усиливать функцию иммунной системы, способствуя подавлению роста других бактерий и взаимодействуя с различными факторами иммунной защиты организма [11–13].

## II. Номенклатура АП, разработка генно-инженерных конструкций

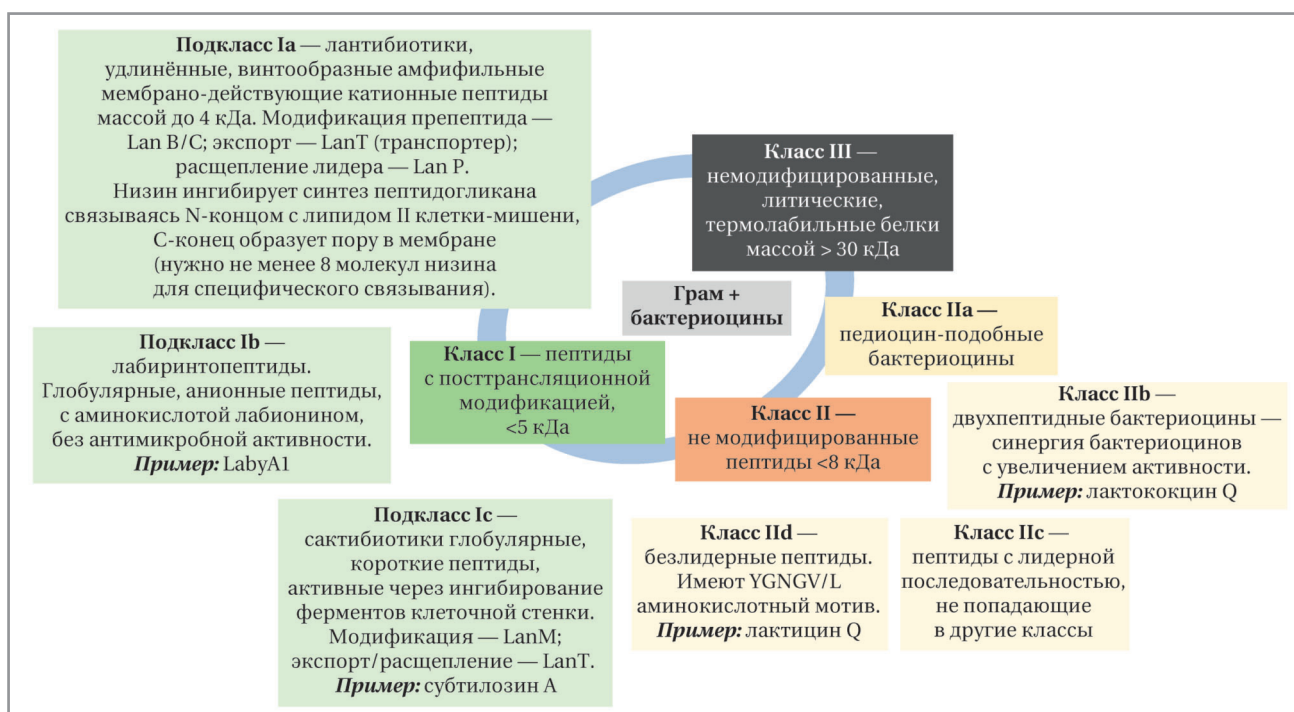
В настоящее время классификация бактериоцинов является непростой задачей, сложность которой обусловлена их большим разнообразием как по структурной организации бактериоцинов, так и по их механизму действия и активности в отношении разных групп микроорганизмов. Это затрудняет использование различных классификаций и может привести к некоторой путанице. Так же определённые трудности вызывает открытие/создание новых бактериоцинов, которые не всегда можно соотнести с существующей классификацией из-за перекрывающихся структурных, функциональных и генетических характеристик.

Для систематизации АМ были созданы различные базы данных, например, такие как APD3 [14], где бактериоцины распределили по различным классам в зависимости молекулярного состава, структуры и их модификаций [15–17].

Одним из важных различий при классификации бактериоцинов является их продукция грамположительными или грамотрицательными бактериями (рис. 2).

**1. Характеристика бактериоцинов, продуцируемых грамположительными бактериями.** К бактериоцинам I класса, называемым лантибиотиками, лассопептидами, сактибиотиками, тиопептидами и др., относятся пептиды, содержащие два модифицированных аминокислотных остатка — лантионин и метиллантионин, образующихся после трансляции, в результате чего формируются аминокислоты — лантионин,  $\beta$ -метиллантионин, дегидробутирин и др [18]. Такие бактериоцины представляют собой мелкие пептиды (<5 кДа), обладающие мембранной активностью (см. рис. 2) [19]. Широко известным представителем данной группы является низин (в английской литературе Nisin), являющийся наиболее подробно изученным лантибиотиком и одобрен FDA для использования в качестве пищевого консерванта [20]. Также достаточно изученными представителями бактериоцинов I класса являются лактицин 481 (lactacin 481), карноцин U49 (carnocin U49), лактоцин S (lactocin S). Бактериоцины подкласса Ia, к которым относится низин, состоят из катионных, гидрофобных пептидов, которые образуют поры в мембранах-мишенях и имеют более гибкую структуру по сравнению с бактериоцинами подкласса Ib. Бактериоцины подкласса Ib, которые являются глобулярными пептидами, амфифильны или имеют суммарный отрицательный заряд.

Ко II классу бактериоцинов относят мелкие, немодифицированные, термостойкие пептиды (<10 кДа), обладающие антимикробной активностью. Представителей данного класса подразделяют на несколько подклассов: IIa — линейные пептидоподобные пептиды; IIb — бактериоцины с двумя пептидами, дополняющими друг друга для лучшей антимикробной активности; IIc — это лидерные бактериоцины, не имеющие последовательного сходства с другими классами; IId — немодифицированные, линейные, непептидо-



**Рис. 2. Схема классификации бактериоцинов, продуцируемых грамположительными бактериями.**  
**Fig. 2. Classification scheme of bacteriocins produced by gram-positive bacteria.**

циноподобные бактериоцины, отличительной особенностью которых является отсутствие лидерного пептида [21, 22].

Отличительным признаком педиоцин-подобных бактериоцинов является наличие последовательности YGNG(V/L), называемой «педиоциновым боксом» («pediocin box») и, как правило, входящей в состав более крупного мотива, стабилизированного дисульфидной связью и расположенного в N-концевой части молекулы: YGNG(V/L)XCX (K/N)XXC, где X — любые полярные (заряжённые или незаряжённые) аминокислотные остатки. У бактериоцинов этого подкласса есть специфический рецептор для связывания с клеткой-мишенью — белок Map-PTS. Он служит мишенью для докинга, но не участвует в формировании поры. По всей вероятности, иммобилизация пептида на поверхности мембраны путём гибридизации с периплазматическим доменом резко повышает его локальную концентрацию и вероятность встраивания C-концевой части в липидный бислой. Данная модель даёт ответ на вопрос, почему бактерии, лишённые Map-PTS группы I, а также липосомы могут становиться мишенями для педиоцин-подобных бактериоцинов при добавлении последних в высоких (микромольных) концентрациях. Вместе с тем, о структуре пор, образуемых бактериоцинами в мембране как в присутствии рецептора, так и в его отсутствие, в настоящее время ничего не известно (см. рис. 2). [23].

Среди новых и уникальных бактериоцинов II класса стоит отметить бактериоцин класса IIb —

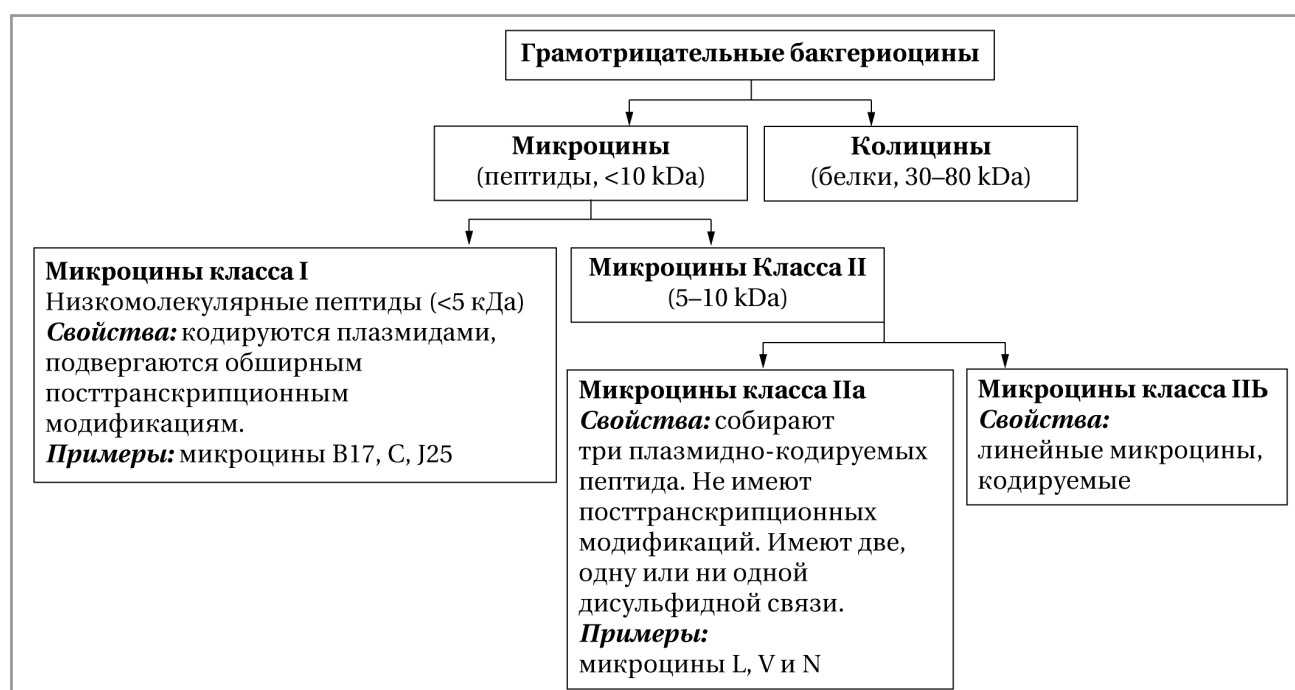
бактофенцин A. Он обладает такими свойствами, как высокая катионная активность, и имеет некоторое сходство с эукариотическими катионными антимикробными пептидами. Другим его важным свойством является то, что он проявляет иммунитет, опосредованный гомологом dltB [24, 25].

Бактериоцины III класса (иногда называемые бактериолизинами) состоят из крупных (>30 кДа) термолабильных пептидов [26, 27]. Примеры включают зооцин A, лизостафин, энтеролизин A и хелеветицин M, J и V, которые обладают эндопептидазоподобной активностью в отношении пептидогликана и вызывают разрушение клеточной стенки грамположительных бактерий [28, 29].

## 2. Характеристика бактериоцинов, продуцируемых грамотрицательными бактериями.

Среди бактериоцинов, продуцируемых грамотрицательными бактериями наиболее изученными являются колицины и микроцины, продуцируемые *Escherichia coli*, а также колициноподобные бактериоцины, такие как пиоцины S-типа, синтезируемые *P. aeruginosa* и *Klebsiella* spp.

Колицины представляют собой большие белки с массой от 30 до 80 кДа, которые имеют узкий спектр антимикробной активности. Эти бактериоцины направлены против филогенетически близких видов, таких как другие штаммы *E. coli*. Существует несколько механизмов действия колицинов: образование пор в клеточной мембране некоторыми колицинами, такими как колицин A и E1, за счёт связывания с клеточной мембраной бактерии и создания в ней поры, что приводит к утечке ионов и нарушению осмотического ба-



**Рис. 3. Классификация рибосомально синтезируемых бактериоцинов грамотрицательными бактериями.**  
**Fig. 3. Classification of bacteriocins ribosomally synthesized by gram-negative bacteria.**

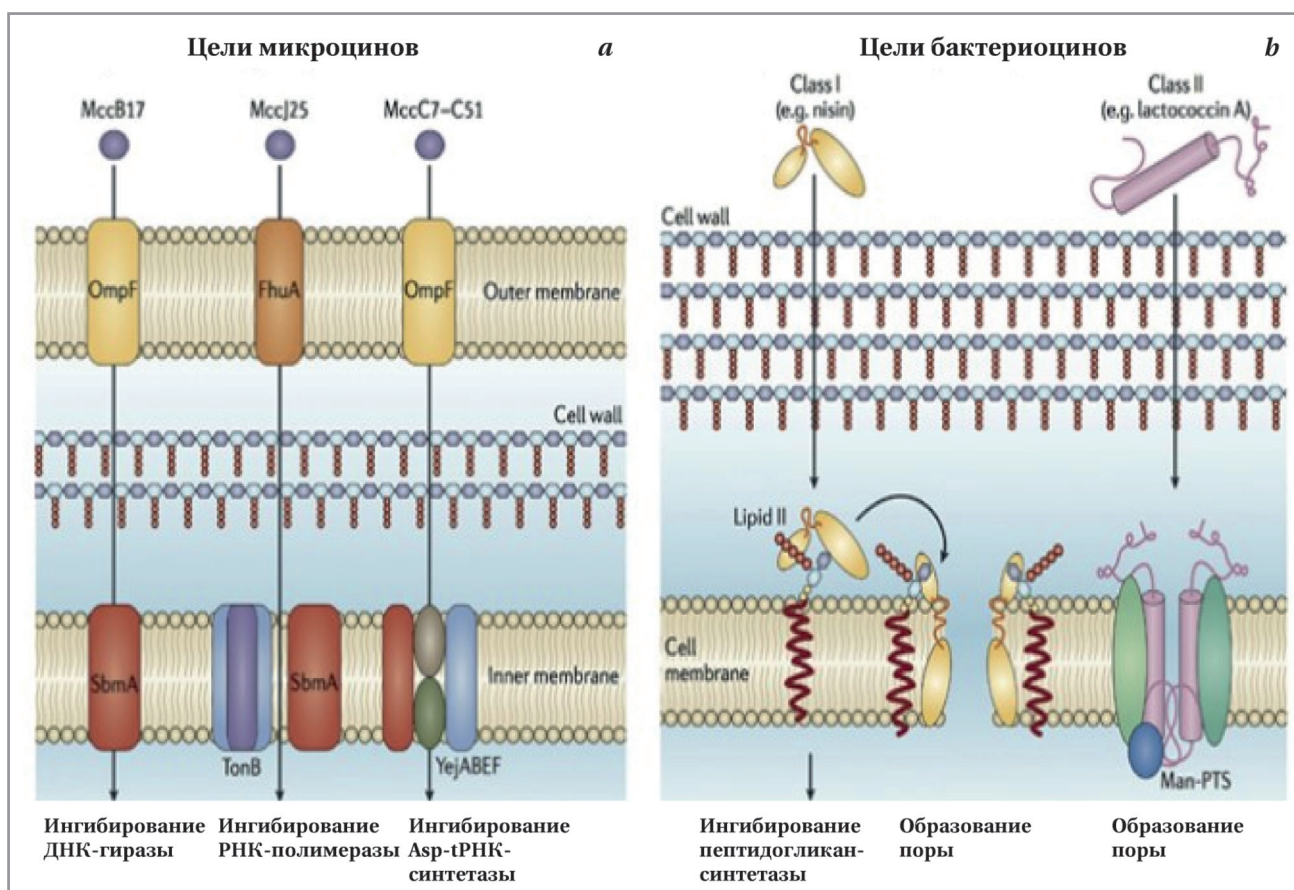
ланса и приводит к гибели клетки; колицин ЕЗ действует как рибонуклеаза, разрушая рибосомную РНК и ингибируя синтез белков в целевых клетках, что делает штаммы особенно эффективными в борьбе с конкурирующими бактериями; нарушение синтеза пептидогликана колицинами, такими как колицин М, за счёт ингибирования ферментов, участвующих в синтезе пептидогликана, что приводит к лизису клеточной стенки и гибели бактерии. Гены колицинов локализуются на плазмидах, что способствует их горизонтальному переносу между бактериями. Структурные гены, кодирующие колицины, сопровождаются генами, отвечающими за иммунитет бактерии к собственным колицинам и за лизис клеток в процессе секреции бактериоцина [30–32] (рис. 3).

Микроцины — это небольшие антимикробные пептиды с массой от 1 до 10 кДа, которые также обладают узкой антимикробной активностью. В отличие от колицинов, микроцины могут быть закодированы как на плазмидах, так и на хромосомах, что делает их генетически разнообразными. Микроцины делятся на два основных подкласса: подкласс I — микроцины с массой менее 5 кДа, которые подвергаются посттрансляционным модификациям, что придаёт им дополнительные свойства, такие как стабильность в жёстких условиях окружающей среды и увеличение спектра антимикробного действия, например микроцины J25 (рис. 4, 5), B17 и E492 [33–35]; подкласс II — микроцины массой от 5 до 10 кДа, которые могут быть как модифицированными, так и не модифицированными пептидами, например,

микроцины V и H47, действуют путём ингибирования ключевых ферментов в клетках-мишенях или используют системы захвата железа (сидерофоры) для проникновения в клетку [36, 37]. Микроцины демонстрируют большое разнообразие в структуре и функциях благодаря различным посттрансляционным модификациям и разнообразию механизмов действия. Например, микроцин J25 ингибирует РНК-полимеразу бактерий, блокируя транскрипцию, а микроцин E492 может взаимодействовать с мембранами бактерий через сидерофороподобные структуры, что делает его особенно эффективным против патогенов, зависящих от железа [38, 39] (см. рис. 4, 5).

Микроцин E492 — низкомолекулярный (7887 Да) порообразующий микроцин, продуцируемый *K. pneumoniae* и *E. coli*, имеющий широкий спектр действия — штаммы бактерий семейства Enterobacteriaceae. В клетках бактерий микроцин E492 находится в двух фазах: немодифицированной амилоидной (прионоподобной) и модифицированной активной. Длина оперона синтеза микроцина E492 составляет около 13 тыс. п. н., в него включены не менее 10 генов. Кроме того, на этом же опероне локализованы другие гены, для которых не установлена принадлежность к синтезу микроцина E492 (рис. 6). Оперон синтеза микроцина V расположен на плазмиде ColV, включает в себя структурный ген (*cvaC*), два гена секреции (*cvaB* и *cvaA*) и ген иммунитета против колицина (*cvi*). Микроцин J25 — плазмиднокодируемый бактериоцин, оперон его синтеза включает ген-прекур-





**Рис. 4. Механизм действия бактериоцинов на клетки-мишени.**

**Примечание.** *a* — микроцины, например, MccB17, MccJ25 и MccC7-C51 ингибируют ДНК-гиразу, РНК-полимеразу и аспартил-тРНК-синтетазу, соответственно, тогда как MccE492 функционирует за счёт образования пор. *b* — антибиотики и некоторые бактериоцины класса II ингибируют синтез клеточной стенки путём связывания с липидами I и II (незаменимыми предшественниками синтеза клеточной стенки). Это связывание делает транс-пептидазу и трансглюкозилазу неспособными использовать липид II, ингибируя синтез пептидогликанов [38].

**Fig. 4. Mechanism of action of bacteriocins on target cells.**

**Note.** *a* — microcins such as MccB17, MccJ25, and MccC7-C51 inhibit DNA gyrase, RNA polymerase, and aspartyl-tRNA synthetase, respectively, whereas MccE492 functions by forming pores. *b* — antibiotics and some class II bacteriocins inhibit cell wall synthesis by binding to lipids I and II (essential precursors for cell wall synthesis). This binding renders transpeptidase and transglycosylase unable to utilize lipid II, inhibiting peptidoglycan synthesis [38].

сор (*mcjA*), два гена белков-модификаторов (*mcjB* и *mcjC*), а также ген белка-экспортёра (*mcjD*).

### III. Препараты на основе бактериоцинов, разрешённые в мире

В последние годы проведены исследования и разработаны новые перспективные препараты на основе бактериоцинов, находящихся на разных стадиях доклинических и клинических испытаний. Вот несколько примеров таких препаратов с доказанной эффективностью в различных областях.

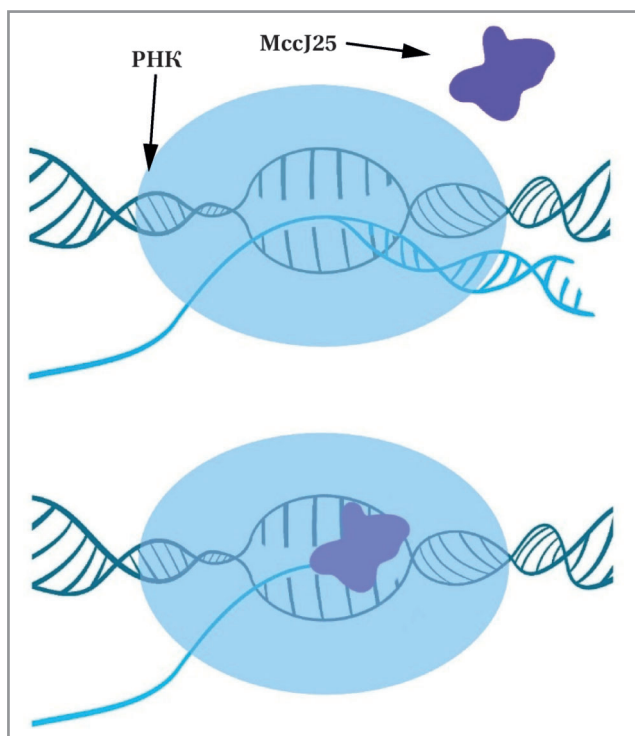
1. Низин — бактериоцин показал свою эффективность в доклинических испытаниях против различных патогенных бактерий, включая устойчивые к антибиотикам штаммы. В исследовании, проведённом в 2021 г., была продемонстрирована эффективность низина против метициллинорезистент-

ного *Staphylococcus aureus* (MRSA) в модели инфекций кожи у мышей [40]. В настоящее время используется в качестве консерванта пищевых продуктов.

2. Бактериоцин, продуцируемый *Lactobacillus salivarius* для лечения вагинальных инфекций. Доклинические испытания показали, что бактериоцин АВР-118, продуцируемый *L. salivarius*, эффективен при бактериальном вагинозе [41].

3. Педиоцин для лечения мастита у коров. Педиоцин был протестирован на коровах с маститом и показал высокую эффективность в снижении бактериальной нагрузки [42].

4. Энтероцин для профилактики желудочно-кишечных инфекций у свиней. Энтероцин А был протестирован на свиньях и показал способность значительно снижать частоту желудочно-кишечных инфекций. Проведённые испытания в 2021 г. на моделях кишечных инфекций у свиней подтвердили его эффективность [43].



**Рис. 5.** Механизм действия микроцина J25 (MccJ25) осуществляется путём взаимодействия с активным центром РНК-полимеразы, блокируя процесс транскрипции.

**Fig. 5.** The mechanism of action of microcin J25 (MccJ25) is implemented by interacting with the active center of RNA polymerase, blocking the transcription process.

5. Лактококцин для продления срока годности молочных продуктов. Лактококцин показал свою эффективность в увеличении срока годности молочных продуктов за счёт подавления роста патогенных бактерий. В 2023 г. было проведено исследование, подтверждающее его эффективность в качестве консервата в продлении срока годности йогуртов и сыров [44].

6. Плантарицин для обработки мясных продуктов. Плантарицин использовался для обработки мясных продуктов и показал способность эффективно снижать количество патогенных бактерий. В 2022 г. исследование продемонстрировало успешное использование плантарицина для снижения количества *Listeria monocytogenes* в обработанных мясных продуктах [45].

7. Покрытие медицинских инструментов бактериоцинами. Низин и другие бактериоцины могут использоваться для создания антимикробных покрытий на медицинских инструментах, таких как катетеры и имплантаты. В 2020 г. были проведены исследования, подтверждающие эффективность таких покрытий в предотвращении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в частности с применением медицинских устройств [46].

8. Пробиотические продукты с добавлением бактериоцинов для поддержания нормальной

микрофлоры кишечника. Пробиотики, содержащие бактерии, продуцирующие бактериоцины, а также с добавлением к имеющимся бактериям очищенных бактериоцинов, показали свою эффективность в поддержании микрофлоры кишечника. В 2021 г. исследования показали, что пробиотики с *Lactobacillus plantarum*, продуцирующим плантарицин, эффективно улучшают состояние микрофлоры кишечника у людей [47].

#### **IV. Исследования новых свойств и областей применения бактериоцинов**

По мере увеличения научных данных о бактериоцинах, возможности их применения в практике также расширяются, включая новые области, которые ранее оставались неизученными. Вначале их использовали для улучшения условий производства, в консервировании и обеспечении безопасности пищевых продуктов в пищевой промышленности. Однако в настоящее время им нашли применение в таких областях, как биотехнология, экология, фармацевтика, сельское хозяйство, клиническая медицина и ветеринария. Таким образом, бактериоцины представляют собой эффективное решение для широкого спектра различных проблем.

##### **1. Применение бактериоцинов в медицине.**

Бактериоцины обладают значительным потенциалом в медицинской и фармакологической сферах благодаря своей антимикробной активности и другим свойствам. Однако их использование ограничивается некоторыми техническими и экономическими проблемами, такими как стабильность и стоимость производства. Тем не менее, с помощью современных методов биоинженерии можно преодолеть эти ограничения и улучшить их свойства для более широкого применения в медицине. Несколько исследований продемонстрировали эффективность бактериоцинов на животной модели *in vivo*, подтверждая тот факт, что они потенциально могут использоваться в клинических условиях. Некоторые бактериоцины подходят к стадии клинических испытаний; однако, несмотря на их возможный потенциал, существуют некоторые ограничения, такие как биодоступность, стабильность, растворимость в физиологических условиях, восприимчивость к протеолитическим ферментам, высокие производственные затраты и отсутствие цитотоксической оценки, которые ограничивают использование бактериоцинов для клинических исследований и их коммерциализацию для будущего терапевтического использования. Тем не менее, биоинженерные подходы могут быть реализованы для улучшения физико-химических и биологических характеристик препаратов на основе бактериоцинов.

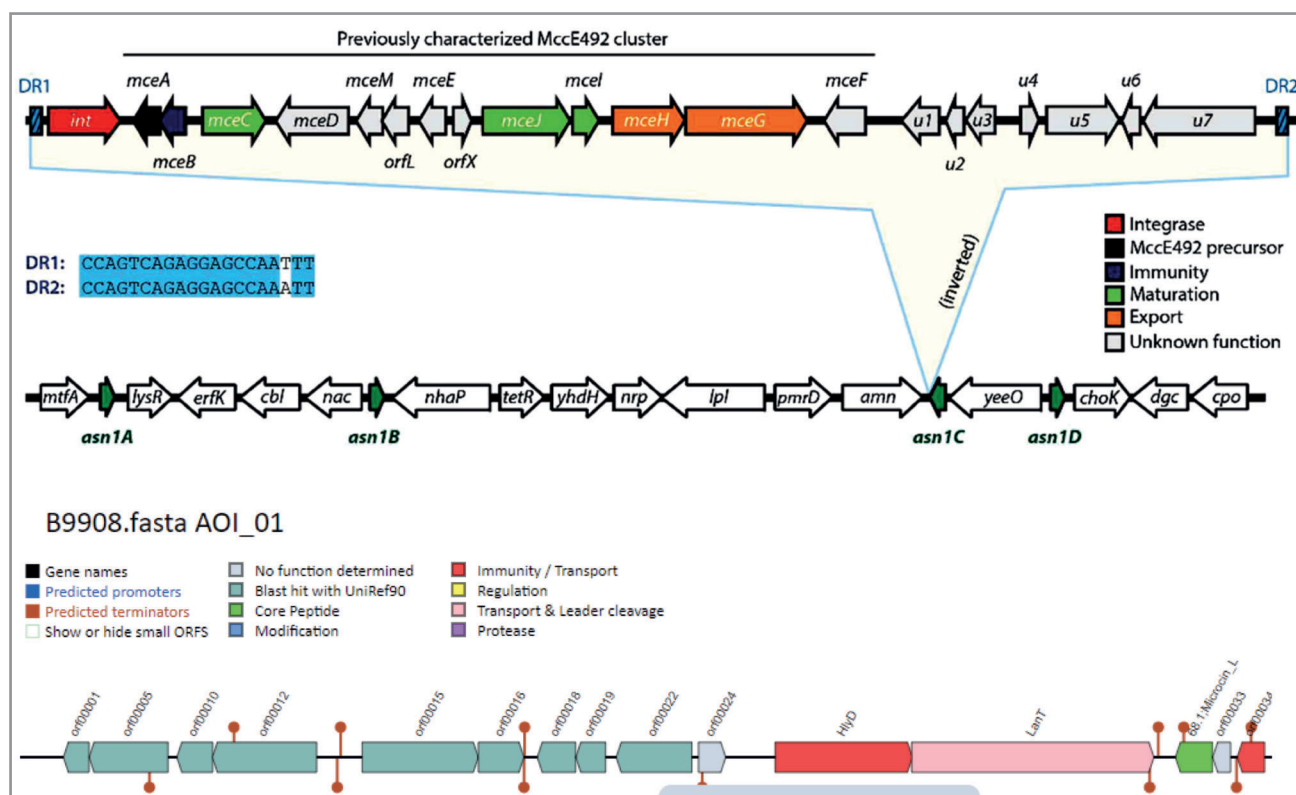


Рис. 6. Сегмент (22291 п.н.) хромосомы гипervирулентного штамма *K. pneumoniae* MGH78578, окружённый прямыми повторами DR1 и DR2, включающий ранее охарактеризованный кластер генов, кодирующих микроцин E492, и как минимум семь дополнительных генов, кодирующих белки с неизвестной функцией [39] и структура микроцина L штамма *E. coli* B-9908 [не опубликованные данные].

Fig. 6. A 22,291 bp segment of the chromosome of the hypervirulent *K. pneumoniae* strain MGH78578 surrounded by direct repeats DR1 and DR2, containing the previously characterized gene cluster encoding microcin E492 and at least seven additional genes encoding proteins of unknown function [39] and the structure of microcin L of *E. coli* strain B-9908 [non published data].

Бактериоцины являются перспективными с позиции альтернативных антибиотикам препаратов и могут быть использованы в борьбе с возбудителями инфекционных заболеваний, обладающих множественной или экстремальной, а также панрезистентностью. Они обладают мощной антимикробной активностью против широкого спектра патогенов, включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, например ESKAPE-патогены. Бактериоцины эффективны против множества патогенов, вызывающих широкий спектр нозологий, например инфекции дыхательных путей, инфекции кровотока, инфекции центральной нервной системы, инфекции кожи и мягких тканей, инфекции различных органов и другие. Исследования показывают, что бактериоцины могут быть эффективны как топическое средство, используемые при инфекциях кожи, полости рта, а также для профилактики и лечении мастита [48–51].

Некоторые бактериоцины продемонстрировали эффективность по сравнению с антибиотиками, что может снизить риск развития перекрёстной резистентности. Более того, сочетание

бактериоцинов с антимикробными препаратами с различными механизмами действия может повысить их антимикробную активность, одновременно снижая риск развития резистентности. Многие исследования показали ингибирующее действие различных бактериоцинов на патогены, ответственные за внутрибольничные инфекции, такие как метициллинорезистентный золотистый стафилококк (MRSA), ванкомицинорезистентный энтерококк, *Clostridioides difficile* и многие грамотрицательные патогенные бактерии, такие как *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria* spp. и *Haemophilus influenza*. Например, было показано, что микроцин J25, продуцируемый грамотрицательными бактериями, проявляет высокую антимикробную активность против штаммов *Salmonella* spp. и *E. coli*, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью. Кроме того, бактериоцины проявляли антимикробную активность в отношении штаммов с множественной лекарственной устойчивостью: *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp. и сем. Enterobacteriaceae, продуцирующих NDM-1. Очищенные и микробиологически охарактеризованные



бактериоцины, такие как мутацин 1140 и саливарицин D показали высокую ингибирующую активность против штаммов, ответственных за респираторные инфекции у людей, а именно *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Кроме того, сообщалось, что низин F проявляет *in vitro* и *in vivo* ингибирующую активность против клинических штаммов *S. aureus*. Терапия бактериоцинами эффективно использовалась как альтернатива антибиотикотерапии при лечении инфекции, вызванной *C. difficile*.

Узкий спектр действия некоторых бактериоцинов определяет необходимость идентификации вида, ответственного за развитие инфекции, т. е. исключая их использование для лечения инфекций неизвестной этиологии. Однако эта особенность снижает вероятность побочных эффектов в отношении естественной микробиоты, например, субтилозин А, который подавлял *Gardnerella vaginalis*, не оказывал влияния на *Lactobacillus* spp. Возможность участия бактериоцинов в профилактике инфекций ЖКТ было продемонстрировано лишь в нескольких исследованиях. Милетт и соавт. (2008) показали, что использование двух штаммов кишечного происхождения, продуцирующих бактериоцин, *Lactococcus lactis* MM19 и *Pediococcus acidilactici* MM33, снизило кишечную колонизацию устойчивых к ванкомицину вариантов *Enterococcus* spp. у мышей.

Интересно, что введение пяти пробиотических штаммов, включая штамм, продуцирующий бактериоцин, *Lactobacillus salivarius* str. DPC 6005, было эффективным в подавлении инфекции, вызванной *Salmonella enterica* серовара *Typhimurium* у свиней. У грамотрицательных бактерий сидерофорные пептиды микроцины М и Н47, продуцируемые пробиотическим штаммом *E. coli* Nissle 1917, коммерчески продаваемым под названием Mutaflor R (Германия), и микроцин J25, выделенный из штамма *E. coli* из фекалий младенца, как было показано, активны против патогена *S. enterica* ser. Enteritidis в мышинных моделях. Клиническое использование бактериоцинов зависит от достижений в области биоинженерных технологий, крупномасштабного производства бактериоцинов или различных аналогов и дальнейших исследований их фармакокинетики и фармакодинамических свойств.

**2. Противоопухолевые свойства бактериоцинов.** Установлено, что бактериоцины обладают противоопухолевыми свойствами, что, потенциально, может быть использовано в качестве альтернативных методов лечения [52–55]. Некоторые бактериоцины, вырабатываемые как грамотрицательными, так и грамположительными бактериями, продемонстрировали цитотоксические свойства. Например, микроцин E492, колицины А, D, E1, E2, E3 и низин проявили цитотоксические эффекты против злокачественных клеточных ли-

ний человека [56–58]. Эти свойства бактериоцинов в отношении раковых клеток обусловлены индукцией апоптоза или деполяризацией клеточной мембраны, что приводит к изменению её проницаемости [54]. В одном из исследований низин продемонстрировал увеличение фрагментации ДНК или апоптоз, а также снижение пролиферации клеток за счёт активации блокировки клеточного цикла в раковых клетках шеи и головы. Кроме того, в данном исследовании приводятся результаты о том, что низин также способствует уменьшению размера опухолей у мышей с раком полости рта [59].

В другом эксперименте, проведённом *in vitro*, использовали азурин, продуцируемый *P. aeruginosa*, который был изучен как потенциальный противоопухолевый агент из-за его специфического взаимодействия с опухолевыми клетками человека и образования цитотоксических и апоптотических эффектов, не оказывающих воздействия на нормальные клетки [60].

**3. Спермицидные и противовирусные свойства бактериоцинов.** Интересным способом использования антимикробных пептидов является создание на их основе средств контрацепции. Было продемонстрировано, что некоторые бактериоцины, такие как низин, субтилозин, ферментин и лактицин, обладают спермицидными свойствами, изменяя подвижность сперматозоидов человека, что демонстрирует их потенциал в качестве контрацептивов [61–64]. В одном из исследований, в котором изучали спермицидные свойства низина на кроликах, после двухнедельного интравагинального применения препарата были получены результаты, показывающие предотвращение зачатия и отсутствие воспалений или повреждений эпителия влагалища [65]. Однако стоит отметить, что при использовании таких же концентраций низина на человеке высока вероятность повреждений вагинальной микрофлоры здорового человека [66].

Бактериоцины также могут обладать ценностью как противовирусные вещества. Некоторые бактериоцины проявляют противовирусную активность в отношении вирусов простого герпеса ВПГ-1 и ВПГ-2 [67–69]. Несмотря на имеющуюся информацию о противовирусных свойствах, механизм такого действия бактериоцинов остаётся непонятным. Он может включать агрегацию вирусов, блокировку критических этапов взаимодействия вируса с клеткой, например распознавание рецепторов.

**4. Применение бактериоцинов в пищевой промышленности.** В классическом смысле применение бактериоцинов в пищевой промышленности связано с их использованием в качестве биологических консервантов. Возможности применения бактериоцинов в пищевой промышлен-



ности были широко изучены с момента их открытия. Бактериоцины естественно синтезируются и готовы к использованию, не оказывают влияния на цвет, вкус или запах пищи. Микроцины также демонстрируют стабильность при высоких температурах и низком pH, что определяет возможность их использования в пищевой отрасли.

Возможность широкого применения бактериоцинов в пищевой промышленности основывается на нескольких положительных аспектах: уменьшение риска передачи пищевых патогенов и развития пищевой инфекции; продление срока годности пищевого продукта; сокращение затрат и времени на обработку пищевых продуктов; обеспечение безопасного альтернативного метода консервации для готовой к употреблению пищи; обеспечение дополнительной защиты продукта во время эпизодов нарушения температурного режима хранения [70–73].

Несмотря на разнообразные методы обработки пищевых продуктов, включая термическую и химическую обработку, всё ещё существуют серьёзные потери из-за микробного загрязнения и порчи продуктов. В связи с этим начали рассматривать возможности применения антимикробных агентов, включая бактериоцины, при разработке антимикробной упаковки, что позволяет снизить риск микробного загрязнения. Большинство бактериоцинов сохраняют свою антимикробную активность во время обработки пищи. Сохранность бактериоцинов в продукте и/или на упаковке не зависит от изменений температуры, стерилизации, пастеризации или других техник обработки. Растущий спрос потребителей на безопасную, натуральную и свободную от химических веществ или антибиотиков пищу позволил пищевой промышленности исследовать использование бактериоцинов в разрабатываемой пищевой упаковке. Активные материалы с покрытием бактериоцинами являются перспективным решением для повышения безопасности и срока годности пищевого продукта [74].

Бактериоцины могут быть нанесены непосредственно на поверхность или введены в матрицу упаковочной плёнки. Покрытие упаковки бактериоцинами служит для защиты продуктов питания путём непрерывного взаимодействия с упакованным продуктом и изменения внутренних условий микробиоты в пределах требуемого срока годности [75]. Однако нужно учитывать физико-химические свойства и механизмы действия выбранных бактериоцинов для такого использования [17, 76]. Плёночная упаковка или полимеры, включающие бактериоцины, напрямую ингибируют рост микроорганизмов на поверхности пищи, где происходит большая часть контаминации продуктов.

Отдельно стоит рассмотреть направления работы с биоплёнками и применение бактериоцинов

для борьбы с ними [77, 78]. Биоплёнки, сформированные микроорганизмами в пищевой промышленности, представляют собой барьер, обладающий защитными свойствами, обеспечивающими устойчивость к противомикробным агентам и затрудняющие удаление культур с поверхности. Биоплёнки считаются преимущественной формой существования микроорганизмов в природных условиях [79]. Некоторые из этих микроорганизмов — известные патогены, и биоплёнки часто образуются на поверхностях, используемых в производстве пищевых продуктов [80].

Недавние исследования подтверждают потенциальное применение бактериоцинов как антибактериального средства в пищевой промышленности. Определённые бактериоцины обеспечивают значительное снижение возможности формирования биоплёнок и могут даже разрушать уже сформированные биоплёнки. Для оптимального использования бактериоцинов в качестве агентов борьбы с биоплёнками требуются дополнительные исследования, направленные на понимание их механизмов действия и широты спектра активности [81–83].

**5. Применение бактериоцинов в животноводстве и ветеринарии.** Антибиотики часто используются в ветеринарии и животноводстве для лечения или профилактики заболеваний животных, а также в качестве стимуляторов роста. Однако такая практика привела к увеличению числа и распространению устойчивых к антибиотикам патогенов, передающихся от животных к людям. Для борьбы с этой проблемой многие страны запретили использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста в животноводстве [84–87]. В связи с этим применение бактериоцинов или штаммов, продуцирующих бактериоцины, как альтернативных антибиотикам препаратов для стимуляции роста, профилактики или терапии заболеваний в животноводстве и ветеринарии рассматривается как перспективное направление [88].

Доказанным положительным применением бактериоцинов в лечении заболеваний крупного рогатого скота является лечение мастита. Данное заболевание связано с воспалением молочной железы у крупного рогатого скота и считается серьёзной проблемой, приводящей к значительным экономическим потерям из-за снижения количества и качества получаемого молока. Это заболевание часто вызывается различными бактериями, такими как *S. aureus*, *Staphylococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus uberis*, *E. coli* и др. [89]. У нескольких вариантов бактериоцинов, таких как лактицин 3147 и низин, установлена антагонистическая активность в отношении возбудителей мастита, таких как *Staphylococcus agalactiae* и *S. aureus* [90–93]. Федераль-

ное управление по контролю за продуктами и лекарствами в США одобрило использование препарата на основе низина (Wipe Out Dairy Wipes) для лечения мастита у коров [94]. Другие бактериоцины, такие как ауреоцины A70, A53, эпиланцин K7, энтомоцин, Пер5, курстаин 287, бактериоцин ST91KM, уберолизин, низин U, кениацин 404 и эпидермин, также проявили антимикробное действие против различных видов бактерий, вызывающих маститы.

Кроме того, бактериоцины используются для снижения обсеменённости сальмонеллами и другими патогенами у домашней птицы и свиней. Исследования показали эффективность применения пробиотиков, содержащих *Lactobacillus plantarum*, продуцирующих плантарицин EF, в борьбе с инфекциями у птиц и свиней, что способствует снижению падежа животных и увеличению живой массы [95]. Включение в состав кормов колицина E1 улучшило показатели роста и значительно снизило возможности развития диареи у поросят, обусловленной F18-положительной энтеротоксигенной *E. coli* [96]. Дополнение корма штаммом *L. salivarius* с бактериоцином Abp118 привело к нормализации кишечной микробиоты, увеличению эффективности потребления корма и улучшению показателей роста у свиней [97]. Включение в корм как одного педиоцина A, так и в комбинации с продуцирующим его штаммом приводило к улучшению показателей роста у бройлеров, инфицированных *Clostridium perfringens* [98]. Включение низина в рацион бройлеров благоприятно влияло на микробиоту кишечника и значительно улучшало переваривание корма и показатели роста [96]. Диетическое дополнение рациона бройлеров микроцином J25 значительно улучшило показатели роста, состав и разнообразие кишечной микробиоты, снизило уровень системного воспаления и количество нетипичных *E. coli* и сальмонелл [99].

**6. Применение бактериоцинов в рыбоводном хозяйстве.** Бактериоцины стали многообещающим средством в рыбоводном хозяйстве. Данные антимикробные пептиды могут эффективно бороться с различными патогенами, улучшать качество воды и продуктов рыбоводства, а также продлевать срок их хранения. Недавние исследования показали, что бактериоцины способны эффективно снижать концентрацию бактерий, таких как представителей р. *Aeromonas* и р. *Vibrio*, улучшать иммунную функцию и рост биомассы в рыбоводном хозяйстве. Бактериоцины также могут помогать в снижении заболеваемости и смертности у различных биологических видов, используемых в рыбоводном хозяйстве [100–103].

**7. Применение бактериоцинов в стимуляции роста растений.** Некоторые бактериоцины также используются для стимуляции роста растений. Например, бактериоцины бактурицин F4

и турицин 17, вырабатываемые разными штаммами *Bacillus thuringiensis*, а также бактериоцин C85, продуцируемый *Bacillus cereus* UW85, способствуют увеличению фотосинтеза, увеличению массы растений и улучшению других параметров у кукурузы, сои и томатов. Данные антимикробные пептиды также помогают защитить растения от фитопатогенов. Другие бактериоцины, такие как амилоциклицин, Bac 14B, Bac-GM17, путидацин, и цереин 8A, также применяются для антимикробного действия в отношении фитопатогенов и стимуляции роста у растений [104, 105].

## V. Комбинированные препараты на основе бактериоцинов, включающие генно-инженерные конструкции

Коммерчески доступными препаратами бактериоцинов на основе низина, являются:

1. Teatseal®, производимый Zoetis, США;
2. Wipe-Out®, производимый Immucell Corporation, США;
3. Mast Out®, производимый Immucell Corporation, США.

Данные препараты обычно используются для профилактики и лечения мастита у дойных коров [96]. Кроме того, упаковочные плёнки на основе сои с добавлением низина были коммерциализированы в качестве пищевой упаковки, обладающей антимикробными свойствами для подавления *Listeria* spp. [57].

Несколько других препаратов на основе бактериоцинов находятся на различных этапах испытаний, в том числе клинических для последующего их использования в системе здравоохранения, а также агропродовольственной промышленности (см. таблицу). Данные препараты являются перспективными для их применения в различных областях, таких как здравоохранение и агропродовольственная промышленность, что делает их важной частью текущих и будущих стратегий борьбы с патогенными микроорганизмами [96, 106].

Несмотря на интенсивные исследования в течение последнего десятилетия, предполагающие использовать бактериоцины, как потенциальные агенты для клинического применения, фармацевтические компании не вкладывают значительных средств в разработку бактериоцинов для клинического применения. Фактически, крупномасштабное производство может быть одним из ограничений для клинической разработки и рыночного использования бактериоцинов.

Микробиспорицин NAI-107 является примером успешно произведённого бактериоцина. На-

## Разрабатываемые препараты на основе бактериоцинов Bacteriocin-based drugs under development

| Бактериоцин | Препарат              | Производитель                 |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|
| Сакацин     | Bactoferm FLC®        | Chr. Hansen, Херсхольм, Дания |
| NVB302      | Клинические испытания | Nabriva Therapeutics, США     |
| Moli1901    | Клинические испытания | Molecular Partners, Швейцария |
| Педион      | Bactin                | НИИ ветеринарии (Россия)      |
| Педиоцин    | Fargo 23              | Quest International, В. В.    |
| NAI-107     | Клинические испытания | Nabriva Therapeutics          |

пример, Novacta Biosystems Ltd. разработала аналог мерсацидина, который обладает активностью против клинически важных патогенов, таких как MRSA, VRE, *C. difficile* и *Streptococcus pyogenes*, и находится на доклинической стадии с потенциалом использования в медицинских целях. Аэрозольный дурамицин, коммерческое название Moli1901, AOP Orphan Pharmaceuticals и Lantibio (Вена, Австрия), завершил II фазу клинических испытаний для лечения муковисцидоза. Мутацин 1140 (MU1140, Orogenics, США) и микробиспорицин (NAI-107, Naicons SRL и Sentinella Pharmaceuticals) были разработаны для лечения инфекций, вызванных мультирезистентными грамположительными микроорганизмами, и находятся на стадии доклинических испытаний. Штаммы *Streptococcus salivarius*, продуцирующие бактериоцин, были коммерциализированы под названиями BLIS K12 и BLIS M18 (Новая Зеландия) и переведены в стадию клинических испытаний; используют в препаратах для гигиены полости рта, и они в настоящее время завершили испытания фазы II/III для лечения инфекций ротоглотки.

Потенциальным ограничением применения бактериоцинов в медицинской практике является их чувствительность к протеолитическим ферментам при пероральном приёме, однако технологии инкапсуляции обеспечивают их защиту от деградации. Фармакокинетические и фармакодинамические характеристики бактериоцинов являются важными факторами для прогнозирования их успеха в качестве терапевтических агентов в клинических исследованиях. Потенциал бактериоцинов *in vitro* может не коррелировать с клинической эффективностью. В частности, биоинженерные и полусинтетические стратегии были реализованы для разработки новых вариантов бактериоцинов с оптимизированной стабильностью, биологической активностью и фармакокинетическими профилями, такими как быстрые скорости распределения и выведения, хорошая биодоступность.

## Заключение

В данной статье рассмотрены современные представления о номенклатуре бактериоцинов, ме-

ханизмах их антимикробного действия, подходы к применению бактериоцинов и перспективы их применения на практике в разных отраслях. В условиях нарастающей антибиотикорезистентности бактериоцины становятся крайне важным инструментом в борьбе с патогенными микроорганизмами. Их узконаправленное действие позволяет сохранять нормальную микрофлору, что является значительным преимуществом перед антибиотиками широкого спектра действия.

Препараты на основе бактериоцинов демонстрируют многообещающие результаты в различных областях, таких как пищевая промышленность, где они могут использоваться как природные консерванты; животноводство, где они могут стать альтернативой антибиотикам для стимуляции роста, профилактики и лечения заболеваний у животных и др. Уникальные свойства бактериоцинов, такие как высокая стабильность и разнообразие механизмов действия, делают их перспективным решением для борьбы с устойчивыми к антибиотикам патогенами в качестве возможных препаратов для медицинских целей, а также для повышения безопасности пищевых продуктов и др. Интересным является нестандартные направления применения бактериоцинов, включая их возможное использование в качестве иммуномодуляторов, контрацептивов и даже противоопухолевых агентов. Эти новые области исследования открывают огромные возможности для использования бактериоцинов за пределами традиционных антимикробных стратегий.

Однако, несмотря на многочисленные перспективы, остаются нерешённые вопросы, связанные с производством и применением бактериоцинов. В частности, требуется больше исследований для понимания их долгосрочной безопасности, эффективности в различных условиях и возможности масштабирования производства, что возможно позволит обеспечить их широкое внедрение в медицинскую и промышленную практику. Бактериоцины представляют собой мощный инструмент для борьбы с патогенными микроорганизмами и в решении многих современных задач в медицине и промышленности. Дальнейшие исследования в этой области имеют огромное значение и могут значительно повлиять на развитие новых под-



ходов к борьбе с инфекциями и улучшению качества жизни.

### Дополнительная информация

**Финансирование.** Работа проведена в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора НИР087 «Характеристика генетической структуры и получение микроцина L против антибиотикорезистентных грамотрицательных бактериальных патогенов».

## Литература/References

- Min K. H., Kim K. H., Ki M.-R., Pack S. P. Antimicrobial peptides and their biomedical applications: a review. *Antibiotics*. 2024; 13: 794. doi: 10.3390/antibiotics13090794.
- Corrêa J. A. F., de Melo Nazareth T., da Rocha G. F., Luciano F. B. Bioactive antimicrobial peptides from food proteins: perspectives and challenges for controlling foodborne pathogens. *Pathogens*. 2023; 12: 477. doi: 10.3390/pathogens12030477.
- Mahlapu M., Håkansson J., Ringstad L., Björn C. Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016; 6: 194. doi: 10.3389/fcimb.2016.00194.
- Egan K., Field D., Rea M. C., Ross R. P., Hill C., Cotter P. D. Bacteriocins: novel solutions to age old spore-related problems? *Front Microbiol*. 2016; 7: 461. doi: 10.3389/fmicb.2016.00461.
- Bourdichon F., Boyaval P., Casaregola S. The 2012 Inventory of Microbial Species with technological beneficial role in fermented food products. *Bull Int Dairy Federation*. 2012; 455: 22–61. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.030.
- Lahiri D., Nag M., Dutta B., Sarkar T., Pati S., Basu D., Abdul Kari Z., Wei L. S., Smaoui S., Wen Goh K., Ray R. R. Bacteriocin: A natural approach for food safety and food security. *Front. Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 1005918. doi: 10.3389/fbioe.2022.1005918.
- Silva C. C. G., Silva S. P. M., Ribeiro S. C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 594. doi: 10.3389/fmicb.2018.00594.
- Zielińska D., Kolożyn-Krajewska D. Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *Biomed Res Int*. 2018; 18: 1–15. doi: 10.1155/2018/5063185.
- Ryan K. A., Jayaraman T., Daly P. Isolation of lactobacilli with probiotic properties from the human stomach. *Lett Appl Microbiol*. 2008; 47 (4): 269–274. doi: 10.1111/j.1472-765x.2008.02416.x.
- Verso L. L., Lessard M., Talbot G., Fernandez B., Fliss I. Isolation and selection of potential probiotic bacteria from the pig gastrointestinal tract. *Probiot Antimicrob Proteins*. 2018; 10 (2): 299–312. doi: 10.1007/s12602-017-9309-3.
- O'Sullivan J. N., Rea M. C., O'Connor P. M., Hill C., Ross R. P. Human skin microbiota is a rich source of bacteriocin-producing staphylococci that kill human pathogens. *FEMS Microbiol Ecol*. 2019; 95 (2): fty241. doi: 10.1093/femsec/fty241.
- Zipperer A., Konnerth M. C., Laux C., et al. Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 2016; 535 (7613): 511–516. doi: 10.1038/nature18634.
- Caufield J. H., Zhou Y., Garlid A. O. A reference set of curated biomedical data and metadata from clinical case reports. *Sci Data*. 2018; 5 (1): 1–18. doi: 10.1038/sdata.2018.258.
- Wang G., Li X., Wang Z. APD3: The antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res*. 2016; 44: D1087–D1093. doi: 10.1093/nar/gkv1278.
- Perez R. H., Zendo T., Sonomoto K. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microb Cell Factories*. 2014; 13: S3. doi: 10.1186/1475-2859-13-S1-S3.
- Zacharof M. P., Lovitt R. W. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBE Procedia*. 2012; 2: 50–56. doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.010.
- Ahmad V., Khan M. S., Jamal Q. M. S., Alzohairy M. A., Al Karaawi M. A., Siddiqui M. U. Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. *Int. J Antimicrob Agents*. 2017; 49: 1–11. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016.
- Parada J. L., Caron C. R., Medeiros A. B. P., Socol C. R. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives, *Braz Arch Biol Technol*. 2007; 50: 521–542. doi: 10.1590/S1516-89132007000300018.
- de Vos W. M., Kuipers O. P., van der Meer J. R., Siezen R. J. Maturation pathway of nisin and other lantibiotics: post-translationally modified antimicrobial peptides exported by gram-positive bacteria. *Mol Microbiol*. 1995; 17 (3): 427–437. doi: 10.1111/j.1365-2958.1995.mmi\_17030427.x.
- Sahl H. G., Bierbaum G. Lantibiotics: biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol*. 1998; 52: 41–79. doi: 10.1146/annurev.micro.52.1.41.
- Oppegård C., Rogne P., Emanuelsen L., Kristiansen P. E., Fimland G., Nissen-Meyer J. The two-peptide class II bacteriocins: structure, production, and mode of action. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2007; 13(4): 210–219. doi: 10.1159/000104750.
- Drider D., Fimland G., Héchard Y., McMullen L. M., Prévost H. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006; 70 (2): 564–582. doi: 10.1128/MMBR.00016-05.
- Papagianni M., Anastasiadou S. Pediocins: the bacteriocins of pediococci. sources, production, properties and applications. *Microb Cell Fact*. 2009; 8: 3. doi: 10.1186/1475-2859-8-3.
- O'Shea E. F., O'Connor P. M., O'Sullivan O., Cotter P. D., Ross R. P., Hill C. Bactofencin A, a new type of cationic bacteriocin with unusual immunity. *mBio*. 2013; 29; 4 (6): e00498–13. doi: 10.1128/mBio.00498-13.
- O'Connor P. M., O'Shea E. F., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. The potency of the broad spectrum bacteriocin, bactofencin A, against staphylococci is highly dependent on primary structure, N-terminal charge and disulphide formation. *Sci Rep*. 2018; 7; 8(1): 11833. doi: 10.1038/s41598-018-30271-6.
- Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*. 2005; 3 (10): 777–788. doi: 10.1038/nrmicro1273.
- Simons A., Alhanout K., Duval R. E. Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms*. 2020; 27; 8 (5): 639. doi: 10.3390/microorganisms8050639.
- Kumariya R., Garsa A. K., Rajput Y. S., Sood S. K., Akhtar N., Patel S. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microb Pathog*. 2019; 128: 171–177. doi: 10.1016/j.micpath.2019.01.002.
- Vaughan E. E., Daly C., Fitzgerald G. F. Identification and characterization of helveticin V-1829, a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 1829. *J Appl Bacteriol*. 1992; 73 (4): 299–308. doi: 10.1111/j.1365-2672.1992.tb04981.x.
- Marković K. G., Grujović M. Ž., Koračević M. G. Colicins and microcins produced by Enterobacteriaceae: characterization, mode of action, and putative applications. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19: 11825. doi: 10.3390/ijerph191811825.
- Rebuffat S. Bacteriocins from gram-negative bacteria: a classification? In: Drider D., Rebuffat S (eds) *Prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications*. Springer, New York, 2011; 55–72.
- Cascales E., Buchanan S. K., Duché D. Colicin biology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2007; 71: 158–229. doi: 10.1128/MMBR.00036-06.
- Telhig S., Ben Said L., Torres C., Rebuffat S., Zirah S., Fliss I. Evaluating the potential and synergetic effects of microcins against multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Microbiol Spectr*. 2022; 29; 10 (3): e0275221. doi: 10.1128/spectrum.02752-21.
- Telhig S., Pham N. P., Ben Said L., Rebuffat S., Ouellette M., Zirah S., Fliss I. Exploring the genetic basis of natural resistance to microcins. *Microb Genom*. 2024; 10 (2): 001156. doi: 10.1099/mgen.0.001156.
- Pons A. M., Lanneluc I., Cottenceau G., Sable S. New developments in non-post translationally modified microcins. *Biochimie*. 2002; 84 (5–6): 531–537. doi: 10.1016/s0300-9084(02)01416-5.
- Kuznetsova M. V., Mihailovskaya V. S., Remezovskaya N. B., Starčič E. M. Bacteriocin-producing *Escherichia coli* isolated from the gastrointestinal tract of farm animals: prevalence, molecular characterization and potential for application. *Microorganisms*. 2022; 2; 10 (8): 1558. doi: 10.3390/microorganisms10081558.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.



37. Kenneally C., Murphy C. P., Seator R. D., Culligan E. P. Turbidimetric bioassays: A solution to antimicrobial activity detection in asymptomatic bacteriuria isolates against uropathogenic *Escherichia coli*. Microbiologyopen. 2024; 13 (3): e1411. doi: 10.1002/mbo3.1411.
38. Baquero F., Beis K., Craik D. J., Li Y., Link A. J., Rebuffat S., Salomón R., Severinov K., Zirah S., Hegemann J. D. The pearl jubilee of microcin J25: thirty years of research on an exceptional lasso peptide. Nat Prod Rep. 2024; 20 (3): 469–511. doi: 10.1039/d3np00046j.
39. Aguilera P., Berrios-Pastén C., Veloso M., Gálvez-Silva M., Turbant F., Lagos R., Wien F., Arluison V., Marcolato A. E. The Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-Gallate (EGCG) Interferes with Microcin E492 Amyloid Formation. Molecules. 2023; 25 (21): 7262. doi: 10.3390/molecules28217262.
40. Maher S., McClean S., McGrath S. Efficacy of nisin against MRSA in a murine skin infection model. J Antimicrob Chemother. 2021; 76 (8): 2078–2086. doi: 10.1093/jac/dkab133.
41. Gómez N. C., Ramiro J. M., Quecan B. X. V., de Melo Franco B. D. G. Lactobacillus salivarius bacteriocin ABP-118: Efficacy in a murine model of bacterial vaginosis. Microbial Pathogenesis. 2022; 164: 105411. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105411.
42. Buckner R., Zakrewski S. S., Wiegand S., Pieper R., Fromm A., Fromm M., Gunzel D., Schulze J.-D. Zinc prevents intestinal epithelial barrier dysfunction induced by alpha-hemolysin-producing *Escherichia coli* 536 infection in porcine colon. Veterinary Microbiology. 2020; 244: 108632. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108632.
43. Barraza D. E., Almeida R. C., Del Campo R. Enterocin a: effectiveness in reducing gastrointestinal infections in swine models. Animal Feed Science and Technology. 2021; 275: 114890. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.114890.
44. Burke L., O'Sullivan O., Cotter P. D. Application of Lactococcin in extending the shelf life of dairy products. Dairy Science & Technology. 2023; 103 (1): 45–56. doi: 10.3166/dst.2023.0015.
45. Martínez B., Rodríguez A., Sudrez J. E. Use of Plantaricin to control *Listeria monocytogenes* in meat products. Meat Science. 2022; 185: 108707. doi: 10.1016/j.meatsci.2022.108707.
46. Jones S. E., Carvalho M. G., Abrams P. A. Bacteriocin-based antimicrobial coatings for medical devices: efficacy and safety evaluation. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2020; 108 (6): 2540–2549. doi: 10.1002/jbm.b.34601.
47. Hernández D., Cardell E., Zúñiga M. Effectiveness of probiotic supplements containing bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* in improving gut health. Nutrients. 2021; 13 (6). doi: 10.3390/nu13062021.
48. Eijssink V. G. H. Antimicrobial peptides and bacteriocins: therapeutic potential. Internati J Med Microbiol. 2018; 308 (1): 28–39. doi: 10.1186/s13567-017-0425-6.
49. García P. Nisin-loaded nanoparticles as a therapeutic strategy against respiratory infection by *Streptococcus pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2019; 74 (7): 1981–1991.
50. Liu X. Topical application of nisin-based formulations for the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced skin infections. Antimicrobial Agents Chemother. 2017; 61 (4): e01947–16.
51. Malvisi M. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of Lactococcin in bovine mastitis. J Dairy Science. 2016; 99 (5): 3647–3657.
52. Papo N., Shai Y. Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. Cell Mol Life Sci. 2005; 62: 784–790. doi: 10.1007/s00018-005-4560-2.
53. Hoskin D. W., Ramamoorthy A. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. BBA Biomembranes. 2008; 1778: 357–375. doi: 10.1016/j.bbame.2007.11.008.
54. Kaur S., Kaur S. Bacteriocins as potential anticancer agents. Front Pharmacol. 2015; 6: 272. doi: 10.3389/fphar.2015.00272.
55. Lagos R., Tello M., Mercado G. Antibacterial and antitumorigenic properties of microcin E492, a pore-forming bacteriocin. Curr Pharm Biotechnol. 2009; 10: 74–85. doi: 10.2174/138920109787048643.
56. Lancaster L. E., Wintermeyer W., Rodnina M. V. Colicins and their potential in cancer treatment. Blood Cell Mol Dis. 2007; 38: 15–18. doi: 10.1016/j.bcmd.2006.10.006.
57. Ahmad V., Khan M. S., Jamal Q. M. S. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. Int J Antimicrob Agents. 2017; 49: 1–11. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016.
58. Kamarajan P., Hayami T., Matte B., Nisin Z. P. A bacteriocin and food preservative, inhibits head and neck cancer tumorigenesis and prolongs survival. PLoS One. 2015; doi: 10:e0131008.
59. Joo N. E., Ritchie K., Kamarajan P. Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC 1. Cancer Med. 2012; 1: 295–305. doi: 10.1002/cam4.35.
60. Yamada T., Hiraoka Y., Ikehata M. Apoptosis or growth arrest: modulation of tumor suppressor p53's specificity by bacterial redox protein azurin. Proc Natl Acad Sci U. S. A. 2004; 101: 4770–5. doi: 10.1073/pnas.0400899101.
61. Aranha C., Gupta S., Reddy K. Contraceptive efficacy of antimicrobial peptide nisin: *in vitro* and *in vivo* studies. Contraception. 2004; 69: 333–338. doi: 10.1016/j.contraception.2003.11.002.
62. Sutyak K. E., Anderson R. A., Dover S. E. Spermicidal activity of the safe natural antimicrobial peptide subtilisin. Infect Dis Obstet Gynecol. 2008; 2008: 540758. doi: 10.1155/2008/540758.
63. Kaur B., Balgir P. P., Mittu B. Biomedical applications of fermenticin HV6b isolated from *Lactobacillus fermentum* HV6b MTCC10770. Biomed Res Int. 2013; 2013: 168438. doi: 10.1155/2013/168438.
64. Silkin L., Hamza S., Kaufman S. Spermicidal bacteriocins: lactacin 3147 and subtilisin A. Bioorg Med Chem Lett. 2008; 18: 3103–3106. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.11.024.
65. Reddy K., Aranha C., Gupta S. Evaluation of antimicrobial peptide nisin as a safe vaginal contraceptive agent in rabbits: *in vitro* and *in vivo* studies. Reproduction. 2004; 128: 117–26. doi: 10.1530/rep.1.00028.
66. Dicks L. M., Dreyer L., Smith C. A review: the fate of bacteriocins in the human gastro-intestinal tract: do they cross the gut-blood barrier? Front Microbiol. 2018; 9: 2297. doi: 10.3389/fmicb.2018.02297.
67. Wachsmann M. B., Castilla V., de Ruiz Holgado A. P. Enterocin C. RL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication *in vitro*. Antivir Res. 2003; 58: 17–24. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00099-2.
68. Todorov S. D., Wachsmann M., Tomé E. Characterisation of an antiviral peidocin-like bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*. Food Microbiol. 2010; 27: 869–79. doi: 10.1016/j.fm.2010.05.001.
69. Quintana V. M., Torres N. L., Wachsmann M. B. Antihherpes simplex virus type 2 activity of the antimicrobial peptide subtilisin. J Appl Microbiol. 2014; 117: 1253–1259. doi: 10.1111/jam.12618.
70. Shafique B., Ranjha M. M., Murtaza M. A., Walayat N., Nawaz A., Khalid W., Mahmood S., Nadeem M., Manzoor M. F., Ameer K., Aadil R. M., Ibrahim S. A. Recent trends and applications of nanoencapsulated bacteriocins against microbes in food quality and safety. Microorganisms. 2022; 28; 11 (1): 85. doi: 10.3390/microorganisms11010085.
71. Field D., Fernandez de Ullivarri M., Ross R. P., Hill C. After a century of nisin research — where are we now? FEMS Microbiol Rev. 2023; 19; 47 (3): fuad023. doi: 10.1093/femsre/fuad023.
72. Yu W., Guo J., Liu Y., Xue X., Wang X., Wei L., Ma J. Potential impact of combined inhibition by bacteriocins and chemical substances of foodborne pathogenic and spoilage bacteria: a review. Foods. 2023; 20; 12 (16): 3128. doi: 10.3390/foods12163128.
73. Darbandi A., Asadi A., Mahdizadeh Ari M., Ohadi E., Talebi M., Halaj Zadeh M., Darb Emamie A., Ghanavati R., Kakanj M. Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. J Clin Lab Anal. 2022; 36 (1): e24093. doi: 10.1002/jcla.24093.
74. Benabbou R., Subirade M., Desbiens M., Fliss I. Divergicin M35-chitosan film: development and characterization. Probiotics Antimicrob Proteins. 2020; 12 (4): 1562–1570. doi: 10.1007/s12602-020-09660-9.
75. Gumienna M., Górna B. Antimicrobial food packaging with biodegradable polymers and bacteriocins. Molecules. 2021; 18; 26 (12): 3735. doi: 10.3390/molecules26123735.
76. Sanguyo F. H. C., Angeles F. L. A., Deborde S. M. V. Bacteriocin and its current application as a food packaging film component against spoilage: a narrative review. AJBLS. 2021; 10: 325–339. doi: 10.5530/ajbbs.2021.10.45.
77. Murphy N., Moreno V., Hughes D. J., Vodicka L., Vodicka P., Aglago E. K., Gunter M. J., Jenab M. Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility. Mol Aspects Med. 2019; 69: 2–9. doi: 10.1016/j.mam.2019.06.005.
78. Jiang Y., Berry D. C., Graff J. M. Distinct cellular and molecular mechanisms for  $\beta$ 3 adrenergic receptor-induced beige adipocyte formation. Elife. 2017; 11; 6: e30329. doi: 10.7554/eLife.30329.
79. Nozhevnikova A. N., Botchkova E. A., Plakunov V. K. Multi-species biofilms in ecology, medicine, and biotechnology. Mikrobiologiya. 2015; 84 (6): 623–644. PMID: 26964353.
80. Flemming H. C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S. A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. Nat Rev Microbiol. 2016; 11; 14 (9): 563–75. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.
81. Duarte A. F. S., Ceotto-Vigoder H., Barrias E. S., Souto-Padrón T. C., Nes I. E., Bastos M. D. Hyicin 4244, the first saccharibiotic described in staphylococci, exhibits an anti-staphylococcal biofilm activity. Int J Antimicrob Agents. 2018; 51 (3): 349–356. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.06.025.
82. Chopra L., Singh G., Kumar Jena K., Sahoo D. K. Sonorensin: A new bacteriocin with potential of an anti-biofilm agent and a food biopreservative. Sci Rep. 2015; 21; 5: 13412. doi: 10.1038/srep13412.
83. Zhang L., Ben Said L., Hervé N., Zirah S., Diarra M. S., Fliss I. Effects of drinking water supplementation with *Lactobacillus reuteri*, and a mixture of reuterin and microcin J25 on the growth performance, caecal microbiota and selected metabolites of broiler chickens. J Anim Sci Biotechnol. 2022; 5; 13 (1): 34. doi: 10.1186/s40104-022-00683-6.

84. European Commission. Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed. 2005; Available at: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP\\_05\\_1687](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_05_1687). Accessed 31 Aug 2023.
85. AccessScience Editors. U. S. bans antibiotics use for enhancing growth in livestock. McGraw-Hill Professional. 2017. doi: 10.1036/1097-8542.br0125171.
86. Prescott J. Veterinary Antimicrobial Stewardship in Australia. Can Vet J. 2019; 60 (3): 246–248. PMID: 30872846.
87. World Organization for Animal Health (WOAH) Annual report for antimicrobial agents intended for use in animals, 7<sup>th</sup> edn. 2023; Available at: <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/a-seventh-annual-report-amu-final.pdf>. Accessed 19 Sept 2023.
88. Ben Lagha A., Haas B., Gottschalk M., Grenier D. Antimicrobial potential of bacteriocins in poultry and swine production. Vet Res. 2017; 48: 22. doi: 10.1186/s13567-017-0425-6.
89. Cheng W. N., Han S. G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments — a review. Asian-Australas J Anim Sci. 2020; 33: 1699–1713. doi: 10.5713/ajas.20.0156.
90. Field D., Considine K., O'Connor P. M. Bio-engineered nisin with increased anti-*Staphylococcus* and selectively reduced anti-*Lactococcus* activity for treatment of bovine mastitis. Int J Mol Sci. 2021. doi: 10.3390/ijms22073480.
91. Bennett S., Ben Said L., Lacasse P. Susceptibility to nisin, bactofencin, pediocin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis. Antibiotics (Basel). 2021; 10 (11): 1418. doi: 10.3390/antibiotics10111418.
92. Heinzinger L. R., Pugh A. R., Wagner J. A., Otto M. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans. Antibiotics (Basel). 2023; 12 (8): 1256. doi: 10.3390/antibiotics12081256.
93. Raheel I., Mohammed A. N., Mohamed A. A. The efficacy of bacteriocins against biofilm-producing bacteria causing bovine clinical mastitis in dairy farms: a new strategy. Curr Microbiol. 2023; 80: 229. doi: 10.1007/s00284-023-03324-x.
94. Klostermann K., Crispie F., Flynn J. Efficacy of a teat dip containing the bacteriocin lactacin 3147 to eliminate Gram-positive pathogens associated with bovine mastitis. J Dairy Res. 2010; 77: 231–238. doi: 10.1017/S0022029909990239.
95. Salvucci E., Saavedra L., Hebert E. M. Enterocin C. R. L35 inhibits *Listeria monocytogenes* in a murine model. Foodborne Pathog Dis. 2012; 9: 68–74. doi: 10.1089/fpd.2011.0972.
96. Soltani S., Hammami R., Cotter P. D., Rebuffat S., Said L. B., Gaudreau H., Bedard F., Biron E., Drider D., Fliss I. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. FEMS Microbiol Rev. 2021; 8; 45 (1): fuaa039. doi: 10.1093/femsre/fuua039.
97. Riboulet-Bisson E., Sturme M. H. J., Jeffery I. B. Effect of *Lactobacillus salivarius* bacteriocin Abp118 on the mouse and pig intestinal microbiota. PLoS ONE. 2012; 7: e31113. doi: 10.1371/journal.pone.0031113.
98. Grilli E., Messina M. R., Catelli E., et al. Pediocin A improves growth performance of broilers challenged with *Clostridium perfringens*. Poult Sci. 2009; 88: 2152–2158. doi: 10.3382/ps.2009-00160.
99. Reuben R. C., Sarkar S. L., Ibnat H. Novel mono- and multi-strain probiotics supplementation modulates growth, intestinal microflora composition and haemato-biochemical parameters in broiler chickens. Vet Med Sci. 2022; 8 (2): 668–680. doi: 10.1002/vms3.709.
100. Wang J., Zhang S., Ouyang Y., Li R. Current developments of bacteriocins, screening methods and their application in aquaculture and aquatic products. Biocatal Agric Biotechnol. 2019. doi: 10.1016/j.bcab.2019.101395.
101. Stentford G. D., Peeler E. J., Tyler C. R. A seafood risk tool for assessing and mitigating chemical and pathogen hazards in the aquaculture supply chain. Nat Food. 2022; 3: 169–178. doi: 10.1038/s43016-022-00465-3.
102. Feito J., Araújo C., Arbulu S., et al. Design of *Lactococcus lactis* strains producing garvicin A and/or garvicin Q, either alone or together with nisin A or nisin Z and high antimicrobial activity against *Lactococcus garvieae*. Foods. 2023; 12: 1063. doi: 10.3390/foods12051063.
103. Contente D., Diaz-Rosales P., Feito J. Immunomodulatory effects of bacteriocinogenic and non-bacteriocinogenic *Lactococcus cremoris* of aquatic origin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Front Immunol. 2023; 14: 1178462. doi: 10.3389/fimmu.2023.1178462.
104. Nazari M., Smith D. L. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of thuricin 17 characteristics and applications. Front Plant Sci. 2020; 11: 916. doi: 10.3389/fpls.2020.00916.
105. Negash A. W., Tsehai B. A. Current applications of bacteriocin. Int J Microbiol. 2020; 20: 4374891. doi: 10.1155/2020/4374891.
106. Cesa-Luna C., Alatorre-Cruz J.-M., Carreño-López R., et al. Emerging applications of bacteriocins as antimicrobials, anticancer drugs, and modulators of the gastrointestinal microbiota. Pol J Microbiol. 2021; 70: 143–159. doi: 10.33073/pjm-2021-020.

Поступила / Received 25.08.2024

Принята в печать / Accepted 30.09.2024

## Информация об авторах

Теймуразов Марат Георгиевич — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия

Коваленко Илья Михайлович — младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия

Хохлова Ольга Евгеньевна — д. б. н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2829-5117

## About the authors

Marat G. Teimurazov — Ph. D. in Biology, Senior Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Obolensk, Russia

Ilya M. Kovalenko — Junior Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Obolensk, Russia

Olga E. Khokhlova — D. Sc. in Biology, Associate Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Obolensk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2829-5117

# Современные методы идентификации нетуберкулёзных микобактерий

Г. Н. ГЕНАТУЛЛИНА, \*А. Л. ЯСЕНЯВСКАЯ, М. А. САМОТРУЕВА

Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

## Резюме

В последнее время отмечается активный рост заболеваемости нетуберкулёжными микобактериозами, что определено не только совершенствованием методов обнаружения нетуберкулёзных микобактерий, но и с достаточно высокой осведомлённостью медицинского персонала. Выбор наиболее точного метода идентификации является крайне важным в определении тактики лечения пациентов, так как у различных по темпам роста микобактерий имеются выраженные различия в устойчивости к антимикробным препаратам. Появление молекулярно-генетических методов исследования позволяет идентифицировать и типировать большинство известных в настоящее время нетуберкулёзных микобактерий, а также определять их лекарственную чувствительность. Распространённость микобактериозов, представляющих на сегодняшний день серьёзную проблему как для врачей-клиницистов, так и для специалистов лабораторной службы, требует разработки новой стратегии их микробиологической диагностики.

**Ключевые слова:** нетуберкулёзные микобактерии; микобактериозы; идентификация; молекулярно-генетические методы

**Для цитирования:** Генатуллина Г.Н., Ясенявская А.Л., Самотруева М.А. Современные методы идентификации нетуберкулёзных микобактерий. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 86–90. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-86-90>. EDN: MYZIBA.

## Modern Methods of Identification of Non-Tuberculous Mycobacteria

GUZEL N. GENATULLINA, \*ANNA L. YASENYAVSKAYA, MARINA A. SAMOTRUEVA

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

## Abstract

Recently, an active increase in the incidence of non-tuberculous mycobacteriosis has been registered, which is determined not only by the improvement of methods for detecting non-tuberculous mycobacteria, but also by a fairly high level of awareness of medical personnel. The choice of the most accurate identification method is extremely important in determining the treatment tactics, since mycobacteria with different growth rates have pronounced differences in resistance to antimicrobial drugs. The emergence of molecular genetic research methods makes it possible to identify and type most of the currently known non-tuberculous mycobacteria, as well as determine their drug sensitivity. The prevalence of mycobacteriosis, which today represents a serious problem for both clinicians and laboratory specialists, requires the development of a new strategy for its microbiological diagnostics.

**Keywords:** non-tuberculous mycobacteria; mycobacteriosis; identification; molecular genetic methods

**For citation:** Genatullina G. N., Yasyenyavskaya A. L., Samotrueva M. A. Modern methods of identification of non-tuberculous mycobacteria. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (9–10): 86–90. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-86-90>. EDN: MYZIBA.

В настоящее время активно растёт число пациентов, страдающих от инфекций, вызываемых нетуберкулёжными микобактериями, что обусловлено увеличением доли иммунокомпрометированных пациентов и наличием у них различных коморбидных состояний, а также значительным

усовершенствованием и активным внедрением в практику методов идентификации микобактерий. Термин «нетуберкулёзные микобактерии» (НТМБ) объединяет в себе сапрофитные и потенциально патогенные микобактерии, представленные грамположительными кислотоустойчивыми неспоро-

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: yasen\_9@mail.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: yasen\_9@mail.ru



EDN: MYZIBA



образующими бактериям рода *Mycobacterium*, постоянно обитающие в окружающей среде и насчитывающие более 200 видов [1, 2]. В настоящее время известно более 150 видов НТМБ, многие из которых могут вызывать микобактериозы у человека. Заболевания, вызываемые разными видами НТМБ, характеризует сходная с туберкулёзом клинико-рентгенологическая картина поражения лёгких, однако схема химиотерапии микобактериозов отличается от таковой при туберкулёзе вследствие естественной резистентности НТМБ к противотуберкулёзным препаратам [3].

Впервые информация об атипичных микобактериях, впоследствии получивших название нетуберкулёзные, появилась ориентировочно в начале XX в. Интерес к данной группе микроорганизмов среди микробиологов был ограничен, с одной стороны, из-за трудностей с их выделением и идентификацией, с другой стороны, из-за отсутствия данных об их клиническом значении на фоне высокого роста заболеваемости туберкулёзом. На сегодняшний день достаточный объём данных о патогенетическом действии НТМБ определяет актуальность проблемы своевременной и качественной диагностики микобактериозов [2].

При использовании только классических микробиологических методов возникает ряд проблем, связанных с выделением и идентификацией НТМБ. Так, выявление и идентификация возбудителя до вида в рамках микробиологического исследования длительна и осуществляется с помощью набора малодоступных и недостаточно специфичных биохимических тестов, что в сочетании с высокой естественной резистентностью возбудителя приводит к развитию хронических деструктивных поражений лёгких. Отсутствие простых чувствительных методов микробиологической диагностики ограничивает возможности эпидемиологического мониторинга микобактериозов, что, в очередной раз, подчёркивает острую необходимость использования современных эффективных молекулярно-генетических методов исследования для выявления, видовой идентификации и типирования микроорганизмов [4].

На сегодняшний день идентификация НТМБ, проводимая в лабораториях различных стран, вышла на качественно новый уровень в связи с появлением новейших высокоспецифичных и высокоточных методов диагностики, среди которых важное место занимают молекулярно-генетические методы [2, 5].

Одними из наиболее распространённых среди лабораторных исследований являются методы линейного анализа с использованием фрагментов ДНК, меченных тем или иным образом, предназначенные для проведения амплификации ДНК и последующей гибридизацией на нейлоновых мем-

бранах, так называемых ДНК-стрипах с маркерными олигонуклеотидными зондами. Данные ДНК-зонды позволяют определять комплементарные ему нуклеотидные последовательности [2, 6]. Одна из первых диагностических тест-систем с применением клонированных нуклеотидных последовательностей в качестве молекулярных зондов, позволяющая выявлять микобактерии в клиническом материале, разработана И.Г. Мальковым. Видовую принадлежность синтезированного фрагмента устанавливали, применяя олигонуклеотидные зонды, избирательно гибридизующиеся с ДНК *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*, *M. paratuberculosis* или *M. fortuitum*. В 1992 г. опубликованы результаты по идентификации, выделению, клонированию и характеристике фрагментов ДНК *M. tuberculosis*, которые могут быть использованы в качестве зондов для идентификации *M. tuberculosis* [6]. Метод линейного анализа с использованием фрагментов ДНК позволяет идентифицировать часто встречающиеся и клинически значимые виды НТМБ, исследуя культуру, выросшую как на плотной, так и жидкой питательных средах, максимальное время получения результата — от нескольких часов до 2 дней. В более специализированных лабораториях используется молекулярно-генетическая идентификация микобактерий по гену *16S* рРНК, который обладает высокой консервативностью: отличия в последовательности даже на 1% (и более) обычно позволяют говорить о видовом различии образцов [2, 7, 8].

Данные, полученные в ходе секвенирования последовательности *16S* рРНК для каждого вида микобактерий, были депонированы в общедоступных базах данных, чтобы помочь как в идентификации известных НТМБ, так и в регистрации новых видов. Наряду с этим для идентификации видов используется анализ двух гипервариабельных последовательностей в гене *16S* рРНК (так называемые области А и В). Секвенирование области А обычно достаточно для видовой идентификации большинства НТМБ, в то время как секвенирование области В используется, когда описывается новый вид или вид, который невозможно отличить только на основании области А. Например, при идентификации *M. chelonae* и *M. abscessus* было определено, что данные представители микобактерий отличаются только 4 п. н., что затрудняет их дифференциацию данным методом. Некоторые виды с недавней дивергенцией могут содержать весьма сходные последовательности гена *16S* рРНК (например, разница между *M. szulgai* и *M. malmoeense* составляет два нуклеотида) [9].

Наряду с вышеописанными методиками в решении проблемы видовой дифференциации микобактерий нашло применение мультилокусное секвенирование, позволяющее различать штаммы



одного микроорганизма. Данный анализ заключается в секвенировании определённого набора генов [10]. Данный метод позволяет установить у каждого штамма специфический «аллельный профиль» или сиквенс-тип по выбранным локусам. Наряду с преимуществом данного метода по идентификации бактерии до подвида, следует отметить, достаточно сложное внедрение в рутинную лабораторную диагностику из-за трудоёмкости и высокой стоимости [2].

В последнее время активно находят отклик использование методов, связанных с анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (PRA method) последовательности гена, кодирующего белок теплового шока 65 кДа (Hsp65). Данная методика хоть и является относительно быстрой и позволяет определять многие виды НТМБ, которые не идентифицируются фенотипическими методами, однако, также как и MLST, не является актуальной в рутинной практике медицинских лабораторий [2].

Все вышеуказанные методы широко используются в специализированных микробиологических лабораториях. Однако стоит отметить, что при этом на идентификацию требуется большое количество времени и средств. Оптимальным решением данной проблемы является появление совершенно новой системы, представленной в виде метода матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации — времяпролётной масс-спектрометрии, позволяющей ионизировать биологические макромолекулы (ДНК, белки, пептиды, олигонуклеотиды, липополисахариды и др.) в присутствии особого вещества — матрицы — под воздействием лазера.

Принцип данного метода основан на многократном воздействии импульсов лазера на бактериальную клетку, предварительно покрытую матрицей, представляющей собой вещество ( $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота), которое способно понижать деструктивные характеристики лазерного излучения и повышать последующую ионизацию анализируемого вещества. Полученные в ходе воздействия ионизированные белки движутся к детектору, который находится в анализаторе. Разделение полученных ионов во времяпролётном анализаторе осуществляется за счёт разной скорости перемещения и обратно пропорциональной массе иона.

Данные относительно пути перемещения иона от источника ионизации до детектора, а также времени, затраченного на перемещение, позволяют произвести вычисление скорости движения иона и отношение массы к заряду для каждого иона. Использование чистой культуры микроорганизма или его экстрактов в качестве исследуемого образца позволяет получить спектр характеристик, специфичный для узких таксоно-

мических групп — рода, вида или даже штамма. На основе характеристик полученного спектра при помощи программных биоинформатических инструментов осуществляется идентификация исследуемого микроорганизма в чистой культуре либо в смешанных культурах.

Процесс идентификации основан на сравнении полученных масс-спектров с референсными спектрами, присутствующими в базах данных. При достаточном количестве совпадений делается вывод о таксономической принадлежности исследуемых микроорганизмов к конкретной таксономической группе. Результаты идентификации микроорганизмов с применением настоящих практических рекомендаций не требуют дополнительного подтверждения классическими биохимическими тестами [11].

Важным преимуществом данного метода является то, что он обеспечивает высокую производительность, чувствительность и специфичность, а также скорость анализа, требующего меньше одной минуты. Однако следует отметить и тот факт, что качество диагностики зависит от наличия определённых баз данных, что, в свою очередь, оказывает влияние на стоимость идентификации. Также на идентификацию могут влиять условия культивирования микроорганизмов, методы подготовки проб и ряд других факторов [2].

Определение видовой идентификации играет особое значение при выборе клинической тактики, позволяя оценить не только НТМБ как этиологический фактор в развитии патологического процесса, но и сделать адекватный выбор антимикробной химиотерапии, в том числе с учётом резистентности к антимикробным препаратам. Несмотря на то, что НТМБ принадлежат к роду *Mycobacterium*, их отличительной особенностью от микобактерий туберкулёзного комплекса является чувствительность к антимикробным препаратам. Большинство видов НТМБ имеют природную устойчивость как к противотуберкулёзным препаратам, так и к препаратам других групп.

На данный момент существует несколько методов определения у микобактерий антибиотикорезистентности, большая часть из которых основана на культивировании микобактерий на плотных или жидких питательных средах с добавлением антимикробных препаратов разных концентраций с применением прямого и непрямого посева. При первом варианте используют две питательные среды для посева, и клинический материал, подготовленный соответствующим образом, засевают на среды как содержащие определённые концентрации антибактериальных препаратов, так и без содержания антибактериальных препаратов. При непрямом методе на питательные среды, которые содержат и не содержат

определённые концентрации лекарственных препаратов, засеваются суспензия чистой культуры микобактерий, выращенной на искусственных средах. В международной практике также отмечается использование и других методов определения чувствительности к антимикробным препаратам: метод пропорций на среде Миддлбука 7H10 или Левенштейна–Йенсена; метод коэффициента резистентности; метод абсолютных концентраций на плотной яичной среде Левенштейна–Йенсена; радиометрический метод Bactec R460 и др. [2, 12]. Одним из наиболее перспективных на сегодняшний день методов является метод, основанный на двойных серийных микроразведениях препаратов различных групп для определения минимальных подавляющих концентраций с использованием тест-систем для медленнорастущих и быстрорастущих НТМБ [2].

## Заключение

Рост пациентов, страдающих от инфекций, вызываемых нетуберкулёзными микобактериями и отсутствие простых чувствительных методов микробиологической диагностики ограничивают

возможности эпидемиологического мониторинга микобактериозов. Данный факт подчёркивает необходимость использования современных эффективных молекулярно-генетических методов исследования для выявления, видовой идентификации и типирования микобактерий. Распространённость микобактериозов, представляющих на сегодняшний день серьёзную проблему как для врачей-клиницистов, так и для специалистов лабораторной службы, требует разработки новой стратегии их микробиологической диагностики, позволяющей быстро детектировать лекарственную устойчивость к ним, выявлять НТМБ и назначать адекватный режим химиотерапии повышая эффективность лечения и предотвращая распространение лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий.

## Дополнительная информация

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Разработка тест-систем для скрининговой ПЦР-диагностики, мониторинга течения микобактериозов и видовой ПЦР-идентификации микобактерий».

## Литература/References

1. Daley C. L., Griffith D. E. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2010; 14 (6): 665–671.
2. Лямин А. В., Жестков А. В., Исмагуллин Д. Д., Ковалев А. М. Лабораторная диагностика микобактериозов. *Вестник современной клинической медицины.* 2017; 10 (1): 29–35. doi: [https://doi.org/10.20969/VSKM.2017.10\(1\).29-35](https://doi.org/10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35). [Lyamin A. V., Zhestkov A. V., Ismatullin D. D., Kovalev A. M. Laboratornaya diagnostika mikobakteriozov. *Vestnik Sovremennoj Klinicheskoy Meditsiny.* 2017; 10 (1): 29–35. doi: [https://doi.org/10.20969/VSKM.2017.10\(1\).29-35](https://doi.org/10.20969/VSKM.2017.10(1).29-35). (in Russian)]
3. Макарова М. В., Гунтупова Л. Д. Нетуберкулёзные микобактерии. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2020; 20 (2): 97–102. doi: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-97-102> [Makarova M. V., Guntupova L. D. Netuberkuleznye mikobakterii. *BIOPreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie.* 2020; 20(2): 97–102. doi: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-97-102> (in Russian)]
4. Бузова П. О. Современные методы диагностики микобактериозов. FORCIPE. 2019; Приложение, 595–596. [Burova, P. O. Sovremennyye metody diagnostiki mikobakteriozov. *FORCIPE.* 2019; Prilozhenie, 595–596. (in Russian)]
5. Лабинская А. С., Костюкова Н. Н. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. М.: Изд-во «Бином» 2013; 752. [Labinskaya A. S., Kostyukova N. N. *Opportunistic infections: возбудители i etiologicheskaya diagnostika.* Moscow: Izd-vo «Binom» 2013; 752. (in Russian)]
6. Зубаирова П. Ю., Исламов И. М. Детекции бактериальных инфекций с помощью ДНК-зондов. Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. 2016; 10 (2): 34–40 [Zubairova P. Yu., Islamov I. M. Detekcii bakterial'nyh infekcij s pomoshch'yu DNK-zondov. *Izvestiya Dagestanskogo Gosudarstvennogo Pedagogicheskogo Universiteta. Estestvennye i Tochnye Nauki.* 2016; 10 (2): 34–40 (in Russian)]
7. McNabb A., Eisler D., Adie K., Amos M., Rodrigues M., Stephens G., Black W. A., Isaac-Renton J. Assessment of partial sequencing of the 65-kilodalton heat shock protein gene (hsp65) for routine identification of mycobacterium species isolated from clinical sources. *J Clin Microbiol.* 2004; 42, 3000–3011. doi: [10.1128/JCM.42.7.3000-3011.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.3000-3011.2004).
8. Tortoli E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990's. *J Clin Microbiol. Rev.* 2003; 2: 319–354. doi: [10.1128/CMR.16.2.319-354.2003](https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.319-354.2003).
9. Hall L., Doerr K. A., Wohlfel S. L., Roberts G. D. Evaluation of the MicroSeq system for identification of mycobacteria by 16S ribosomal DNA sequencing and its integration into a routine clinical mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1447–1453. doi: [10.1128/JCM.41.4.1447-1453.2003](https://doi.org/10.1128/JCM.41.4.1447-1453.2003).
10. Воронина О. Л., Кунда М. С., Лунин В. Г., Гинцбург А. Л. Мультилокусное секвенирование — информативный подход молекулярной экологии. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология.* 2010; 4: 7–10 [Voronina O. L., Kunda M. S., Lunin V. G., Gincburg A. L. *Mul'tilokusnoe sekvenirovanie — informativnyj podhod molekulyarnoj ekologii.* *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya.* 2010; 4: 7–10. (in Russian)]
11. Чеботарь И. В., Поликарпова С. В., Бочарова Ю. А., Маянский Н. А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III–IV групп патогенности. *Лабораторная служба.* 2018; 7 (2): 78–86. doi: <https://doi.org/10.17116/labs20187278-86> [Chebotar' I. V., Polikarpova S. V., Bocharova Yu. A., Mayanskij N. A. *Ispol'zovanie vremyaproletoj mass-spektrometrii s matrichno-aktivirovannoj lazernoj desorbciyej/ionizaciy (MALDI-TOF MS) dlya identifikacii bakterial'nyh i gribkovyh vozbuditelej III–IV grupp patogennosti.* *Laboratornaya Sluzhba.* 2018; 7 (2): 78–86. doi: <https://doi.org/10.17116/labs20187278-86> (in Russian)]
12. Huit G. A., Daley C. L. Nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med.* 2015; 36 (1): xi–xii. doi: [10.1016/j.ccm.2014.11.006](https://doi.org/10.1016/j.ccm.2014.11.006).

Поступила / Received 25.09.2024

Принята в печать / Accepted 08.10.2024

## Информация об авторах

*Генатуллина Гузель Наилевна* — к. б. н., заместитель руководителя Научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5417-4477

*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 ID: 0000-0003-2998-2864

*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 ID: 0000-0001-5336-4455

## About the authors

*Guzel N. Genatullina* — Ph. D. in Biology, Deputy 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 the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5417-4477

*Anna L. Yasyavskaya* — 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 the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2998-2864

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

# Кардиотоксичность противоопухолевых средств

\*И. В. МАЙБОРОДИН<sup>1</sup>, А. О. ШУМЕЙКИНА<sup>2</sup>,  
В. И. МАЙБОРОДИНА<sup>1</sup>, С. Э. КРАСИЛЬНИКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Новосибирск, Россия

## Резюме

С целью изучения последних данных по кардиотоксичности противоопухолевых препаратов проведён анализ литературы 2022 г. Многочисленность данных по патогенезу кардиотоксичности даже одного химиотерапевтического средства свидетельствует о многофакторности воздействия и об особенностях индивидуальной чувствительности каждого пациента к тому или иному препарату. В связи с многофакторностью патогенеза кардиотоксичности, клинические проявления этого осложнения также многочисленны, при этом следует учитывать, что онкологические пациенты ещё до развития опухоли могли страдать различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, и что прогрессирование рака даже без терапевтического воздействия или до него может являться причиной неблагоприятных реакций со стороны сердца. Для выявления таких процессов необходимо наблюдение за кардиоонкологическими больными в динамике. При проведении консервативного лечения рака и развитии побочных эффектов полная отмена всех лекарственных средств невозможна, приходится продолжать терапию, проводить повторные её курсы, нередко в течение всей жизни пациента. В связи с этим необходимы методы уменьшения выраженности кардиотоксического эффекта, подавления неблагоприятного влияния на миокард противоопухолевых средств, по-прежнему остаются актуальными поиск и разработка эффективных методов профилактики и лечения кардиотоксичности препаратов для химиотерапии. Своевременное выявление, а значит и предупреждение, и уменьшение степени повреждающего воздействия, начинающегося кардиотоксического эффекта при использовании средств для химиотерапии рака возможно только при тесном сотрудничестве онкологов и кардиологов.

**Ключевые слова:** онкология; кардиология; кардиоонкология; рак; кардиотоксичность; патогенез кардиотоксичности; диагностика кардиотоксичности; уменьшение кардиотоксичности

**Для цитирования:** Майбородин И. В., Шумейкина А. О., Майбородина В. И., Красильников С. Э. Кардиотоксичность противоопухолевых средств: обзор публикаций 2022 г. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 91–107. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-91-107>. EDN: NQMBCB.

## Cardiotoxicity of Anticancer Drugs

\*IGOR V. MAIBORODIN<sup>1</sup>, ANASTASIA O. SHUMEIKINA<sup>2</sup>,  
VITALINA I. MAIBORODINA<sup>1</sup>, SERGEY E. KRASILNIKOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of The Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia

## Abstract

An analysis of the literature for 2022 was carried out in order to study the latest data on the cardiotoxicity of antitumor drugs. The abundance of data on the pathogenesis of cardiotoxicity of even a single chemotherapeutic agent indicates the multifactorial effect and the characteristics of the individual sensitivity of each patient to a particular drug. Due to the multifactorial nature of the pathogenesis of cardiotoxicity, the clinical manifestations of this complication are also numerous. It should be taken into account that oncological patients could have suffered from various cardiovascular diseases even before tumor development, and that cancer progression even without therapeutic intervention, or before it, can cause cardiac side effects. To identify such processes, it is necessary to monitor cardio-oncological patients in dynamics. When conducting conservative cancer treatment and in the event of the development of side effects, the complete cancellation of treatment is impossible, as it is necessary to continue the therapy, as well as repeat its courses, often throughout the patient's life. In this regard, methods are needed to reduce the severity of the cardiotoxic effect, as well as suppress the adverse effects of anticancer drugs on the myocardium, and the search and development of effective methods for the prevention and treatment of cardiotoxicity of chemotherapy drugs are still relevant. Timely detection, and hence, prevention, as well as reduction of the degree of damaging effects of the beginning cardiotoxic effect when using cancer chemotherapy agents is possible only with close cooperation between oncologists and cardiologists.

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: imai@mail.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: imai@mail.ru

EDN: NQMBCB





## Введение

За последнее десятилетие смертность от рака значительно снизилась благодаря более совершенным методам скрининга и более эффективному терапевтическому лечению. Химиотерапия является основным методом лечения этой патологии и необходима для пациентов, так как контролирует рецидивирование и метастазирование опухоли, что приводит к снижению летальности. Химиотерапевтический агент используется либо отдельно, либо в сочетании с другими препаратами, почти все химиотерапевтические агенты могут оказывать неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему. Значительное увеличение выживаемости пациентов привело к появлению определённого количества событий, связанных с побочными эффектами применяемых методов лечения. Консервативное лечение рака связано с различными побочными эффектами противоопухолевых средств, которые увеличивают заболеваемость и смертность этих больных, более 40% смертей от рака в настоящее время связаны с патологиями сердца и сосудов. Сердечно-сосудистые осложнения, кардиотоксичность считаются одним из наиболее важных неблагоприятных эффектов противоопухолевых препаратов из-за прямой токсичности противораковой терапии, а также из-за традиционных сердечно-сосудистых факторов риска, общих для обоих заболеваний. Тяжесть кардиотоксичности, основной причины сердечно-сосудистых заболеваний у онкологических больных, зависит от типа используемой химиотерапии и времени, необходимого для лечения [1–5].

Сердечная недостаточность и рак являются ведущими причинами смерти во всём мире, до 50% всех смертей среди людей среднего возраста, это подтверждается эпидемиологическими исследованиями и исследованиями случай–контроль, демонстрирующими, что пациенты с недостаточностью функций сердца имеют более высокий риск развития рака лёгких и молочной железы, а сама опухоль прогрессирует быстрее. Сердечная недостаточность и рак тесно связаны и влияют друг на друга двунаправленным образом. Ещё до начала противоопухолевой терапии у онкологических больных имеются признаки сердечно-сосудистой недостаточности и толерантности к физической нагрузке. Наличие злокачественного новообразования может вызвать системные метаболические, воспалительные и микробные изменения, приводящие к наруше-

нию сердечной функции. В дополнение к патофизиологическим механизмам, которые являются общими для рака и сердечной недостаточности, также существуют перекрытия между путями, необходимыми для нормальной физиологии сердца и для роста опухоли. Эти совпадения могут объяснить повышенный риск кардиотоксичности и сердечной недостаточности в результате таргетной противораковой терапии [6, 7].

Пятилетняя выживаемость при раке у детей значительно улучшилась за последние десятилетия в связи с широким внедрением полихимиотерапии. Вместе с этим, перенёсшие рак в детстве имеют высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний во взрослом возрасте из-за кардиотоксичности, вызванной противоопухолевой терапией [8].

Есть мнение, что кардиотоксичность противоопухолевых препаратов должна находиться в фокусе внимания онкологов [9]. Однако профилактика, выявление и коррекция сердечно-сосудистых осложнений у онкологических больных является новой задачей и для онкологов, и для кардиологов [10, 11].

Растущее число онкологических больных, старение населения и частое совпадение сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний подчеркнули важность тесного сотрудничества между кардиологами и онкологами. Многие противораковые препараты имеют кардиотоксические побочные эффекты, которые ограничивают их терапевтический потенциал и вызывают долговременные сердечно-сосудистые осложнения у выживших после рака. В результате в 1995 г. кардиологи из Европейского института онкологии ввели термин «кардионкология» — новую дисциплину, посвящённую предупреждению, распознаванию, динамике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний у онкологических больных. Эта специальность активно развивается в последнее десятилетие для точного прогнозирования и эффективной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с лечением опухолевой патологии. Учитывая сложный сценарий, характеризующийся постоянной взаимосвязью между онкологической патологией и сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, клиницисту крайне важно получить знания для правильного удовлетворения потребностей онкологического больного в условиях кардиотоксического лечения. Кардионкология признаёт необходимость фундаментальных, экспериментальных и клинических исследований, направленных на по-

нимание сложных сигнальных событий, которые являются причиной сердечно-сосудистой токсичности, вызванной химиотерапией [10–13].

Потребность в кардиоонкологии продолжает расти, так как такие пациенты живут дольше благодаря эффективным таргетным и иммунологическим методам лечения рака, помимо обычной химиотерапии и/или лучевой терапии. Часто потенциально кардиотоксичное противоопухолевое лечение необходимо пациентам с исходными сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кроме того, пациентам может потребоваться продолжение терапии в условиях возникновения кардиотоксичности, связанной с противоопухолевой терапией [11, 12].

Клиницисты должны планировать график последующего наблюдения и быть осторожными в отношении развития патологии сердца, когда начинается лечение любым противоопухолевым препаратом, даже если пациенты имеют низкий риск сердечно-сосудистых заболеваний [14].

В связи с вышеизложенным была поставлена цель исследования: на основании анализа данных литературы изучить самые последние данные по кардиотоксичности противоопухолевых препаратов. Для поиска литературы по этому побочному эффекту химиотерапевтических средств была проведена выборка в базах данных «PubMed Central», «PubMed Health» и «PubMed» ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) по комбинации ключевых слов «cardiotoxicity» + «anticancer» + «2022» за последний год. В результате поиска найдено 203 источника, из которых выбраны самые, на наш взгляд, интересные и презентативные

## Патогенез кардиоповреждающих эффектов химиопрепаратов

Предлагаемые в настоящее время механизмы объяснения кардиотоксичности различаются для разных противоопухолевых средств, но на самом деле, несмотря на интенсивные исследования, основные её механизмы, молекулярные основы полностью не выяснены, даже для такого широко применяемого препарата антрациклинового ряда, как доксорубин [15–17].

Кардиотоксичность, вызванная противоопухолевыми препаратами, мешает продолжению оптимального лечения, вызывая опасные для жизни риски или приводя к длительной заболеваемости. Сердце представляет собой сложный многоклеточный орган, состоящий не только из кардиомиоцитов. Вклад клеток, не относящихся к кардиомиоцитам, в развитие кардиотоксичности всё чаще оценивается как динамичный и существенный [18]. Воздействие доксорубином серьёзно влияет на клеточные элементы сердца,

молекулярной основой доксорубин-индуцированной кардиомиопатии может являться преждевременное старение [19].

Противоопухолевые препараты, которые оказывают влияние на сердечно-сосудистую систему, включают антрациклины, ингибиторы тирозинкиназы, таксаны, фторпиримидины, алкилирующие агенты, ингибиторы фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ингибиторы протеасом, антитела к рецептору эпидермального фактора роста человека (HER) типа 2 и многие другие. Точные молекулярные механизмы кардиотоксичности остаются неясными, они, вероятно, являются многофакторными и варьируются в зависимости от конкретного типа и дозы используемого агента. К ним относятся окислительный стресс, ингибирование топоизомеразы 2- $\beta$  в кардиомиоцитах, эндотелиальная дисфункция, воспаление, апоптоз, нарушение гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$ , митохондриальные дисфункции и повреждения, разрывы ДНК, повышение уровня различных циркулирующих микроРНК, пироптоз, изменение функции потенциалзависимых калиевых каналов, ферроптоз и аутофагия. Ферроптоз (ferroptosis) — новая форма регулируемой гибели клеток, предложенная в 2012 г., характеризуется железозависимым накоплением активных форм кислорода и перекисным окислением липидов. Ферроптоз связан с метаболизмом железа в кардиомиоцитах и играет жизненно важную роль в развитии антрациклиновой кардиотоксичности. Сердечно-сосудистая патология при лечении рака может быть усугублена лучевой терапией грудной клетки [1, 2, 4, 5, 10, 11, 20–29].

Искусственный интеллект с машинным обучением был применён для создания прогностической модели высокого риска развития кардиотоксичности, связанной с терапией рака молочной железы, включая сердечную дисфункцию и симптоматическую сердечную недостаточность со сниженной фракцией выброса. Было обнаружено, что использование трастузумаба, артериальная гипертензия и доза антрациклина были основными факторами, определяющими развитие кардиотоксических осложнений в логистической регрессии [30].

Антрациклины являются эффективными и широко используемыми противоопухолевыми средствами, но с момента введения этой группы препаратов в клиническую практику в 1960-х гг. химиотерапия всегда ассоциировалась с кардиотоксичностью и вследствие этого, имеет ограниченное клиническое применение. Хотя противораковая активность препаратов антрациклинового ряда зависит от дозы, её увеличение усиливает риск кардиотоксичности, которая проявляется в любом возрасте [5, 12, 16, 17, 19, 20, 22–28, 31–44].

Доксорубин относится к классу антрациклиновых препаратов и является широко приме-

няемым химиотерапевтическим средством. Доксорубин оказывает токсическое действие через окислительный стресс, ещё одним механизмом является стресс эндоплазматического ретикула, который активирует проапоптотический путь, включающий ось PERK/ATF4/CHOP с подавлением сигнальных путей Akt/mTOR и Nrf2/HO-1 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1). Эти стрессы приводят к дисфункции миокарда, связанной с гибелью клеток [20, 45].

Комбинированное введение трастузумаба и доксорубина нарушало окислительно-восстановительный и кальциевый гомеостаз в сердечной ткани, индуцировало миокардиальный фиброз и потерю миофибрилл, а также вызывало повреждение сердечной ДНК и апоптоз. Эта кардиотоксичность сопровождалась снижением экспрессии mPINK NRG-1, экспрессии белка HER2 и подавлением фосфорилирования AKT и ERK при одновременном запуске фосфорилирования JNK. При гистологическом и ультраструктурном исследовании препаратов сердца выявлены признаки, типичные для повреждения сердечной ткани. Более того, значительное снижение сердечной функции наблюдали при биохимическом тестировании сывороточных маркеров повреждения миокарда и эхокардиографии [21].

Было обнаружено, что доксорубин нарушает энергетический метаболизм миокарда, уменьшая поглощение глюкозы и усиливая окисление жирных кислот, что приводит к снижению скорости продукции АТФ, увеличению потребления кислорода и окислительного стресса, а также дальнейшему дефициту энергии для поглощения миокардом жирных кислот. Нарушения метаболизма миокарда под действием доксорубина являются важными факторами его кардиотоксичности [22].

Механизм токсичности доксорубина обусловлен образованием свободных радикалов и повреждением кардиомиоцитов. Доксорубин повышал уровень всех сердечных ферментов и малонового диальдегида, коррелируя со снижением активности супероксиддисмутазы, каталазы и тиолов. Гистопатологическое исследование выявило в миокарде экстрацеллюлярный отёк, умеренное полнокровие и очаговые геморрагии [23].

Ферроптоз, форма регулируемой гибели клеток, вызванная накоплением продуктов перекисного окисления липидов, играет ключевую роль в индуцированном доксорубином повреждении сердца и гибели кардиомиоцитов [24–26]. Доксорубин может регулировать накопление железа при ферроптозе и экспрессию белков, связанных с перекисным окислением липидов [27].

Некоторые химиотерапевтические агенты вызывают повреждение митохондрий в виде делеции митохондриальной ДНК, мутаций и подавления дыхательной функции и продукции АТФ.

Митохондриальный окислительный стресс уже давно признан фактором кардиотоксичности, вызванной противораковыми препаратами [13]. Доксорубин опосредует апоптоз, окислительный стресс и деполяризацию потенциала митохондриальной мембраны в клетках [28]. Известно, что в дополнение к действию в качестве агента интеркаляции ДНК доксорубин связывается со специфическим митохондриальным фосфолипидом, кардиолипином [16].

Доксорубин приводит к гибели кардиомиоцитов и фиброзу миокарда, причём оба механизма приводят к механической и электрической дисфункции. Конфокальный иммунофлуоресцентный анализ с применением морфометрии выявил изменения плотности и топологии нейронов симпатической системы в сердце мышей, получавших доксорубин, что согласуется со сниженным кардиотропным эффектом адренергических нейронов *in vivo*. Анализ *ex vivo* показал, что денервация, вызванная доксорубином, может быть связана со снижением нейротрофического входа, который зависит от фактора роста нервов, высвобождаемого из иннервируемых кардиомиоцитов. Примечательно, что аналогичные изменения наблюдали в эксплантированных сердцах пациентов, получавших доксорубин. То есть, доксорубин может также влиять на нейроны симпатической нервной системы, расположенные в сердце. Кардиотоксичность химиотерапии включает в себя изменения в сердечной иннервации: влияние доксорубина на вегетативную регуляцию сердца, которая связана как с физиологией сердца, так и с патологией, включая сердечную недостаточность и аритмии [17].

Хотя фармакокинетические свойства доксорубина хорошо известны, окончательно неясно, какие ферменты участвуют в его метаболизме и как доксорубин индуцирует свой цитотоксический эффект в опухолевых и неопухолевых клетках. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что существует несколько потенциально синергетических механизмов, участвующих в развитии кардиотоксичности, вызванной доксорубином. В последнее время исследования бросили вызов традиционному пониманию метаболизма доксорубина, механизмов действия и факторов его кардиотоксичности. Доксорубин действует многофакторным образом в зависимости от клеточного контекста. Усиление окислительного стресса, по-видимому, является общим фактором в механизмах кардиотоксичности, что подчёркивает важность поиска и разработки новых систем доставки препарата и совершенствования антиоксидантной терапии [37].

Изучение эпигенетических модификаций, таких как метилирование ДНК, может помочь понять токсические механизмы, связанные с эпи-



рубицином, в сердечной ткани. Микроткани сердца человека подвергали воздействию либо терапевтических, либо токсических ( $IC_{20}$ ) доз эпирубицина в течение 2 нед. ДНК и РНК собирали из микротканей трижды через 2, 8, 24, 72, 168, 240 и 336 ч воздействия. Анализ секвенирования иммунопреципитации метилированной ДНК использовали для определения уровней метилирования ДНК в обработанных эпирубицином и контрольных образцах. Секвенирование РНК использовали для измерения глобальной экспрессии генов в тех же образцах. Было обнаружено, что множественные дифференциально метилированные гены при лечении эпирубицином, такие как SMARCA4, PKN1, RGS12, DPP9, NCOR2, SDHA, POLR2A и AGPAT3, вовлечены в различные механизмы сердечной дисфункции [41].

Сорафениб — новый многоцелевой противораковый препарат, также вызывает сильную токсичность в отношении сердца, в то время как механизм его кардиотоксичности ещё предстоит полностью выяснить. Известно, что дисрегуляция аутофагии и дисбаланс митохондриальной динамики связаны с гибелью кардиомиоцитов. Сорафениб ( $15 \text{ мкМ}$ ) в зависимости от концентрации и времени снижал жизнеспособность клеток и индуцировал апоптоз в кардиомиоцитах H9c2. Воздействие сорафенибом способствовало образованию внутриклеточных активных форм кислорода и последующему перераспределению  $Ca^{2+}$ , а также апоптозу. Сорафениб ингибирует базальную аутофагическую активность клеток, усиление аутофагии рапамицином аннулировало индуцированные сорафенибом изменения содержания активного кислорода и  $Ca^{2+}$ , а также клеточный апоптоз. Более того, сорафениб нарушает морфологию митохондрий и вызывает их чрезмерную фрагментацию в клетках. Эти результаты являются доказательством, что нарушения аутофагии и митохондриальной динамики участвуют в сорафениб-индуцированном апоптозе кардиомиоцитов [29].

На основании вышеизложенного можно сделать заключение, что многочисленность данных по патогенезу кардиотоксичности даже одного химиотерапевтического средства (нарушения перекисного окисления липидов, ингибирование ферментов в кардиомиоцитах, изменения в состоянии эндотелия, воспалительные процессы и иммунные дисфункции, нарушение гомеостаза ионов кальция и калия, митохондриальные повреждения, разрывы ДНК, разнообразные изменения концентраций различных циркулирующих микроРНК, пироптоз, апоптоз, ферроптоз, аутофагия и многие другие) свидетельствует о многофакторности его воздействия и об особенностях индивидуальной чувствительности каждого пациента к тому или иному препарату. Возникно-

вание кардиоповреждающего эффекта в каждом отдельном случае, обусловленном применением одного и того же препарата, может быть связано с различным патогенетическим механизмом.

## Клиническая манифестация кардиотоксичности и методы её диагностики

В настоящее время не существует подходящих методов мониторинга и выявления симптомов кардиотоксичности на ранней стадии [31]. С увеличением ожидаемой продолжительности жизни онкологических больных благодаря использованию персонализированной медицины и новых таргетных противоопухолевых препаратов, развитие кардиотоксичности становится всё более значимым. Новые биологические методы лечения включают антитела против HER2, ингибиторы тирозинкиназы, ингибиторы киназы Брутона, антиVEGF, ингибиторы протеасом, иммуномодуляторы и ингибиторы иммунных контрольных точек. Спектр сердечно-сосудистых эффектов противоопухолевых препаратов широк и включает, среди прочего, сердечную недостаточность и систолическую дисфункцию левого желудочка, аритмии (фибрилляция предсердий и желудочковые тахикардии), гипертензию (системную или лёгочную), кардиомиопатию, миокардит, изменения клапанов, патологию перикарда, артериальный тромбоз, венозную тромбоземболию и ишемию миокарда (инфаркт, острый коронарный синдром, стенокардия) [10–12, 46–48]. Необходимо отметить, что фибрилляция предсердий не всегда является осложнением противоопухолевой терапии, такая аритмия может быть следствием провоспалительного эффекта опухолевых клеток [48]. Ингибиторы циклинзависимых киназ (CDK4/6Is) стали стандартом лечения метастатического рака молочной железы, при использовании препаратов этой группы побочные сердечно-сосудистые эффекты встречаются редко и включают только удлинение интервала QT [3].

Анализировали возникновение неблагоприятных сердечно-сосудистых событий и выявление потенциальных факторов риска в процессе лечения пациентов при раке молочной железы. 136 больных были разделены на две группы в зависимости от возникновения сердечно-сосудистой токсичности, связанной с лечением [событие 47 (35%) против отсутствия явления 89 (65%)]. За пациентами наблюдали в среднем в течение 45 мес. (37–83 мес.). Наиболее частыми событиями были тромбоземболические осложнения (26%), за которыми следовали сердечная недостаточность (15%) и острая токсическая кардиомиопатия (5%) со сниженной фракцией выброса левого желудочка [отсутствие событий  $59 \pm 5,0\%$  против



события  $55 \pm 11\%$ ;  $p=0,01$ ]. Пациенты с левосторонним раком молочной железы и поздней стадией заболевания имели более высокий риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Наибольший риск выявлен у пациентов с высоким числом сердечно-сосудистых факторов риска. В дополнение к уменьшению выброса левого желудочка, систолическая экскурсия в плоскости митрального кольца также была значительно снижена, также наблюдали тенденцию к более высокому глобальному продольному растяжению сердца. Во время наблюдения 26 пациентов (19,1%) умерли, из них у 12 были связанные с лечением сердечно-сосудистые события, но без статистически значимой разницы. Сердечно-сосудистые события, связанные с лечением, относительно часто встречаются примерно у одной трети пациентов при раке молочной железы. Женщины с профилем риска сердечно-сосудистых заболеваний или с поздней стадией заболевания имели более высокий риск побочных эффектов. Несмотря на ухудшение сердечной деятельности, связанное с лечением, в период наблюдения не отмечено различий в смертности [47].

Кабозантиниб (cabozantinib) является мультикиназным ингибитором, который проявляет проактивность в отношении злокачественных новообразований, таких как опухоли почек и лейкемии. H. Ishiguchi с соавт. [14] представляют наблюдение кардиотоксичности в результате применения кабозантиниба у 62-летней женщины, у которой развилась острая сердечная недостаточность при лечении метастатической опухоли почки. У пациента не было в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний, эхокардиография до химиотерапии выявила нормальную сердечную функцию. Однако через 23 дня после начала лечения кабозантинибом у женщины внезапно развилась одышка. Рентгенограмма грудной клетки показала гиперемия и кардиомегалию, а эхокардиография выявила тяжёлое нарушение систолической и диастолической функций. В реанимационном отделении после неинвазивной вентиляции с положительным давлением и инфузии инотропов сердечная функция практически восстановилась на 46-й день; после этого проводили поддерживающую терапию и лечение в соответствии с рекомендациями по поводу сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса.

M. P. Cicini с соавт. [3] описывают 2 случая впервые возникшей атриовентрикулярной блокады 2-го типа, требующей постоянной кардиостимуляции, у женщин при метастазирующем раке груди, получавших рибоциклиб или абемациклиб. У обоих пациентов не было анамнеза или факторов риска сердечных заболеваний, при первичном диагнозе «Аденокарцинома молочной железы» за-

писана нормальная электрокардиограмма в покое в 12 отведениях. Во время последующего наблюдения до регистрации описываемого осложнения не было обнаружено дисфункции левого желудочка или аритмии, сердечные биомаркеры были в норме. Данные случаи свидетельствуют о клинической значимости более частого мониторинга сердечной деятельности у больных, получающих любые химиотерапевтические препараты.

Оксалиплатин является одним из наиболее часто используемых химиотерапевтических препаратов для лечения рака желудка и колоректального рака, сообщения о кардиотоксичности, вызванной оксалиплатином, очень малочисленны. В связи с этим X. Chen и соавт. [49] сообщают о 76-летнем мужчине с аденокарциномой пищеводно-желудочного перехода, у которого был в анамнезе инфаркт миокарда без подъёма сегмента ST (давность 40 дней) и после введения оксалиплатина развилась новая атриовентрикулярная блокада третьей степени. Лечение оксалиплатином было немедленно прекращено и, чтобы избежать будущих эпизодов, а также в целях безопасности пациенту имплантировали постоянный кардиостимулятор и начали терапию гидрохлоридом дилтиазема (diltiazem hydrochloride). Атриовентрикулярная блокада исчезла после отмены оксалиплатина, рецидив нарушения проводимости при проведении химиотерапии в будущем обнаружен не был. То есть даже самые распространённые и считающиеся безопасными химиотерапевтические препараты могут вызывать опасные для жизни побочные эффекты со стороны сердца.

Изменение эпикардальной жировой ткани связано с сердечной дисфункцией, состояние этой ткани сравнивали до и после начала химиотерапии при раке молочной железы в зависимости от типа лечения. Субклиническую кардиотоксичность определяли как ухудшение фракции выброса левого желудочка на  $\geq 10\%$  до абсолютного значения  $> 50\%$  с нижним пределом нормы, измеренным с помощью стандартной эхокардиографии. Из 234 пациентов при раке молочной железы 85 получали адъювантную химиотерапию на основе антрациклина, а 149 — химиотерапию без антрациклина. Отмечено статистически значимое увеличение индекса объёма эпикардальной жировой ткани ( $\text{мл/кг/м}^2$ ) в конце химиотерапии в группе с лечением антрациклином, по сравнению с исходным уровнем ( $3,33 \pm 1,53$  против  $2,90 \pm 1,52$ ,  $p < 0,001$ ), но не в группе без этого препарата. В течение периода наблюдения субклиническая кардиотоксичность развилась у 20/234 (8,6%) пациентов в общей группе (13/85 (15,3%) при использовании антрациклина и 7/149 (4,8%) без него). В многопараметрическом анализе прирост индекса

объёма эпикардиальной жировой ткани после химиотерапии был связан с более низким риском субклинической кардиотоксичности при введении антрациклина. Измерение эпикардиальной жировой ткани во время химиотерапии на основе антрациклинов может помочь выявить пациентов, уязвимых к кардиотоксичности, вызванной химиотерапией. Раннее обнаружение изменения объёма такой ткани может позволить проводить индивидуальную химиотерапию с предотвращением кардиотоксичности [50].

Артериальная гипертензия является очень частым сопутствующим заболеванием у больных при раке из-за общих факторов риска. Кроме того, многие онкологические препараты, в том числе новые, воздействующие на тирозинкиназу, могут вызывать артериальную гипертензию или нарушать баланс уже существующей артериальной гипертензии. Тяжёлая артериальная гипертензия может привести к сердечным, почечным или сосудистым осложнениям и потребовать прекращения или модификации противоопухолевого лечения. Должен быть организован адекватный кардиомониторинг до, во время и после лечения, чтобы обеспечить раннее лечение и избежать возможных осложнений [51].

Распространённый рак лёгкого вызывает повреждение лёгочной ткани и альвеолярно-капиллярного барьера, что приводит к изменениям в малом круге кровообращения и сердечной функции. У 75 пациентов с неоперабельным раком лёгкого были проведены два эхокардиографических исследования: до начала системной противоопухолевой терапии и после первой рентгенологической оценки эффективности противоопухолевого лечения. Сердечная дисфункция, связанная с терапией рака, чаще была выявлена у пациентов с рентгенологически подтверждённым прогрессированием заболевания раком лёгкого ( $p=0,003$ ). Следует учитывать возможность сочетания кардиотоксического действия противоопухолевой терапии и сердечной дисфункции, связанной с прогрессированием неоперабельного рака лёгкого [52].

Внедрение передовых эхокардиографических методов в кардиоонкологию является растущей потребностью, поскольку они являются краеугольным камнем раннего выявления сердечно-сосудистой токсичности, связанной с терапией рака. 3D-эхокардиография с оценкой деформации миокарда показали большую точность и воспроизводимость, чем классические 2D-измерения, при выявлении побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов, проходящих противораковую терапию. Применение передовых эхо-методов для ежедневного наблюдения за больными при раке помогает выявить лиц с риском развития кардиотоксических осложнений во время и после лечения рака и

своевременно начать проведение необходимой коррекции [53].

Сердечные биомаркеры, активность антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатион-S-трансферазы и др.), электрокардиография, эхокардиография и магнитно-резонансная томография являются распространёнными диагностическими методами, используемыми для раннего выявления этих осложнений и своевременного вмешательства [19, 21, 22, 43, 46, 54]. Больные при раке могут страдать от снижения кардиореспираторных показателей, что также является побочным эффектом противораковой терапии и собственно развития опухоли [2].

Белок с молекулами адгезии сосудистых клеток 1-го типа (VCAM1) отдельно от коллагена высоко экспрессировался в сердце из-за повреждения в эпителиальных клетках при лечении животных доксорубицином. Методы диагностики кардиотоксичности, основанные на связывании VCAM1 с кардиомиоцитами, перспективны для выявления индуцированной доксорубицином кардиотоксичности и повреждений сердца на ранней стадии [31].

Есть рекомендации использовать окрашивание гематоксилином и эозином для выявления проявлений токсичности во время патогистологических исследований органов у экспериментальных животных, окрашивание сириусом красным и просвечивающую электронную микроскопию применять для выявления кардиотоксичности, для анализа накопления железа в тканях сердца — берлинскую лазурь, для выявления противоопухолевого эффекта *in vivo* — TUNEL-метод, для обнаружения экспрессии белков, связанных с ферроптозом — иммуногистохимическое окрашивание, для определения молекулярного механизма ферроптоза — методы высокопроизводительного секвенирования [21, 23, 27, 43].

Современная противораковая химиотерапия резко изменила лечение многих злокачественных новообразований, ранее ассоциировавшихся с неблагоприятным прогнозом. Клиническое улучшение и улучшение выживаемости выявили проблему кардиотоксичности, начиная от минимальных эффектов и заканчивая тяжёлыми сердечными неблагоприятными событиями, включая смерть. Химиотерапию также следует предлагать даже пациентам с ранее существовавшими сердечно-сосудистыми факторами риска, тем самым увеличивая потенциальный вред кардиотоксичности. Своевременная диагностика и лечение кардиотоксичности могут значительно улучшить результаты и снизить тяжесть сердечно-сосудистых осложнений [54].

В связи с многофакторностью патогенеза кардиотоксичности, индуцированной даже од-

ним препаратом для химиотерапии рака, клинические проявления этого осложнения очень многочисленны. Сюда входят острая и хроническая сердечная недостаточность, различные аритмии, гипертензия большого и/или малого круга кровообращения, кардиомиопатия и миокардит, изменения клапанов, тромбозы и тромбоэмболия, ИБС и многие другие. При этом следует учитывать, что онкологические пациенты ещё до развития опухоли могли страдать различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, и что прогрессирование рака даже без терапевтического воздействия или до него может являться причиной неблагоприятных реакций со стороны сердца. Для выявления таких процессов необходимо наблюдение за кардиоонкологическими больными в динамике.

В связи с такой множественной клинической картиной такими же разнообразными должны быть и применяемые методы диагностики. Большинство исследователей рекомендуют для диагностирования кардиотоксичности использовать 3D-эхо- и электрокардиографию, также необходимо держать под постоянным контролем биомаркеры повреждения миокарда и активность антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатион-S-трансферазы и др.). Для выявления кардиотоксичности у экспериментальных животных, кроме уже указанных методов исследования, безусловно необходимым является патогистологическое исследование с применением иммуногистохимических методов.

Своевременное выявление, а значит и предупреждение, и уменьшение степени повреждающего воздействия, начинающегося кардиотоксического эффекта при использовании средств для химиотерапии рака возможно только при тесном сотрудничестве онкологов и кардиологов.

## **Способы уменьшения кардиотоксических эффектов противоопухолевых средств**

Поиск эффективных и безопасных антагонистов доксорубицин-индуцированной кардиотоксичности остаётся сложной задачей [44]. Снижение токсичности, вызванной химиопрепаратами, стало ключевым вопросом для улучшения выживаемости и качества жизни больных при раке [55]. Большое количество текущих исследований направлено на снижение кардиотоксичности, вызванной доксорубицином, через разработку систем адресной доставки и изучения механизмов кардиотоксичности [37]. На сегодняшний день существует ограниченное количество эффективных защитных средств для предотвращения или устранения кардиотоксичности, вызванной химиотерапией рака. Единственным препаратом,

одобренным Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов) в США для лечения вызванной доксорубицином кардиотоксичности, является дексразоксан, хотя он может снижать чувствительность раковых клеток к химиотерапии и ограничен в применении [35].

Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера-2 представляют собой группу противодиабетических препаратов, которые уменьшают сердечно-сосудистые нарушения. 20 крысам-альбиносам вводили доксорубицин для моделирования кардиомиопатии. Средние концентрации тропонина-T и pro-BNP (мозговой натрийуретический пептид, продуцируется кардиомиоцитами в ответ на их чрезмерное растяжение, синтез модулируется ионами кальция) в плазме крови крыс, получавших доксорубицин, были на значительно более высоком уровне, по сравнению с контрольной группой (10 животных). Лечение дапаглифлозином (dapagliflozin) вызывало значительное снижение концентрации сывороточных тропонина-T, pro-BNP, TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ), FGF-21 и процента иммунореакции фибронектина ( $p < 0,0001$ ), по сравнению с группой после введения только доксорубицина. Дапаглифлозин может улучшать сердечную дисфункцию и уменьшать патологические изменения миокарда, вызванные доксорубицином, у крыс без диабета [33].

Индукцированная химиотерапией кардиотоксичность приводит к подавлению высококонсервативной некодирующей кольцевой РНК (circRNA) рецептора инсулина у грызунов и пациентов, что способствует гибели кардиомиоцитов, сердечной дисфункции и повреждению митохондрий. Напротив, сверхэкспрессия этой РНК на основе аденоассоциированного вируса предотвращала опосредованную доксорубицином кардиотоксичность как в кардиомиоцитах грызунов, так и человека *in vitro*, а также в мышечной модели хронической кардиотоксичности после применения доксорубицина. Белок предрасположенности к раку молочной железы 1-го типа (Brca1) был идентифицирован как регулятор экспрессии указанной РНК. Подробный транскриптомный и протеомный анализ показал, что кольцевая РНК рецептора инсулина регулирует апоптотические и метаболические пути в кардиомиоцитах, физически взаимодействуя с белком, связывающим одноцепочечные ДНК, опосредуя его кардиопротекторные эффекты при доксорубициновом стрессе. Важно отметить, что *in vitro* транскрибированные и циркуляризованные имитаторы кольцевой РНК рецептора инсулина также защищали от кардиотоксичности, вызванной доксорубицином. Таким образом, кольцевая РНК рецептора инсулина представляет собой высококонсервативную РНК, которая супрессируется во время кардиотоксичности и ремоделирования



сердца, а её сверхэкспрессия и применение имитаторов предотвращает и обращает вспять опосредованную доксорубицином гибель кардиомиоцитов и улучшает сердечную функцию [39].

Пэгилированный липосомальный доксорубин (pegylated liposomal doxorubicin) представляет собой нано-доксорубициновый противораковый агент, который использовали ещё в 2014 г. для лечения рака яичников и молочной железы, множественной миеломы и саркомы Капоши. Такая форма доксорубина обладает значительной противоопухолевой эффективностью и хорошей переносимостью. Для пациентов с запущенными, рефрактерными и рецидивирующими злокачественными опухолями использование липосомальных форм доксорубина по-прежнему является одной из наиболее эффективных стратегий. Однако, хотя липосомальная форма доксорубина значительно меньше воздействует на миокард, кардиотоксичность препарата в кумулятивной дозе остаётся клинической проблемой [56].

Поверхностная модификация липосомы с включением малеимидной группы (maleimide group), которая может быстро и ковалентно конъюгировать с тиоловыми группами, продлевающими удержание доксорубина в опухоли и повышающими его эффективность, способствует более длительному присутствию препарата в опухоли, более значительному его поглощению клетками 4T1 и более сильному ингибирующему эффекту в отношении этих клеток. Такие липосомы продемонстрировали значительно более высокую противораковую эффективность и более низкую кардиотоксичность, чем липосомы с немодифицированной поверхностью, у мышей с ксенотрансплантатами опухоли 4T1 [57].

Чтобы преодолеть кардиотоксичность доксорубина и максимально использовать противораковый потенциал, были разработаны и синтезированы магнитные наночастицы, содержащие доксорубин и индоцианин зелёный в липосомальном носителе. Эти магнитолипосомы продемонстрировали нацеливание на рецептор интегрина  $\alpha v \beta 3$  и высокую цитотоксичность в отношении нескольких линий раковых клеток. Было обнаружено, что механизм химиорadiосенсибилизации включает активацию JNK-опосредованной проапоптотической сигнальной оси и отсроченную репарацию двухцепочечных разрывов ДНК. Визуализация в реальном времени показала, что накопление магнитолипосом с доксорубицином в опухоли примерно в 6–18 раз выше по сравнению с нецелевыми органами (почками, печенью, селезёнкой, кишечником, лёгкими и сердцем). Кроме того, нанопрепарат показал незначительную токсичность для сердечной ткани, о чём свидетельствовали уровни креатинкиназы-MB в сыворотке крови, гистопатологический анализ, активность антиоксидантных ферментов (каталазы и глутатион-S-трансферазы) и маркеры сердечного фиброза [43].

Для снижения кардиоповреждающего действия доксорубина связывали с водорастворимыми наночастицами (нанодисками), состоящими исключительно из кардиолипина и аполипопротеинового каркаса. Анализ методом флуоресцентной микроскопии показал, что на поглощение доксорубина и нацеливание на ядро культивируемых клеток гепатокарциномы (HepG2) или рака молочной железы (MCF7) не влияла созданная ассоциация с кардиолипином. Последующие исследования подтвердили, что свободный доксорубин и связанный с кардиолипином были эквивалентны с точки зрения ингибции пролиферативной активности в обеих клеточных линиях. Напротив, в исследованиях с кардиомиоцитами H9C2 связанный с кардиолипином доксорубин вызывал меньшее зависящее от концентрации снижение жизнеспособности клеток, чем свободный препарат. В то время как инкубация кардиомиоцитов H9C2 со свободным доксорубицином вызывала резкое снижение максимальной скорости потребления кислорода, клетки, обработанные доксорубицином, ассоциированным с кардиолипином, практически не пострадали. Взаимодействие доксорубина с кардиолипином играет роль в митохондриальной дисфункции, вызванной цитостатиком [16].

Была разработана эффективная наноплатформа для самосборки наночастиц посредством координации ионов трёхвалентного железа ( $Fe^{3+}$ ), аментофлавона (amentoflavone), доксорубина и полифенола. Разработанные наночастицы обладали высокой эффективностью загрузки лекарственного средства, хорошей стабильностью и дисперсией в воде, пролонгированным присутствием в кровотоке и pH-зависимым высвобождением, что приводило к целенаправленному транспорту лекарственного средства и его усиленному накоплению в опухоли. Аментофлавоны из наночастиц могут ингибировать экспрессию семейства алдодокеторедуктаз 1B10 (AKR1B10) и ядерного фактора каппа В p65 (NF- $\kappa$ B p65), что снижает кардиотоксичность, вызванную доксорубицином, и повышает эффективность химиотерапии [58].

Для преодоления неблагоприятных побочных эффектов доксорубина, повышения безопасности пациентов и усиления терапевтической эффективности создан термочувствительный биополимерный носитель доксорубина, который может целенаправленно воздействовать на опухолевую ткань путём локального применения умеренной гипертермии (41°C). Разработанный носитель лекарственного средства состоит из следующих компонентов: проникающий в клетку пептид (SynB1) для стимулирования поглощения



опухолью и клетками; термочувствительный эластин-подобный полипептид (ELP); (6-малеимидокапроил) гидразоновое производное доксорубина, содержащее pH-чувствительный гидразоновый линкер, который высвобождает доксорубин в кислой среде опухоли.

Бестимусных мышей с ксенотрансплантированной опухолью MDA-MB-231 лечили однократной внутривенной инъекцией 10 мг/кг свободного доксорубина, термочувствительным полимером с доксорубином и термочувствительным контрольным биополимером также с доксорубином в эквивалентных дозах. После 2-часовой обработки гипертермией опухоли показано в 2 раза более высокое поглощение термочувствительного полимера с доксорубином, по сравнению со свободным препаратом. Накопление термочувствительного контроля было сравнимо со свободным доксорубином, это указывает на то, что увеличение концентрации термочувствительного доксорубина в опухоли происходит из-за агрегации в ответ на воздействие тепла.

При использовании системы визуализации *in vivo* (IVIS), для определения биораспределения препаратов, в почках наблюдали более высокие уровни термочувствительного и нетермочувствительного полимеров, чем свободного доксорубина. Интенсивность флуоресценции сердец животных, получавших термочувствительный биополимерный носитель доксорубина, показала 5-кратное снижение накопления цитостатика, по сравнению с той же дозой свободного доксорубина. Термочувствительный полимер с доксорубином продемонстрировал 6-кратное увеличение соотношения концентрации препарата опухоль/сердце, относительно свободного доксорубина, что указывает на преимущественное накопление препарата в опухолях [36].

Благодаря своей pH и хелатирующему эффекту  $\text{Cu}^{2+}$ , поли(метакрилат лимонной кислоты) может быть использован в качестве двойного функционального наноносителя. Отрицательно заряженные карбоксильные группы связываются с положительно заряженными противоопухолевыми препаратами посредством электростатического взаимодействия с образованием стабильных лекарственных наночастиц. Были приготовлены наночастицы диаметром 84 нм из метакрилата с доксорубином, содержание лекарственного средства составило 68,3%. Такие наночастицы сохраняли хорошую стабильность и профиль длительного высвобождения. Эксперименты показали, что препарат может эффективно ингибировать рост клеток 4T1, а цитотоксичность по отношению к H9C2 значительно снизилась. Кроме того, благодаря своей способности эффективно адсорбировать ионы меди, метакрилат продемонстрировал хороший эффект ингибирования

роста сосудов *in vitro*. Эксперименты на животных показали, что созданные наночастицы обладают более сильным противораковым действием, чем чистый доксорубин; скорость ингибирования опухоли увеличилась в 1,5 раза. Эксперименты с миокардиальной токсичностью подтвердили, что наночастицы снижают кардиотоксичность доксорубина [59].

Ингибиторы тирозинкиназы представляют собой противораковые препараты нового поколения с высоким потенциалом в отношении супрессии пролиферации и роста раковых клеток. Однако эти ингибиторы связаны с тяжелой кардиотоксичностью, что ограничивает их клиническую ценность. Одним из ингибиторов тирозинкиназы, который был недавно разработан, но недостаточно изучен, является понатиниб (ponatinib). С целью снижения кардиотоксичности понатиниба Poly(D,L-lactide-co-glycolide)-b-poly(ethyleneoxide)-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide) триблок-кополимер использовали для синтеза нагруженных понатинибом наночастиц с целью лечения хронического миелоидного лейкоза. В дополнение к физико-химической характеристике наночастиц (форма, размер, распределение по размерам, поверхностный заряд, скорость растворения, содержание лекарственного средства и эффективность инкапсуляции), эффективность и безопасность этих систем доставки лекарственных средств оценивали *in vivo* с использованием рыбок данио. Результаты показали, что нагруженные понатинибом наночастицы в концентрации 0,001 мг/мл нетоксичны/некардиотоксичны при лечении ксенотрансплантата рака у рыбок данио [60].

Трастузумаб (trastuzumab) представляет собой моноклональные антитела, нацеленные на HER2 (ErbB2). Комбинированное введение трастузумаба и доксорубина продемонстрировало мощную противораковую эффективность; однако этот режим может сопровождаться тяжелой сердечной токсичностью. Экзосомы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток (ЭМСК), представляют собой наноразмерные везикулы, играющие решающую роль в межклеточной коммуникации, продемонстрировали эффективность при лечении различных заболеваний. Исследовали кардиопротекторные эффекты ЭМСК в модели кардиотоксичности, опосредованной доксорубином/трастузумабом. 49 крыс-самцов были случайным образом разделены на четыре группы: группа I (контрольная); группа II (доксорубин/трастузумаб); группа III (защитный эффект); и группа IV (лечебный эффект). Внутривентрикулярное введение ЭМСК снижало степень повреждения сердца как в защитных, так и в лечебных протоколах; однако в защитном протоколе эффективность была значительно выше. Сигнальные пути NRG-1/HER2, MAPK, PI3K/AKT,

PJNK/JNK и PSTAT/STAT играют роль в опосредовании кардиопротективных эффектов ЭМСК [21].

ЭМСК с тетраэдрической ДНК-наноструктурой «G-C» уменьшают гепатотоксичность, вызванную доксорубицином, так как пары оснований «G-C» удаляют доксорубин. Кроме того, инъекция этих экзосом с кардиомиопатическим пептидом значительно снижает кардиотоксичность, вызванную доксорубицином без влияния на его противораковые эффекты. Интересно, что созданные экзосомы могут также способствовать поляризации макрофагов в тип M2 для восстановления тканей [55].

Натуральные продукты предоставляют богатые ресурсы для поиска новых кардиозащитных средств. Для кардиопротекции при использовании доксорубина растительные полифенолы вызывают значительный интерес из-за их антиоксидантных свойств и хорошего профиля безопасности [44, 45].

Оценивали как доксорубин модулирует энергию и сократительную функцию миокарда в эксперименте на мышах. Сердечные функции анализировали с помощью эхокардиографии, а доксорубин-опосредованную передачу сигналов оценивали на изолированных кардиомиоцитах. Кроме того, кардиозащитное и противоопухолевое действие бревискапина (*breviscapine*, экстракт нескольких флавоноидов *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz., содержащий более 85% скутелларина, традиционно используют в Китае в качестве препарата, активирующего кровообращение для улучшения церебрального кровоснабжения и лечения ИБС) в сочетании с доксорубицином изучали на моделях опухоли молочной железы у мышей. Интересно, что бревискапин повышает эффективность продукции АТФ и восстанавливает энергетический гомеостаз миокарда путём модулирования серотонин-глюкозо-миокардиальной петли P13K/AKT, увеличивая утилизацию глюкозы сердцем и снижая окисление липидов. Этот препарат усиливает митохондриальную аутофагию через путь PINK1/Parkin, устраняет накопление повреждённых митохондрий, вызванное доксорубицином, уменьшает степень сердечного фиброза и восстанавливает гомеостаз микроокружения сердца. Важно отметить снижение выраженности воспаления в тканях сердца с уменьшением инфильтрации миелоидными иммуносупрессивными клетками, и этот эффект является синергетическим с противоопухолевым действием доксорубина. Таким образом, восстановление или сохранение энергетического гомеостаза миокарда и своевременный клиренс повреждённых митохондрий способствуют предотвращению антрациклин-индуцированной кардиотоксичности и повышают эффективность лечения опухолей [22].

У мышей BALB/c и на культивируемых кардиомиоцитах HL-1 моделировали кардиотоксичность введением адриамицина. Псоралидин (*psoralidin*, природное фенольное соединение, содержащееся в семенах *Psoralea corylifolia*) значительно улучшал показатели сердечной деятельности, биохимические параметры крови и функцию митохондрий, а также снижал степень фиброза миокарда, окислительного стресса и апоптоза у мышей с адриамициновой кардиотоксичностью. Фитопрепарат значительно увеличивал жизнеспособность клеток, ингибировал высвобождение ЛДГ, уменьшал окислительный стресс и апоптоз и улучшал функцию митохондрий в клетках HL-1, повреждённых адриамицином [38].

Глицирретиновая кислота (*glycyrrhetic acid*) — основное биологически активное соединение солодки, одной из самых известных пищевых добавок и лекарственных растений в мире. Глицирретиновая кислота обладает потенциальной способностью защищать сердца мышей от повреждений, вызванных доксорубицином. Глицирретиновая кислота *in vitro* ингибирует вызванную доксорубицином гибель клеток H9c2 и AC16, не влияя на противораковые эффекты самого доксорубина, также значительно уменьшалась индуцированная доксорубицином генерация активного кислорода, митохондриальная дисфункция и апоптоз в клетках H9c2. Кроме того, глицирретиновая кислота устраняла экспрессию проапоптотических белков и восстанавливала сигнальный путь Nrf2/HO-1 в клетках H9c2, обработанных доксорубицином. *In vivo* глицирретиновая кислота ослабляла индуцированную доксорубицином сердечную дисфункцию с восстановлением ударного объёма и сердечного выброса у трансгенных эмбрионов рыбок данио. В модели рака молочной железы у мышей 4T1, получавших доксорубин, глицирретиновая кислота предотвращала потерю массы тела, ослабляла сердечную дисфункцию и увеличивала выживаемость без ущерба для противоопухолевой эффективности. Кроме того, ослаблялось окислительное повреждение, уменьшался апоптоз кардиомиоцитов и восстанавливалась экспрессия Nrf2 и HO-1 в миокарде мышей после воздействия доксорубицином [34].

Комбинация доксорубина и агентов с кардиозащитной активностью является эффективной стратегией для улучшения терапевтического результата. *Ganoderma lucidum* — самый известный съедобный гриб семейства Ganodermataceae. Он обычно используется в традиционной китайской медицине или в качестве продукта здравоохранения. *Amauroderma rugosum* — ещё один род грибов из семейства Ganodermataceae, но о его фармакологической активности и лечебной ценности мало сообщений. Изучали *in vitro* и *in vivo* кардиозащитные эффекты водного экстракта

*Amauroderma* на фоне доксорубин-индуцированной кардиотоксичности.

Результаты показали, что экстракты *Amauroderma* и *Ganoderma* могут усиливать противораковый эффект доксорубина. Экстракт *Amauroderma* значительно уменьшал окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и апоптоз, наблюдаемые в крысиных кардиомиоцитах H9c2, после воздействия доксорубином. Однако нокдаун Nrf2 с помощью малых интерферирующих РНК (siRNA) устранял защитные эффекты *Amauroderma* в этих клетках.

Кроме того, доксорубин повышал экспрессию проапоптотических белков и подавлял сигнальные пути Akt/mTOR и Nrf2/HO-1, и эти эффекты можно было обратить вспять с помощью экстракта *Amauroderma*. Соответственно, экстракт *Amauroderma* значительно продлевал время выживания, предотвращал потерю массы тела и уменьшал сердечную дисфункцию у мышей, получавших доксорубин. Кроме того, окислительный стресс и апоптоз были подавлены, в то время как экспрессия Nrf2 и HO-1 была повышена в тканях сердца мышей, получавших доксорубин, после обработки экстрактом *Amauroderma*. Экстракт *Ganoderma* обладал меньшим кардиопротекторным эффектом при воздействии доксорубином как *in vitro*, так и *in vivo*. Одним из возможных механизмов кардиозащитного эффекта при кардиотоксичности, вызванной доксорубином, была активация mTOR/Akt и Nrf2/HO-1-зависимых путей, которые могут уменьшать окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию и апоптоз кардиомиоцитов [45].

Оценивали *in vitro* с использованием кардиомиобластов H9C2 влияние биоактивного экстракта съедобного сморчка *Morchella esculenta* на кардиотоксичность, вызванную доксорубином. Экстракт снижал цитотоксичность, вызванную доксорубином в концентрациях 150 или 200 мкг ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно). Уровни маркеров повреждения миокарда, повышенные доксорубином, стали значительно меньше после применения экстракта ( $p < 0,01$ ). Концентрации эндогенных антиоксидантов, таких как SOD, GPx и GSH, сниженные в результате введения доксорубина, были восстановлены почти до нормального уровня с помощью препарата грибов. Гистопатологическое наблюдение подтвердило защитный эффект экстракта [61].

Ингибирование и модуляция ферроптоза устраняет кардиотоксичность, индуцированную доксорубином [24, 25]. Этоксикин (ethoxyquin) является липофильным антиоксидантом, широко используемым для консервирования пищевых продуктов и, таким образом, это соединение может быть потенциальным терапевтическим

препаратом для профилактики кардиотоксичности, связанной с накоплением продуктов перекисного окисления липидов.

В связи с этим исследовали ингибирующее действие этоксикина против ферроптоза и терапевтическую эффективность при индуцированной доксорубином гибели культивируемых кардиомиоцитов и кардиотоксичности в модели *in vivo* у мышей. В культуре кардиомиоцитов лечение этоксикинном эффективно предотвращало ферроптоз. Этоксикин снижал доксорубин-индуцированную гибель клеток, сопровождающуюся супрессией малонового диальдегида и перекисного окисления липидов в митохондриях.

Кроме того, этоксикин в значительной степени предотвращал доксорубин-индуцированную гибель клеток без какого-либо подавления расщепления каспаз, связанного с апоптозом. У мышей с сердечно-сосудистой недостаточностью, вызванной применением доксорубина, лечение этоксикинном улучшало сердечные нарушения, такие как сократительная дисфункция и атрофия миокарда, а также застой в лёгких. Этоксикин также подавлял активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинкиназы в сыворотке, снижал концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид и акролеин), а также ингибировал сердечный фиброз. В совокупности этоксикин является эффективным антиоксидантом для профилактики ферроптоза при кардиотоксичности, вызванной доксорубином [26].

Крыс Sprague-Dawley и первичные кардиомиоциты использовали для создания моделей кардиотоксичности, вызванной доксорубином. Изучали эффекты паеанола (paeonol, вещество фенольного ряда, выделяемое из растений рода пион, применяется в традиционной медицине Китая, в отдельных исследованиях показано, что может обладать противовоспалительными и обезболивающими свойствами) на повреждение миокарда, митохондриальную функцию, митохондриальную динамику и сигнальные пути. Паеонол усиливал опосредованное Mfn2 слияние митохондрий, восстанавливал их функцию и работу сердца как *in vivo*, так и *in vitro* в условиях применения доксорубина. Флавоноид способствовал Mfn2-опосредованному слиянию митохондрий путём активации фактора транскрипции Stat3, который напрямую связывается с промотором Mfn2 и повышает его экспрессию транскрипции. Защитные свойства паеанола снижались при нокдауне Mfn2. Также показано, что прямой мишенью паеанола является PKC $\epsilon$ , который взаимодействует со Stat3 и делает возможным его фосфорилирование и активацию. Паеонол-индуцированное фосфорилирование Stat3 и



Mfn2-опосредованное слияние митохондрий ингибировались при нокдауне РКСе. Кроме того, паеонол не влиял на противоопухолевую эффективность доксорубина в отношении некоторых опухолевых клеток [35].

Изучали кардиозащитное действие *P. ginseng* С.А. Мей, фебуксостата (febuxostat) и их комбинации при кардиотоксичности, вызванной доксорубином. 35 крыс-самцов Sprague Dawley были случайным образом разделены на пять групп, по 7 животных в каждой. Контрольная группа получала физиологический раствор, в индуцированной группе вводили только доксорубин, а опытные группы получали *P. ginseng*, фебуксостат или их комбинацию до инъекций доксорубина. Лечение комбинацией фебуксостата и *P. ginseng* до доксорубина привело к значительному снижению показателей острой доксорубин-индуцированной кардиотоксичности. Комбинация *P. ginseng* и фебуксостата оказывает более выраженное кардиозащитное действие, по сравнению с *P. ginseng* или фебуксостатом по отдельности. Потенциальный механизм этой комбинации был, в основном, опосредован противовоспалительным и антиоксидантным действием и *P. ginseng*, и фебуксостата [32].

Оценивали экстракт *Rheum turkestanicum* в отношении кардиотоксичности доксорубина из-за значительной антиоксидантной активности препарата *in vitro*. Самцам крыс Wistar вводили доксорубин в дозе 2,5 мг/кг внутривенно через день в течение 2 нед. для создания накопительной дозы. *R. turkestanicum* инъецировали в дозе 100 или 300 мг/кг внутривенно, начиная со второй недели в течение 7 дней. На 15-й день у животных брали кровь из сердечной ткани для определения аланинаминотрансферазы, креатинкиназы миокарда, тропонина-Т, ЛДГ и BNP типа В. Кроме того, гомогенизировали сердца для определения уровня и активности супероксиддисмутазы, каталазы, малонового диальдегида и тиолов. Доксорубин повышал уровень всех сердечных ферментов и малонового диальдегида, коррелируя со снижением активности супероксиддисмутазы, каталазы и тиолов. Гистопатологическое исследование выявило в миокарде экстрацеллюлярный отёк, умеренное полнокровие и очаговые геморрагии. Применение *R. turkestanicum* улучшало указанные патофизиологические изменения, вызванные доксорубином [23].

Экстракт какао-бобов *Theobroma cacao* L. исследовали на предмет его эффективности у мышей против асцитной карциномы Эрлиха и органопротекторного действия при использовании доксорубина для лечения указанной карциномы. У мышей, которым вводили экстракт отдельно или в комбинации с доксорубином, наблюдали значительную ингибицию роста

карциномы и уменьшение тяжести вызванных доксорубином изменений. Кроме того, лечение экстрактом значительно увеличило продолжительность жизни мышей и повысило систему антиоксидантной защиты. Препарат также выраженно улучшил показатели сердечных, печёночных и почечных функций, а также маркеры окислительного стресса, при этом стали меньше гистопатологические изменения, вызванные доксорубином. Экстракт *Theobroma cacao* может служить адъювантным нутрицевтиком при химиотерапии рака [42].

Гидрокситирозол, основное фенольное соединение, содержащееся в оливковом масле, может быть потенциальным кандидатом для кардиопротекции при химиотерапии с использованием доксорубина из-за выдающихся антиоксидантных и противораковых свойств. Гидрокситирозол противодействовал индуцированной доксорубином цитотоксичности в кардиомиоцитах, действуя на уровень супероксиддисмутазы-2 и окислительный ответ, а также на механизмы апоптоза, опосредованные Bcl-2/Bax. В то же время препарат не мешал противоопухолевым эффектам доксорубина при воздействии на клетки остеосаркомы [44].

Возможно, что мелатонин, который является противораковым средством, ингибирующим пролиферацию опухолевых клеток, индуцирующим апоптоз и ингибирующим метастазирование, может усиливать противоопухолевые эффекты доксорубина (такие как запуск апоптоза и подавление метастазирования), спасая другие органы от его побочных эффектов, например, кардио- и нефротоксичности [40].

Была создана модель ксенотрансплантата опухоли MCF-7 на голых мышах для проверки синергетического противоопухолевого эффекта лекарственных средств *in vivo*. Гистопатологический анализ опухолевых тканей показал, что комбинация комплекса рутения и доксорубина значительно способствует апоптозу опухолевых клеток. Лечение доксорубином с рутением предупреждало повреждение сердечной ткани, фиброз миокарда и накопление в нём железа (ферроптоз). Комбинация комплекса рутения и доксорубина синергетически ингибирует рост опухоли и может значительно уменьшить и облегчить токсические побочные эффекты доксорубина, особенно кардиотоксичность [27].

Элиминация стареющих кардиомиоцитов с помощью сенолитика Навитоклакс в различных формах приводит к достоверному снижению маркеров старения и кардиотоксичности, развившейся после применения доксорубина, вместе с восстановлением сердечной функции у мышей, что подтверждается последующей эхокардиографией [19].



Хорошо известно, что программы физических упражнений могут принести пользу пациентам с сердечными заболеваниями и при раке. У населения в целом регулярные упражнения могут снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний, смертности и рака. Модификации экспрессии генов, вызванные физическими упражнениями, приводят к улучшению параметров сердечно-сосудистой системы и повышению общей физической подготовки, влияя на укорочение теломера, окислительный стресс, функцию сосудов и механизмы восстановления ДНК. У больных при раке физические упражнения, как правило, безопасны и хорошо переносятся; это связано с улучшением показателей кардиореспираторной системы на 10–15%, что потенциально может противодействовать неблагоприятным эффектам противораковой терапии. Кардиологическая реабилитация может снизить кардиотоксичность благодаря преимуществам, уже доказанным для людей, страдающих от рака или сердечной патологии. Кроме того, тот факт, что механизмы кардиозащиты совпадают с аналогичными механизмами, положительно влияющими на кардиальную реабилитацию, делает последнюю ещё более вероятным вариантом для кардиоонкологических пациентов. Из-за нестабильной функциональной способности и флуктуирующей иммунокомпетентности этим пациентам требуются специально подобранные программы упражнений, разработанные совместно кардиологами и онкологами [2].

Во время возникновения осложнений любой терапии имеется возможность отмены препаратов. Однако при проведении консервативного лечения рака и развитии побочных эффектов полная отмена всех лекарственных средств невозможна, приходится продолжать терапию, проводить повторные её курсы, нередко в течение всей жизни пациента. В связи с этим необходимы методы уменьшения выраженности кардиотоксического эффекта, подавления неблагоприятного влияния на миокард противоопухолевых средств.

При внимательном изучении рекомендуемых в литературе методов коррекции кардиотоксичности обращает на себя внимание многочисленность работ вообще и в частности статей, посвящённых фитопрепаратам. Это, кроме подтверждения остроты проблемы, на наш взгляд свидетельствует о неудовлетворительности учёных и клиницистов существующими подходами к снижению побочных неблагоприятных осложнений химиотерапии рака.

По-прежнему остаются актуальными поиск и разработка эффективных методов профилактики и лечения кардиотоксичности препаратов для химиотерапии.

## Заключение

Таким образом, при анализе литературы 2022 г. по кардиотоксичности противоопухолевых препаратов выявлена значительная многочисленность данных по патогенезу кардиотоксичности даже одного химиотерапевтического средства (нарушения перекисного окисления липидов, ингибирование ферментов в кардиомиоцитах, изменения в состоянии эндотелия, воспалительные процессы и иммунные дисфункции, нарушение гомеостаза ионов кальция и калия, митохондриальные повреждения, разрывы ДНК, разнообразные изменения концентраций различных циркулирующих микроРНК, пироптоз, апоптоз, ферроптоз, аутофагия и многие другие), что свидетельствует о многофакторности воздействия и об особенностях индивидуальной чувствительности каждого пациента к тому или иному препарату.

Возникновение кардиоповреждающего эффекта в каждом отдельном случае, обусловленном применением одного и того же препарата, может быть связано с различным патогенетическим механизмом. В связи с многофакторностью патогенеза кардиотоксичности, клинические проявления этого осложнения также многочисленны, сюда входят острая и хроническая сердечная недостаточность, различные аритмии, гипертензия большого и/или малого круга кровообращения, кардиомиопатия и миокардит, изменения клапанов, тромбозы и тромбоэмболия, ИБС и многие другие.

При этом следует учитывать, что онкологические пациенты ещё до развития опухоли могли страдать различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, и что прогрессирование рака даже без терапевтического воздействия или до него может являться причиной неблагоприятных реакций со стороны сердца. Для выявления таких процессов необходимо наблюдение за кардиоонкологическими больными в динамике. В связи с такой множественной клинической картиной такими же разнообразными должны быть и применяемые методы диагностики.

Большинство исследователей рекомендуют для диагностирования кардиотоксичности использовать 3D-эхо- и электрокардиографию, также необходимо держать под постоянным контролем биомаркеры повреждения миокарда и активность антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатион-S-трансферазы и др.). Для выявления кардиотоксичности у экспериментальных животных, кроме уже указанных методов исследования, безусловно необходимым является патогистологическое исследование с применением иммуногистохимии. Во время возникновения осложнений любой терапии имеется возможность отмены препаратов.

Однако при проведении консервативного лечения рака и развитии побочных эффектов полная отмена всех лекарственных средств невозможна, приходится продолжать терапию, проводить повторные её курсы, нередко в течение всей жизни пациента. В связи с этим необходимы методы уменьшения выраженности кардиотоксического эффекта, подавления неблагоприятного влияния на миокард противоопухолевых средств.

При рассмотрении представленных в литературе способов уменьшения неблагоприятного влияния химиотерапевтических средств на миокард необходимо отметить многочисленность публикаций вообще и среди них статей, посвященных растительным препаратам. Это не только подтверждает актуальность и важность проблемы, но также может служить доказательством отсутствия эффективных подходов к снижению осложнений химиотерапии рака.

По-прежнему остаются актуальными поиск и разработка эффективных методов профилактики и лечения кардиотоксичности препаратов для химиотерапии. Своевременное выявление, а значит

и предупреждение, и уменьшение степени повреждающего воздействия, начинающегося кардиотоксического эффекта при использовании средств для химиотерапии рака возможно только при тесном сотрудничестве онкологов и кардиологов.

### Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена по государственному заданию в рамках бюджетной темы ИХБФМ СО РАН «Фундаментальные основы здоровьесбережения» № 121031300045-2. Финансовой поддержки со стороны кампаний-производителей лекарственных препаратов, а также других спонсоров авторы не получали.

**Участие авторов.** Майбородин И. В. — обработка материала, написание текста статьи, анализ и интерпретация данных; Шумейкина А. О. — обработка материала; Майбородина В. И. — анализ и интерпретация данных; Красильников С. Э. — идея публикации, анализ и интерпретация данных, научное редактирование.

## Литература/References

- Annabelle J. Que doit savoir un cardiologue sur le suivi et la prise en charge d'une femme atteinte de cancer du sein? [What should a cardiologist know about the follow-up and management of a woman with breast cancer?]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2022; S0003-3928(22)00115-9. French. doi: 10.1016/j.ancard.2022.07.007.
- Elad B., Habib M., Caspi O. Cardio-Oncology Rehabilitation-Present and Future Perspectives. *Life (Basel)*. 2022; 12 (7): 1006. doi: 10.3390/life12071006. PMID: 35888095; PMCID: PMC9320714.
- Cicini M. P., Ferretti G., Morace N., Nisticò C., Cognetti F., Rulli F. Second-degree type 2 atrioventricular block requiring permanent cardiac pacing in patients on CDK4/6 inhibitors: report of two cases. *Breast Care (Basel)*. 2022; 17(3):330-335. doi: 10.1159/000519728.
- Khairnar S. I., Kulkarni Y. A., Singh K. Cardiotoxicity linked to anticancer agents and cardioprotective strategy. *Arch Pharm Res*. 2022; 45 (10): 704-730. doi: 10.1007/s12272-022-01411-4.
- Chen Y., Shi S., Dai Y. Research progress of therapeutic drugs for doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Biomed Pharmacother*. 2022; 156: 113903. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113903.
- Guler M. N., Tscheller N. M., Sabater-Molina M., Gimeno J. R., Nebigil C. G. Evidence for reciprocal network interactions between injured hearts and cancer. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9: 929259. doi: 10.3389/fcvm.2022.929259.
- de Wit S., Glen C., de Boer R. A., Lang N. N. Mechanisms shared between cancer, heart failure, and targeted anti-cancer therapies. *Cardiovasc Res*. 2022; cvac132. doi: 10.1093/cvr/cvac132.
- Zhang X. Y., Wang Q., Yang K. L., Wei D., Liu X. N. Preventive strategies of cancer therapeutics-related cardiotoxicity in childhood cancer survivors: a protocol of systematic review. *BMJ Open*. 2022; 12 (9): e065776. doi: 10.1136/bmjopen-2022-065776.
- Liu B., Wang Y., Lyu D., Ma F. Focus on anticancer therapy-induced cardiotoxicity from the perspective of oncologists. *Chin Med J (Engl)*. 2022. doi: 10.1097/CM9.00000000000002133.
- Porter C., Azam T. U., Mohanany D., Kumar R., Chu J., Lenihan D., Dent S., Ganatra S., Beasley G. S., Okwuosa T. Permissive cardiotoxicity: the clinical crucible of cardio-oncology. *JACC CardioOncol*. 2022; 4 (3): 302-312. doi: 10.1016/j.jaccao.2022.07.005.
- Pantazi D., Tselepis A. D. Cardiovascular toxic effects of antitumor agents: Pathogenetic mechanisms. *Thromb Res*. 2022; 213 Suppl 1: S95-S102. doi: 10.1016/j.thromres.2021.12.017.
- Chianca M., Fabiani I., Del Franco A., Grigoratos C., Aimo A., Panichella G., Giannoni A., Castiglione V., Gentile F., Passino C., Cipolla C. M., Cardinale D. M., Emdin M. Management and treatment of cardiotoxicity due to anticancer drugs: 10 questions and answers. *Eur J Prev Cardiol*. 2022; 29 (17): 2163-2172. doi: 10.1093/eurjpc/zwac170.
- Bikomeye J. C., Terwoord J. D., Santos J. H., Beyer A. M. Emerging mitochondrial signaling mechanisms in cardio-oncology: beyond oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022; 323 (4): H702-H720. doi: 10.1152/ajpheart.00231.2022.
- Ishiguchi H., Uchida M., Okamura T., Kobayashi S., Yano M. Acute heart failure following the initiation of cabozantinib, a multikinase inhibitor: A case report. *J Cardiol Cases*. 2022; 26 (3): 217-220. doi: 10.1016/j.jccase.2022.04.012.
- Brandão S. R., Carvalho F., Amado F., Ferreira R., Costa V. M. Insights on the molecular targets of cardiotoxicity induced by anticancer drugs: A systematic review based on proteomic findings. *Metabolism*. 2022; 134: 155250. doi: 10.1016/j.metabol.2022.155250.
- Fox C. A., Romenskaia I., Dagda R. K., Ryan R. O. Cardiolipin nanodisks confer protection against doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2022; 1864 (10): 183984. doi: 10.1016/j.bbamem.2022.183984.
- Moro N., Dokshokova L., Perumal Vanaja I., Prando V., Cnudde S. J. A., Di Bona A., Bariani R., Schirone L., Bause B., Angelini A., Sciarretta S., Ghigo A., Mongillo M., Zaglia T. Neurotoxic Effect of Doxorubicin Treatment on Cardiac Sympathetic Neurons. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (19): 11098. doi: 10.3390/ijms231911098.
- Xie S., Yang Y., Luo Z., Li X., Liu J., Zhang B., Li W. Role of non-cardiomyocytes in anticancer drug-induced cardiotoxicity: A systematic review. *iScience*. 2022; 25 (11): 105283. doi: 10.1016/j.isci.2022.105283.
- Lérida-Viso A., Estepa-Fernández A., Morellá-Aucejo Á., Lozano-Torres B., Alfonso M., Blandez J. E., Bisbal V., Sepúlveda P., García-Fernández A., Orzáez M., Martínez-Mañez R. Pharmacological senolysis reduces doxorubicin-induced cardiotoxicity and improves cardiac function in mice. *Pharmacol Res*. 2022; 183: 106356. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106356.
- Kim S. W., Ahn B. Y., Tran T. T. V., Pyun J. H., Kang J. S., Leem Y. E. PRMT1 suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting endoplasmic reticulum stress. *Cell Signal*. 2022; 98: 110412. doi: 10.1016/j.cellsig.2022.110412.
- Ebrahim N., Al Saihati H. A., Mostafa O., Hassouna A., Abdulsamea S., Abd El Aziz M. El Gebaly E., Abo-Rayah N. H., Sabry D., El-Sherbiny M., Madboly A. G., Hussien N. I., Saadani R. E. H., Ebrahim H. A., Badr O. A. M., Elsherbiny N. M., Salim R. F. Prophylactic evidence of MSCs-derived exosomes in doxorubicin/trastuzumab-induced cardiotoxicity: beyond mechanistic target of NRG-1/Erb signaling pathway. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (11): 5967. doi: 10.3390/ijms23115967.
- Li M. J., Sun W. S., Yuan Y., Zhang Y. K., Lu Q., Gao Y. Z., Ye T., Xing D. M. Brevisscapine remodels myocardial glucose and lipid metabolism by regulating serotonin to alleviate doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 930835. doi: 10.3389/fphar.2022.930835.
- Hosseini A., Safari M. K., Rajabian A., Boroumand-Noughabi S., Eid A. H., Al Dhaheeri Y., Gumprich E., Sahebkar A. Cardioprotective effect of

- rheum turkestanicum against doxorubicin-induced toxicity in rats. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 909079. doi: 10.3389/fphar.2022.909079.
24. Liu X., Li D., Pi W., Wang B., Xu S., Yu L., Yao L., Sun Z., Jiang J., Mi Y. LCZ696 protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting ferroptosis via AKT/SIRT3/SOD2 signaling pathway activation. *Int Immunopharmacol.* 2022; 113 (Pt A): 109379. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109379.
  25. Yu W., Chen C., Xu C., Xie D., Wang Q., Liu W., Zhao H., He F., Chen B., Xi Y., Yan Y., Yu L., Cheng J. Activation of p62-NRF2 Axis protects against doxorubicin-induced ferroptosis in cardiomyocytes: a novel role and molecular mechanism of resveratrol. *Am J Chin Med.* 2022; 50 (8): 2103–2123. doi: 10.1142/S0192415X22500902.
  26. Tadokoro T., Ikeda M., Abe K., Ide T., Miyamoto H. D., Furusawa S., Ishimaru K., Watanabe M., Ishikita A., Matsushima S., Koumura T., Yamada K. I., Imai H., Tsutsui H. Ethoxyquin is a Competent Radical-Trapping Antioxidant for Preventing Ferroptosis in Doxorubicin Cardiotoxicity. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2022; 80 (5): 690–699. doi: 10.1097/FJC.0000000000001328.
  27. Tang X. G., Lin K., Guo S. W., Rong Y., Chen D., Chen Z. S., Ping F. F., Wang J. Q. The Synergistic Effect of Ruthenium Complex  $\Delta$ -Ru1 and Doxorubicin in a Mouse Breast Cancer Model. *Recent Pat Anticancer Drug Discov.* 2022; 18 (2): 174–186. doi: 10.2174/1574892817666220629105543.
  28. Zhang C., Dan Q., Lai S., Zhang Y., Gao E., Luo H., Yang L., Gao X., Lu C. Rab10 protects against DOX-induced cardiotoxicity by alleviating the oxidative stress and apoptosis of cardiomyocytes. *Toxicol Lett.* 2023; 373: 84–93. doi: 10.1016/j.toxlet.2022.10.005.
  29. Liang F., Zhang K., Ma W., Zhang H., Sun Q., Xie L., Zhao Z. Impaired autophagy and mitochondrial dynamics are involved in Sorafenib-induced cardiomyocyte apoptosis. *Toxicology.* 2022; 481: 153348. doi: 10.1016/j.tox.2022.153348.
  30. Chang W. T., Liu C. F., Feng Y. H., Liao C. T., Wang J. J., Chen Z. C., Lee H. C., Shih J. Y. An artificial intelligence approach for predicting cardiotoxicity in breast cancer patients receiving anthracycline. *Arch Toxicol.* 2022; 96 (10): 2731–2737. doi: 10.1007/s00204-022-03341-y.
  31. Afrin H., Huda M. N., Islam T., Oropeza B. P., Alvidrez E., Abir M. I., Boland T., Turbay D., Nurunnabi M. Detection of Anticancer Drug-Induced Cardiotoxicity Using V. C.AM1-Targeted Nanoprobes. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022; 14 (33): 37566–37576. doi: 10.1021/acsami.2c13019.
  32. Al-Kuraishy H. M., Al-Hussainy H. A., Al-Gareeb A. I., Negm W. A., El-Kadem A. H., Batiha G. E., Welson N., Mostafa-Hedeab G., Qasem A. H., Conte-Junior C. A. Combination of Panax ginseng C. A. meyer and febuxostat boosted cardioprotective effects against doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 905828. doi: 10.3389/fphar.2022.905828.
  33. Belen E., Canbolat I. P., Yigitürk G., Cetinarslan Ö., Akdeniz C. S., Karaca M., Sönmez M., Erbas O. Cardio-protective effect of dapagliflozin against doxorubicin induced cardiomyopathy in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022; 26 (12): 4403–4408. doi: 10.26355/eurrev\_202206\_29079.
  34. Cheng Y., Wu X., Nie X., Wu Y., Zhang C., Lee S. M., Lv K., Leung G. P., Fu C., Zhang J., Li J. Natural compound glycyrrhetic acid protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Phytomedicine.* 2022; 106: 154407. doi: 10.1016/j.phymed.2022.154407.
  35. Ding M., Shi R., Fu F., Li M., De D., Du Y., Li Z. Paeonol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by promoting Mfn2-mediated mitochondrial fusion through activating the PKC $\epsilon$ -Stat3 pathway. *J Adv Res.* 2023; 151–162. doi: 10.1016/j.jare.2022.07.002.
  36. Dragojevic S., Ryu J. S., Hall M. E., Raucher D. Targeted Drug Delivery Biopolymers Effectively Inhibit Breast Tumor Growth and Prevent Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Molecules.* 2022; 27 (11): 3371. doi: 10.3390/molecules27113371.
  37. Jones I. C., Dass C. R. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: causative factors and possible interventions. *J Pharm Pharmacol.* 2022; 74 (12): 1677–1688. doi: 10.1093/jpp/rgac063. PMID: 35994421.
  38. Liang Z., Chen Y., Wang Z., Wu X., Deng C., Wang C., Yang W., Tian Y., Zhang S., Lu C., Yang Y. Protective effects and mechanisms of psoralidin against adriamycin-induced cardiotoxicity. *J Adv Res.* 2022; 40: 249–261. doi: 10.1016/j.jare.2021.12.007.
  39. Lu D., Chatterjee S., Xiao K., Riedel I., Huang C. K., Costa A., Cushman S., Neufeldt D., Rode L., Schmidt A., Juchem M., Leonardy J., Büchler G., Blume J., Gern O. L., Kalinke U., Wen Tan W. L., Foo R., Vink A., van Laake L. W., van der Meer P., Bär C., Thum T. A circular RNA derived from the insulin receptor locus protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Eur Heart J.* 2022; 43 (42): 4496–4511. doi: 10.1093/eurheartj/ehac337.
  40. Maleki Dana P., Sadoughi F., Reiter R. J., Mohammadi S., Heidar Z., Mirzamoradi M., Asemi Z. Melatonin as an adjuvant treatment modality with doxorubicin. *Biochimie.* 2022; 49–55. doi: 10.1016/j.biochi.2022.06.007.
  41. Nguyen N., Lienhard N., Herwig R., Kleinjans J., Jennen D. Epirubicin alters DNA methylation profiles related to cardiotoxicity. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022; 27 (6): 173. doi: 10.31083/j.fbl2706173.
  42. Patil P. P., Khanal P., Patil V. S., Charla R., Harish D. R., Patil B. M., Roy S. Effect of Theobroma cacao L. on the efficacy and toxicity of doxorubicin in mice bearing ehrlich ascites carcinoma. *Antioxidants (Basel).* 2022; 11 (6): 1094. doi: 10.3390/antiox11061094.
  43. Shetake N. G., Ali M., Kumar A., Bellare J., Pandey B. N. Theranostic magnetic nanoparticles enhance DNA damage and mitigate doxorubicin-induced cardio-toxicity for effective multi-modal tumor therapy. *Biomater Adv.* 2022; 142: 213147. doi: 10.1016/j.bioadv.2022.213147.
  44. Sirangelo I., Liccardo M., Iannuzzi C. Hydroxytyrosol prevents doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in cardiomyocytes. *Antioxidants (Basel).* 2022; 11 (6): 1087. doi: 10.3390/antiox11061087.
  45. Li J., Cheng Y., Li R., Wu X., Zheng C., Shiu P. H., Chan J. C., Rangsinth P., Liu C., Leung S. W., Lee S. M., Zhang C., Fu C., Zhang J., Cheung T. M., Leung G. P. Protective effects of Amauroderma rugosum on doxorubicin-induced cardiotoxicity through suppressing oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis, and activating Akt/mTOR and Nrf2/HO-1 signaling pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2022; 2022: 9266178. doi: 10.1155/2022/9266178.
  46. Madanat L., Gupta R., Weber P., Kumar N., Chandra R., Ahaneke H., Bansal Y., Anderson J., Bilolilar A., Jayesimi I. Cardiotoxicity of biological therapies in cancer patients: an in-depth review. *Curr Cardiol Rev.* 2022. doi: 10.2174/1573403X18666220531094800.
  47. Rosenkaimer S., Sieburg T., Winter L., Mavratzas A., Hofmann W. K., Hofheinz R. D., Akin I., Duerschmied D., Hohnack A. Adverse Cardiovascular effects of anti-tumor therapies in patients with breast cancer: a single-center cross-sectional analysis. *Anticancer Res.* 2022; 42 (6): 3075–3084. doi: 10.21873/anticancer.15795.
  48. Serrao A., Malfona F., Assanto G. M., Orellana M. G. C., Santoro C., Chistolini A. Direct oral anticoagulants for the treatment of atrial fibrillation in patients with hematologic malignancies. *J Thromb Thrombolysis.* 2022; 54 (4): 625–629. doi: 10.1007/s11239-022-02702-9.
  49. Chen X., Wang H., Zhang Z., Xu Y., An X., Ai X., Li L. Case Report: Oxaliplatin-Induced Third-Degree Atrioventricular Block: First Discovery of an Important Side-Effect. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9: 900406. doi: 10.3389/fcvm.2022.900406.
  50. Kwon S. S., Nam B. D., Lee M. H., Lee J., Park B. W., Bang D. W., Kwon S. H. Increased E. A. T volume after anthracycline chemotherapy is associated with a low risk of cardiotoxicity in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2022; 196 (1): 111–119. doi: 10.1007/s10549-022-06696-z.
  51. Duvalier P. Hypertension artérielle et cancer: les liaisons dangereuses [Hypertension and cancer: Dangerous Liaisons]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* 2022 Sep 5; S0003–3928 (22) 00119–6. French. doi: 10.1016/j.jancard.2022.08.003.
  52. Medrek S., Szmit S. Echocardiography-assessed changes of left and right ventricular cardiac function may correlate with progression of advanced lung cancer—a generating hypothesis study. *Cancers (Basel).* 2022; 14 (19): 4770. doi: 10.3390/cancers14194770.
  53. Gálvez L. C., Redondo E. A., Lorenzo C. C., Fernández T. L. Advanced echocardiographic techniques in cardio-oncology: the role for early detection of cardiotoxicity. *Curr Cardiol Rep.* 2022; 24 (9): 1109–1116. doi: 10.1007/s11886-022-01728-y.
  54. Nenna A., Carpenito M., Chello C., Nappi P., Annibali O., Vincenzi B., Grigioni F., Chello M., Nappi F. Cardiotoxicity of chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy: pathophysiology, clinical implications, and echocardiographic assessment. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (15): 8242. doi: 10.3390/ijms23158242.
  55. Fan M., Li H., Shen D., Wang Z., Liu H., Zhu D., Wang Z., Li L., Popowski K. D., Ou C., Zhang K., Zhang J., Cheng K., Li Z. Decoy exosomes offer protection against chemotherapy-induced toxicity. *Adv Sci (Weinh).* 2022; 9 (32): e2203505. doi: 10.1002/advs.202203505.
  56. Li X. R., Cheng X. H., Zhang G. N., Wang X. X., Huang J. M. Cardiac safety analysis of first-line chemotherapy drug pegylated liposomal doxorubicin in ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2022; 15 (1): 96. doi: 10.1186/s13048-022-01029-6.
  57. Tang C., Yin D., Liu T., Gou R., Fu J., Tang Q., Wang Y., Zou L., Li H. Maleimide-functionalized liposomes: prolonged retention and enhanced efficacy of doxorubicin in breast cancer with low systemic toxicity. *Molecules.* 2022; 27 (14): 4632. doi: 10.3390/molecules27144632.
  58. Zhao F., Qian Y., Li H., Yang Y., Wang J., Yu W., Li M., Cheng W., Shan L. Amentoflavone-loaded nanoparticles enhanced chemotherapy efficacy by inhibition of AKR1B10. *Nanotechnology.* 2022; 33 (38). doi: 10.1088/1361-6528/ac7810.
  59. Yu B., Shen Y., Zhang X., Ding L., Meng Z., Wang X., Han M., Guo Y., Wang X. Poly(methacrylate citric acid) as a Dual Functional Carrier for Tumor Therapy. *Pharmaceutics.* 2022; 14 (9): 1765. doi: 10.3390/pharmaceutics14091765.
  60. Al-Thani H. F., Shurbaji S., Zakaria Z. Z., Hasan M. H., Goracinova K., Korashy H. M., Yalcin H. C. Reduced cardiotoxicity of ponatinib-loaded



PLGA-PEG-PLGA nanoparticles in zebrafish xenograft model. Materials (Basel). 2022; 15 (11): 3960. doi: 10.3390/ma15113960.

61. Das S., Janardhanan K. K., Thampi B. S. H. Bioactive extract of morel mushroom, morchella esculenta (ascomycota) attenuates doxorubicin-

induced oxidative stress leading to myocardial injury. Int J Med Mushrooms. 2022; 24 (8): 31–44. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2022044516.

Поступила / Received 12.12.2023

Принята в печать / Accepted 19.01.2024

## Информация об авторах

*Майбородин Игорь Валентинович* — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID ID: 0000-0002-8182-5084. SPIN-код: 8626-5394

*Шумейкина Анастасия Олеговна* — аспирант по специальности «онкология», Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID ID: 0009-0008-1839-071X. SPIN-код: 8038-5941

*Майбородина Виталина Игоревна* — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5169-6373. SPIN-код: 8492-629

*Красильников Сергей Эдуардович* — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0687-0894. SPIN-код: 4030-8868

## About the authors

*Igor Maiborodin* — D. Sc. in Medicine, Professor, Chief Researcher at the Laboratory of Invasive Medical Technologies, Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-8182-5084. SPIN-код: 8626-5394

*Anastasia O. Shumeikina* — Postgraduate Student in the Specialty «Oncology», Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine», Novosibirsk, Russia. ORCID ID: 0009-0008-1839-071X. SPIN-код: 8038-5941

*Vitalina I. Maiborodina* — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher, Laboratory of Invasive Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5169-6373. SPIN-код: 8492-6291

*Sergey E. Krasilnikov* — D. Sc. in Medicine, Professor, Chief Researcher, Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine», Novosibirsk, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0687-0894. SPIN-код: 4030-8868



# Анализ проблемы антибиотикорезистентности в агропромышленном комплексе

\*Е. Н. ОЛСУФЬЕВА, В. С. ЯНКОВСКАЯ

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева (РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева), Москва, Россия

## Резюме

Устойчивость к противомикробным препаратам является одной из основных глобальных угроз общественному здравоохранению и развитию. Проблема антибиотикорезистентности возникла в результате широкого и бесконтрольного применения противомикробных препаратов в медицине и сельском хозяйстве. Противомикробные препараты, включая антибиотики, широко применяются в современном сельском хозяйстве для лечения животных, птиц и других домашних животных, а также в пищевой промышленности. Уже в начале эпохи открытия антибиотиков было обнаружено снижение чувствительности бактерий к некоторым классам антибиотиков, которое впоследствии в ряде случаев трансформировалось в множественную лекарственную устойчивость. Резистентность микроорганизмов зависит от структуры антибиотика и связана с механизмом его антибактериальной активности. В обзоре рассмотрены свойства критически важных с точки зрения проблемы устойчивости различных групп антибиотиков, предназначенных для лечения, профилактики и стимулирования роста сельскохозяйственных животных. Обсуждены также возможности применения в ветеринарии методов, альтернативных антибиотикотерапии.

**Ключевые слова:** антибиотики; аграрно-промышленный комплекс (АПК); антибиотикорезистентность; механизмы резистентности

**Для цитирования:** Олсуфьева Е. Н., Янковская В. С. Анализ проблемы антибиотикорезистентности в агропромышленном комплексе. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 108–132. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-108-132>. EDN: POUZCX.

# Analysis of the Antibiotic Resistance Problem in the Agricultural Sector

\*EVGENIA N. OLSUFYEVA<sup>1</sup>, VALENTINA S. YANKOVSKAYA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

## Abstract

Antimicrobial resistance is a major global threat to public health and development. The problem of antibiotic resistance arose as a result of widespread and uncontrolled use of antimicrobial drugs in medicine and agriculture. Antimicrobials, including antibiotics, are widely used in modern agriculture to treat animals, birds, and other domestic animals, as well as in the food industry. A decrease in the sensitivity of bacteria to certain classes of antibiotics was discovered as early as the very beginning of the antibiotic discovery era, which subsequently, in some cases, transformed into multidrug resistance. The resistance of microorganisms depends on the structure of the antibiotic and is associated with the mechanism of its antibacterial activity. The review examines the properties of various groups of antibiotics that are critically important in terms of the resistance problem, intended for the treatment, prevention, and growth stimulation of farm animals. The possibilities of using methods alternative to antibiotic therapy in veterinary medicine were also discussed.

**Keywords:** antibiotics; agricultural-industrial complex (AIC); antibiotic resistance; resistance mechanisms

**For citation:** Olsufyeva E. N., Yankovskaya V. S. Analysis of the antibiotic resistance problem in the agricultural sector. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (9–10): 108–132. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-108-132>. EDN: POUZCX.

## Введение

Применение антибиотиков в медицинской практике достаточно хорошо известно, в то время

как их использование в агропромышленном комплексе (АПК), как правило, знакомо лишь специалистам, связанным с этой отраслью. История

\*Адрес для корреспонденции:  
E-mail: eolsufeva@list.ru



\*Correspondence to:  
E-mail: eolsufeva@list.ru



EDN: POUZCX

сельскохозяйственных антибиотиков началась с синтетических сульфаниламидов в 1935 г., когда компания Вауер выпустила на рынок пронтозил (сульфохинолин), первый эффективный препарат против грамположительных инфекций [1]. Помимо лечения и профилактики инфекций у животных, птицеводческая промышленность позже в 1940-х гг. обнаружила, что скармливание субтерапевтических доз определённых антибиотиков приводит к более быстрому росту животных. Таким образом была открыта дорога широкому применению антибиотиков в качестве кормовых добавок [2]. И к середине 1950-х гг. началось их использование в других областях производства продуктов питания в США, помимо животноводства, в таких областях, как растениеводство, коммерческие ульи и выращивание рыбы [3].

В настоящее время антибиотики широко используются в АПК в Евразийском Экономическом Союзе (ЕЭС), в который входит РФ, а также в развивающихся странах не только в ветеринарии для лечения животных и птицы, но и как кормовые добавки в качестве стимуляторов роста [4]. В настоящее время многие антибиотики применяются в растениеводстве и садоводстве для подавления и профилактики инфекционных заболеваний растений, а также в качестве инсектицидов [5]. Антибиотики пользуются спросом также в пищевой промышленности при консервировании продуктов для увеличения сроков хранения [6].

«Применение антибиотиков в сельском хозяйстве, как ожидается, увеличится за 20 лет на две трети: с 63,2 тыс. тонн в 2010 г. до 105,6 тыс. тонн в 2030 г.», — заявила глава Роспотребнадзора РФ А. Ю. Попова в интервью «Российской газете». Было отмечено, что около половины производимых в мире антибиотиков предназначены именно для сельского хозяйства [7]. Только в США примерно две трети тоннажа антибиотиков, предназначены для использования в сельскохозяйственной продукции, и, по прогнозам, их использование в мире будет увеличиваться [8].

Согласно недавнему моделированию, в период с 2010 по 2030 гг. мировое потребление противомикробных препаратов увеличится на 67%, с 63 000 тонн до 105 000 тонн. Для Бразилии, России, Индии, Китая и Южной Африки предполагаемый рост потребления противомикробных препаратов составит 99%, что в семь раз превышает прогнозируемый рост населения в этой группе стран [9].

В этой связи возникла очень серьёзная проблема — увеличение резистентности патогенных микроорганизмов, что повлекло за собой снижение эффективности противомикробной химиотерапии и увеличение смертности населения от бактериальных инфекций. По оценкам Всемирной Организации ООН (ВОЗ) устойчивость к про-

тивомикробным препаратам является одной из главных глобальных угроз общественному здравоохранению и развитию. По оценкам, она стала непосредственной причиной 1,27 млн смертей во всём мире в 2019 г. и способствовала 4,95 млн смертей [10], и смертность от этой причины может достичь 10 млн жизней в 2050 г. [11].

Поскольку антибиотики широко применяются в ветеринарии в качестве кормовых добавок, то не исключено их использование в хозяйстве в виде доступных концентратов культуральной жидкости, образующейся в процессе биосинтеза микроорганизмов, продуцирующих эти антибиотики. Однако все попытки ограничения использования антибиотиков в АПК упираются в рентабельность ведения производства и в снижение объёмов производства конечной продукции.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет устойчивость к антибиотикам как одну из трёх наиболее серьёзных угроз общественному здоровью XXI в. Выделены категории особо высоковирулентных, резистентных к определённым классам антибиотиков шести групп бактерий *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. («ESKAPE»). В 2017 г., уже основываясь на стратегических документах Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ, WHO), к этому списку было добавлено ещё 12 крайне опасных штаммов бактерий: *Acinetobacter baumannii* (carbapenem-resistant), *Pseudomonas aeruginosa* (carbapenem-resistant), *Enterobacteriaceae* (carbapenem-resistant, 3-е поколение cephalosporin-resistant), *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (vancomycin-resistant methicillin-resistant), *Streptococcus pneumoniae* (penicillin-non-susceptible), *Campylobacter species* (fluoroquinolone-resistant), *Haemophilus influenzae* (ampicillin-resistant), *Helicobacter pylori* (clarithromycin-resistant), *Neisseria gonorrhoeae* (3-е поколение cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant), *Salmonella enterica* (fluoroquinolone-resistant) [12]. Большую опасность представляет также образование биоплёнок, которые образуют многие клинически важные штаммы бактерий — *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, снижающее эффективность применяемых антибиотиков.

Патогенные микроорганизмы по степени опасности разделены на следующие группы.

Приоритет 1: КРИТИЧЕСКИЙ: устойчивые к карбапенемам *A. baumannii*, *Pseudomonas* spp. и устойчивые к карбапенемам и цефалоспорином 3-го поколения *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp. и *Providencia* spp., *Morganella* spp.).

Приоритет 2: ВЫСОКИЙ: устойчивые к ванкомицину *Enterococcus faecium*, и к метициллину и ванкомицину со средним или высоким уровнем *S. aureus*, к кларитромицину *H. pylori*, к фторхинолонам и цефалоспорином 3-го поколения *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*.

Приоритет 3: СРЕДНИЙ: устойчивые к пенициллинонечувствительным *Streptococcus pneumoniae*, к ампициллину *Haemophilus influenzae*, и к фторхинолонам *Shigella* spp.

Большую опасность несёт также появление клонов грамотрицательных «супербактерий» *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae* уже с широкой лекарственной устойчивостью к большинству антибиотиков (XDR) или полной (пан-) резистентностью ко всем классам антибиотиков (PDR). В мировом масштабе резистентные бактерии являются возбудителями порядка 15% случаев внутрибольничных инфекций и вызывают свыше 700 000 случаев смертей в год. Согласно прогнозам ВОЗ, к 2050 г. смертность от заболеваний, вызванных резистентными бактериями, может достигнуть 10 млн человек в год.

## 2. Проблема антибиотикорезистентности в АПК

Проблема антибиотикорезистентности тесно связана с применением антибиотиков в современном АПК. Антибиотики используются для лечения и профилактики инфекционных заболеваний животных, в качестве кормовых добавок и в пищевой промышленности. Антибиотики применяются в ветеринарии для лечения животных с диагностированными заболеваниями, для контроля распространения заболевания в стаде или стае, профилактики заболеваний у здоровых животных при наличии вероятности контакта с больными животными.

Антибиотики в определённых количествах могут попадать в организм животных и человека и другими независимыми путями. Антимикробные препараты, применяемые для защиты растений, могут содержаться и в окружающей среде: в кормах, в почве или в воде. Многие антибиотики плохо метаболизируются в организме человека и животных, в результате чего от 25 до 75% потребляемых антибактериальных средств без изменений выводится из организма и также попадает вместе с водой в естественную среду. Кроме того, промышленное производство противомикробных средств обеспечивает существенную часть антропогенных антибиотиков, циркулирующих в биосфере [13].

В настоящее время невозможно отказаться от применения антибиотиков для лечения животных при острых воспалительных процессах, вызванных грамположительными и грамотрица-

тельными бактериями, а также различными паразитами. При этом приходится использовать антибиотиков, применяемые в медицине: бета-лактамы, амфениколы, тетрациклины, аминогликозиды, сульфамидные препараты и некоторые другие противомикробные средства.

Особые требования, ограничивающие применение антибиотиков, накладываются при лечении продуктивных сельскохозяйственных животных, например, коров в период лактации и т. д. С другой стороны, проблема в применении антибиотиков обостряется тем, что исключение их как стимуляторов роста, а также и резкое увеличение производства птицы без антибиотиков во всём мире приводит к увеличению заболеваемости у людей, особенно из-за роста кишечных воспалений и других патологий, например, субклинического клостридиального некротического энтерита [14].

Ежегодно в США через продукты инфицируется 48 млн человек, из которых 128 000 подлежат госпитализации, а 3000 случаев заканчиваются летальным исходом [15].

Особенно серьёзную проблему представляет собой риск контаминации антибиотиками молока и молочных продуктов [16]. Через молочные продукты также могут передаваться возбудители многих инфекционных заболеваний. Наиболее частой причиной содержания антибиотиков в молочных продуктах является переработка молока, полученного от животных, болеющих или болевших маститом. Недобросовестными фермерами может быть не выдержан период запрета на использование молока после окончания лечения животных.

В процессе производства или хранения продуктов питания происходит образование биоплёнок микроорганизмов, что напрямую связано с качеством и безопасностью выпускаемой пищевой продукции [17].

Образование многоклеточных биоплёнок, характерных для многих патогенных микроорганизмов, представляет собой особую опасность [18]. При этом устойчивость к антибиотикам таких микроорганизмов, включая штаммы бактерий группы ESKAPE, резко увеличивается [19].

В пищевой промышленности содержание антибиотиков является недопустимым негативным фактором. Во-первых, в соответствии с требованиями нормативной документации (Технические Регламенты Таможенного Союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», ТР ЕАЭС 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции», ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции») не допускается содержание антибиотиков (в т. ч. содержание левомицетина, тетрациклиновой группы, стрептомицина и пеницилина не должны превышать предельно допустимых уровней). Несоблюдение

этого требования является основанием для отзыва из реализации продукции и её уничтожения, что для производителей крайне нежелательно. Во-вторых, антибиотики в сырье препятствуют развитию заквасочных культур при производстве целого ряда ферментированной продукции (кисломолочная продукция, сыры, квашенные овощи, продукция бродильных производств и др.), что приводит к убыткам производителей продуктов питания. В-третьих, обязательные для применения в пищевой промышленности принципы ХАССП предполагают необходимость анализа рисков попадания антибиотиков в продукцию и разработку мер по управлению и минимизации этих рисков [20].

Недавно была зафиксирована ещё одна опасность применения антибиотиков при вскармливании животных. Исследования показали, что чрезмерное использование противомикробных препаратов в животноводстве может привести к эволюции бактерий, более устойчивых к первой линии иммунного ответа человека. Было установлено, что свиньи и куры на фермах могут содержать большие резервуары перекрёстно-резистентных бактерий, способных способствовать будущим эпидемиям [21].

Таким образом, антибиотики, используемые в сельском хозяйстве, рассматриваются как важный фактор формирования и распространения антибиотикорезистентности и источник контаминации пищевой продукции [22].

Согласно классификации FDA (Food and Drug Administration — агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США, антибиотики делят на три класса в зависимости от возможности использования для лечения людей и животных:

- 1) используемые только у людей (не рекомендованы для лечения животных);
- 2) используемые у людей и животных (антибиотики этой группы применяются у животных только по терапевтическим показаниям и под присмотром ветеринара);
- 3) разработанные и разрешённые для использования только у животных.

Получение, свойства и применение антибиотиков первого класса и некоторых антибиотиков второго и третьего классов подробно рассмотрены в монографии [23].

В настоящем обзоре рассматриваются проблемы антибиотикорезистентности, относящиеся к пп. 2 и 3, которые используются в сельском хозяйстве во многих странах, включая РФ.

### 3. Специфика применения антибиотиков в АПК

Необходимость лечения воспалительных заболеваний, вызванных общими инфекциями как людей, так и животных, диктует применение ан-

тибиотиков. Но использование антибиотиков в сельском хозяйстве имеют свою специфику. К примеру, ряд инфекций, нередко встречающихся у животных, не распространяется на людей. При лечении людей есть возможность назначить препарат, предварительно проведя оценку его эффективности в отношении конкретной инфекции в лаборатории. В ветеринарной практике подавляющее большинство животноводческих ферм лишены такой возможности, и ветеринар вынужден эмпирически подбирать лекарство, ориентируясь на общие рекомендации. Это обстоятельство может приводить к неэффективности препаратов, что также увеличивает риски развития резистентности патогенных микроорганизмов. Применение антимикробных препаратов, специально предназначенных для нужд АПК, не снимают опасности распространения резистентности, поскольку антибиотики, входящие по химическому строению в одну группу, как правило, вызывают перекрёстную устойчивость у микроорганизмов, и они теряют чувствительность ко всей группе.

Требования к здоровью животных отличаются от таковых для людей. Антибиотические препараты для медицинского использования как правило обладают высокой степенью чистоты, в то время как для лечения животных и особенно для профилактики и стимулирования роста можно употреблять даже концентраты культуральной жидкости после выращивания в ней продуцента. Применение концентратов вместе с биомассой, содержащей антибиотики, обеспечивает значительное количество других полезных продуктов обмена веществ продуцента, в том числе витаминов, аминокислот, нуклеотидов и т. п.

Было отмечено, что из 41 антибиотика, разрешённого FDA для использования для сельскохозяйственных животных, 31 — отнесён к категории важных с медицинской точки зрения для использования человеком [24].

Опасность развития резистентности находится в зависимости от применения структуры применяемых антибиотиков, которые делятся на основные классы, которые представлены бета-лактамами, макролидами (азитромицин), аминогликозидами (гентамицин), фторхинолонами (ципрофлоксацин, левофлоксацин, офлоксацин), пенициллинами, полипептидами и т. д. Их относят к антибиотикам двойного назначения (ветеринарные и медицинские). Однако, помимо перечисленных препаратов, благодаря дешевизне и доступности многие антибиотики, предназначенные для медицинских целей, могут бесконтрольно применяться в ветеринарии. В этом можно убедиться из данных, приведённых в табл. 1 [25, 26]. Антибиотики условно делят на две подгруппы в зависимости от риска развития устойчивости.



**Таблица 1. Примеры антибиотиков, используемых для лечения животных и человека**  
**Table 1. Examples of antibiotics used to treat animals and humans**

| Класс            | Ветеринарные                                                                                                                                                                           | Медицинские                                                                                 |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Бета-лактамы*    | Амоксициллин, ампициллин                                                                                                                                                               | Пенициллин G прокаин                                                                        |
| Цефалоспорины**  | Цефалексин                                                                                                                                                                             | Цефтазидим, цефиксим, цефепим, цефоперазон, цефотаксим, цефтаролин, цефтриаксон, цефамицины |
| Полипептиды      | Энрамицин                                                                                                                                                                              | Бацитрацин                                                                                  |
| Аминогликозиды** | Гентамицин, неомицин, апрамицин <sup>#</sup> , дигидрострептомицин, канамицин, паромомицин, стрептомицин, фрамицетин                                                                   | Гентамицин, амикацин, тобрамицин                                                            |
| Макролиды**      | Эритромицин, азитромицин, тилозин <sup>#</sup> , тилмикозин <sup>#</sup> , тилвалозин <sup>#</sup> , тилдипирозин <sup>#</sup> , гамитромицин <sup>#</sup> , тулатромицин <sup>#</sup> | Эритромицин, азитромицин                                                                    |
| Тетрациклины*    | Тетрациклин, доксициклин, окситетрациклин <sup>#</sup> , хлортетрациклин <sup>#</sup>                                                                                                  | Тетрациклин, доксициклин                                                                    |
| Стрептограмины*  | Вирджиниамицин <sup>#</sup>                                                                                                                                                            | Синергид (квинпристин–далфопристин)                                                         |
| Плевромутилины   | Тиамулин <sup>#</sup>                                                                                                                                                                  | Ретапамулин                                                                                 |
| Фениколы         | Флорфеникол <sup>#</sup> , тиамфеникол <sup>#</sup>                                                                                                                                    | Хлорамфеникол                                                                               |
| Фторхинолоны**   | Ципрофлоксацин, левофлоксацин, офлоксацин, энрофлоксацин <sup>#</sup>                                                                                                                  | Ципрофлоксацин, левофлоксацин, офлоксацин                                                   |

**Примечание.** \* — важный класс антибиотиков для развития резистентности; \*\* — критически важный класс антибиотиков для развития резистентности; # — критически важные для проблемы резистентности препараты, предназначенные для ветеринарии.

**Note.** \* — an important class of antibiotics for the development of resistance; \*\* — a critical class of antibiotics for the development of resistance; \*\*\* — critically important drugs for the problem of resistance intended for veterinary use.

К первой подгруппе относят антибиотики двойного назначения, которые используются как в медицине, так и в ветеринарии. Они обозначены одной или двумя звёздочками в зависимости от степени важности для развития резистентности. С целью снижения риска развития резистентности для ветеринарии специально выделены представители разных классов антибиотиков, например, тилозин, энрофлоксацин, хлортетрациклин, вирджиниамицин, флорфеникол и др. (обозначены тремя звёздочками). Однако эти антибиотики близки по структуре или механизму действия к антибиотикам, предназначенным для медицинских целей (соответственно бета-лактамы, аминогликозиды, тетрациклины, фторхинолоны, стрептограмины и др.). По этой причине крайне нежелательно применение в ветеринарии антибиотиков группы макролидов, аминогликозидов, цефалоспоринов и стрептограминов.

Важно отметить, что применение ветеринарных антибиотиков второй подгруппы — полипептидов, фениколов, а также плевромутилинов и некоторых других существенно не влияет на распространение резистентности.

Однако противомикробные препараты используются не только для лечения, но и для увеличения эффективности производства в разных отраслях сельского хозяйства: в животноводстве, птицеводстве, аквакультуре, а также в пищевой промышленности. Антибиотики, активные в отношении грамположительных бактерий, часто до-

бавляются в корм животным. Введение их в рацион позволяет существенно ускорить рост сельскохозяйственных животных за счёт влияния на баланс полезных/вредных бактерий в микробиоте и улучшения усвоения питательных веществ [27].

Как уже отмечено, антибиотики представляют опасность как потенциальные индукторы развития перекрёстной устойчивости бактерий, причём проблема снижения антибиотикорезистентности тесно связана со свойствами конкретных классов антибиотиков.

#### 4. Характеристики антибиотиков критически важных для проблемы резистентности

Для АПК рекомендовано применение следующих антимикробных препаратов: ингибиторы синтеза клеточной стенки бактерий цефтиафура (бета-лактамы), моеномицина (фосфогликолипид), ингибиторы синтеза белка хлортетрациклина (тетрациклины), тилозина и его аналоги (макролиды), апрамицина и касугамицина (аминогликозиды), флорфеникола и тиамфеникола (фениколы), вирджиниамицина (пристинамицин), тиамулина и его аналоги (плевромутилины); ингибиторы синтеза ДНК энрофлоксацина (фторхинолон). В табл. 2 приведены основные группы антибиотиков, используемых в ветеринарии и медицине. Двумя

**Таблица 2. Антибиотики, используемые в АПК**  
**Table 2. Antibiotics used in the agro-industrial complex**

| Класс                                               | Ветеринарные и медицинские                                                                                            | Применение                                 |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Ингибиторы синтеза клеточной стенки бактерий</b> |                                                                                                                       |                                            |
| $\beta$ -Лактамы                                    | Амоксициллин, ампициллин,                                                                                             | Лечебно-профилактическое                   |
| Пенициллины                                         | бензилпенициллин, клоксациллин                                                                                        |                                            |
| $\beta$ -Лактамы                                    | Цефазолин, цефалексин, цефепирин,                                                                                     | Лечебно-профилактическое                   |
| Цефалоспорины                                       | цефалоний*, цефкином*, цефтиофур*                                                                                     |                                            |
| Фосфогликолипид                                     | Моеномицин*                                                                                                           | Лечебно-профилактическое, кормовая добавка |
| Гликопептид**                                       | Авопарцин**                                                                                                           | Кормовая добавка                           |
| <b>Ингибиторы, нарушающие функции мембран</b>       |                                                                                                                       |                                            |
| Полипептиды                                         | Энрамицин, бацитрацин, полимиксины Е (колистин)* и М*                                                                 | Лечебно-профилактическое, кормовая добавка |
| <b>Ингибиторы синтеза белка</b>                     |                                                                                                                       |                                            |
| Аминогликозиды                                      | Гентамицин, неомицин, стрептомицин, дигидрострептомицин, канамицин, паромомицин, фрамицетин, апрамицин*               | Лечебно-профилактическое, кормовая добавка |
| Тетрациклины                                        | Тетрациклин, доксициклин, окситетрациклин (террамицин), хлортетрациклин*                                              | Лечебно-профилактическое, кормовая добавка |
| Макролиды                                           | Эритромицин, азитромицин, спирамицин, тилозин*, тилвалозин*, тилмикозин*, тилдипирозин*, гамитромицин*, тулатромицин* | Лечебно-профилактическое                   |
| Линкозамиды                                         | Линкомицин, пирлимидин*                                                                                               | Лечебно-профилактическое                   |
| Стрептограмины                                      | Вирджиниамицин*                                                                                                       | Лечебно-профилактическое, кормовая добавка |
| Плевомутилины                                       | Валнемулин*, тиамулин*                                                                                                | Лечебно-профилактическое                   |
| Фениколы                                            | Тиамфеникол*, флорфеникол*                                                                                            | Лечебно-профилактическое                   |
| <b>Ингибиторы синтеза ДНК</b>                       |                                                                                                                       |                                            |
| Фторхинолоны                                        | Ципрофлоксацин, левофлоксацин, офлоксацин, марбофлоксацин, энрофлоксацин*, флумеквин*                                 | Лечебно-профилактическое                   |
| Кумарины                                            | Новобиоцин*                                                                                                           | Лечебно-профилактическое                   |
| Хиноксалин 1,4-диоксиды**                           | Диоксидин, карбадокс**, олаквидокс**, меквиндокс, квиноцетон, циадокс**                                               | Кормовая добавка                           |

**Примечание.** \* — ветеринарные; \*\* — запрещённые в большинстве стран.

**Note.** \* — veterinary; \*\* — banned in most countries.

звёздочками отмечены антибиотики — по факту имеющиеся в продаже для использования в некоторых странах, несмотря на запрет в подавляющем большинстве стран. Рассмотрены также гликопептид авопарцин и хиноксалин 1,4-диоксиды, которые запрещены в большинстве стран.

В настоящем обзоре будут рассмотрены преимущественно антибиотики, созданные прежде всего для нужд АПК и представляющие собой опасность с точки зрения развития резистентности. Структуры и свойства препаратов медицинского назначения можно также найти в источниках [23, 28–30].

#### 4.1. Ингибиторы синтеза клеточной стенки бактерий

**4.1.1. Бета-лактамы.** Механизм действия бета-лактамов основан на их структурном сходстве с концевым -D-Ala-D-Ala-фрагментом растущего пептидогликана (PG) (рис. 1). В результате образования прочного комплекса антибиотика с мишенью нарушается синтез клеточной стенки бакте-

рий [30]. Бета-лактамы представляют собой наиболее важный класс антибиотиков как в медицине, так и в ветеринарии, и занимают более 65% мирового рынка антибиотиков. Группа бета-лактамов обладает широким спектром антибактериального действия и делится на 4 группы: пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы. Многие пенициллины и цефалоспорины широко применяются в медицине и не запрещены для лечения животных. Наиболее часто применяемые в ветеринарии бета-лактамы — это природные пенициллин G (бензилпенициллин) и пенициллин V (феноксиметилпенициллин), а также полусинтетические пенициллины — ампициллин, амоксициллин и клоксациллин. Однако их применение ограничено невысокой эффективностью из-за ингибирования  $\beta$ -лактамазами пенициллиназами — ферментами, инактивирующими эти антибиотики.

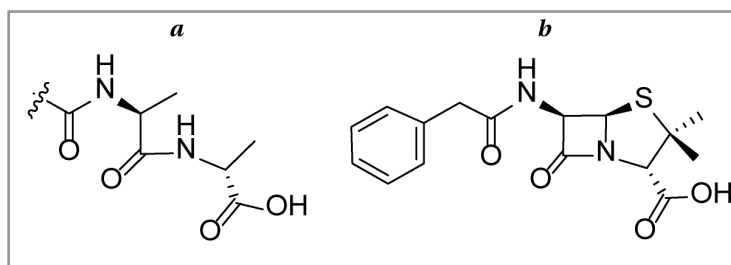
Цефалоспорины в отличие от пенициллинов более устойчивы к действию  $\beta$ -лактамаз пени-

циллиназ. Из полусинтетических цефалоспоринов в ветеринарии широко используется цефалоспориин 1-го поколения цефалоний (1), а также 4-го поколения — цефхином (2) и цефтиофур (3) (рис. 2) [31]. Цефалоспорины 1-го поколения обладают преимущественной активностью в отношении грамположительных бактерий — стафилококков и стрептококков, но не энтерококков. Цефалоспорины 4-го поколения ещё более активны, чем цефалоспорины 1-го поколения против грамположительных кокков (но не MRSA и энтерококков), а также грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae и против *P. aeruginosa*. Многие другие бета-лактамы, включая монобактамы и карбапенемы, запрещены для использования в ветеринарии.

Наиболее распространённой формой резистентности бактерий к  $\beta$ -лактамам является способность бактерий превращать антибиотик в неактивную форму с помощью ферментов плазмидных и/или хромосомных бета-лактамаз (BL), которые расщепляют бета-лактамное кольцо. Поэтому часто бета-лактамы используются в сочетании с ингибиторами  $\beta$ -лактамаз, например, с клавулановой кислотой (4) (см. рис. 2). Она конкурентно связывается с мишенью и защищают антибиотик от инактивации, увеличивая эффективность антибиотика.

**Цефалоний (Cefalonium) (1)** (см. рис. 2) по сравнению с пенициллинами имеет более широкий спектр активности против грамположительных бактерий. Все цефалоспорины относительно стабильны к стафилококковой  $\beta$ -лактамазе, но устойчивость среди грамотрицательных бактерий носит неоднозначный характер. Продаётся цефалоний в виде суспензии под названием Cefpravin. Антибиотик широко используется для лечения мастита крупного рогатого скота, вызванного грамположительными бактериями [32].

**Цефхином (Cefquinome) (2)** (см. рис. 2) — используется в виде сульфата для инъекций. Препарат рекомендован для лечения инфекций у коров и свиней. Показан при мастите, респираторных заболеваниях крупного рогатого скота, транспортной лихорадке, зооэпидемических и других инфекциях [33]. Препарат продемонстрировал



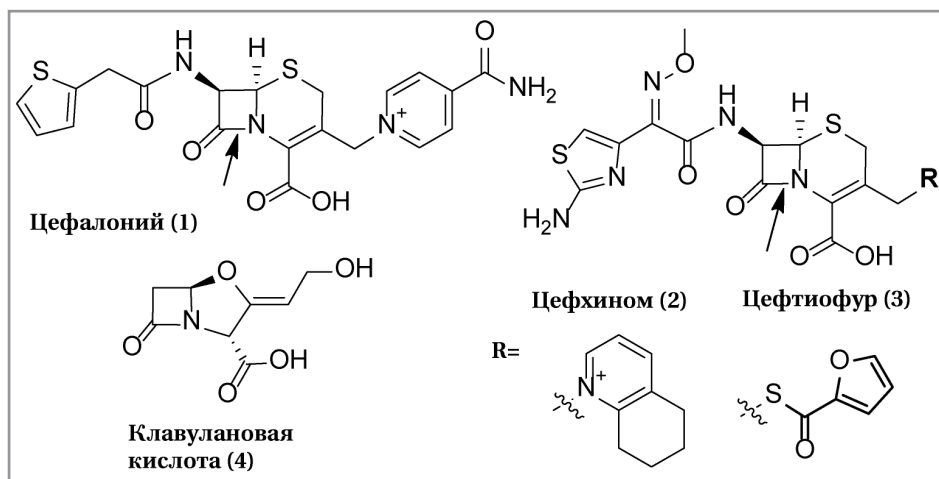
**Рис. 1.** Структура конечного фрагмента — D-Ala-D-Ala растущего пептидогликана (PG) (a); структура бензилпенициллина (пенициллина G) (b).

**Fig. 1.** Structure of the terminal fragment — D-Ala-D-Ala of the growing peptide glycan (PG). (a) Structure of benzylpenicillin (penicillin G) (b).

высокую активность в опытах на животных с искусственно вызванным маститом грамположительными бактериями *Streptococcus agalactiae* и *S. aureus* и грамотрицательными бактериями *Haemophilus parasuis* и *Klebsiella pneumoniae*.

**Цефтиофур (Ceftiofur) (3)** (см. рис. 2) широко используется в ветеринарии во всём мире для лечения респираторных заболеваний у овец, коз, крупного рогатого скота и лошадей. Структура цефтиофура представляет собой цвиттер-ион, поэтому она может существовать в разных водорастворимых солевых формах. Компания Upjohn в 1988 г. представила цефтиофур в ветеринарии как натриевую соль под названием Naxcel, а гидрохлоридная соль цефтиофура, как более стабильная форма, имеет название Excenel [34].

Широкий спектр антибактериальной активности цефхинома (2) и цефтиофура (3) обусловлена устойчивостью к инактивации  $\beta$ -лактамаз, вырабатываемых некоторыми бактериями, бла-



**Рис. 2.** Структуры бета-лактамов цефалония (1), цефхинома (2), цефтиофура (3) и клавулановой кислоты (4).

**Примечание.** Стрелкой показано место расщепления кольца  $\beta$ -лактамазами.

**Fig. 2.** Structures of  $\beta$ -lactams: cephalonium (1), cefquinome (2), ceftiofur (3), and clavulanic acid (4).

**Note.** The arrow shows the point of ring cleavage by  $\beta$ -lactamases.

годаря наличию объёмной иминометоксигруппы в боковом заместителе.

Однако имеются данные о резистентности ряда штаммов *E. coli* к цефтиофуру [35]. Также установлена низкая эффективность этого антибиотика при лечении сальмонеллёзных инфекций у бройлеров, которое способствует отбору штаммов *Salmonella heidelberg*, устойчивых к цефалоспорином [36].

Цефалоспорины обычно оказывают бактерицидное действие в концентрациях выше минимальной подавляющей концентрации (МПК), а бактерицидный синергизм обычно проявляется с аминогликозидами и рядом других агентов.

Следует отметить, что применение цефалоспориновых антибиотиков 4-го поколения в качестве препарата первого выбора не всегда оправдано. Например, было установлено, что МПК цефалоспорином 4-го поколения цефхинома (3) в отношении стафилококков оказалась выше, чем МПК тестируемых цефалоспоринов первого поколения, в частности цефалония (1) (см. рис. 2). Поэтому авторы не рекомендуют использовать 3 в качестве препарата первого выбора для терапии субклинического мастита крупного рогатого скота, вызванного стафилококками [37].

**4.1.2. Гликопептиды. Авопарцин** (Avoparcin, LL-AV 290) (5) (рис. 3) был выделен из культуры *Streptomyces candidus* NRRL3218 и относится к группе полициклических макролидов группы ванкомицина-тейкопланина [38].

Антибиотик высокоактивен в отношении грамположительных бактерий, включая стрептококки, метициллинорезистентные стафилококки и клостридии. Механизм действия антибиотика заключается в ингибировании биосинтеза клеточной стенки бактерий путём образования прочного комплекса с концевым пептидом — D-Ala-D-Ala растущего пептидогликана. Антибиотик является смесью двух близкородственных соединений ( $\alpha$ - и  $\beta$ -авопарцинов), различающихся наличием атома хлора в структуре (см. рис. 3). Он (5) эффективен против широкого спектра грамположительных бактерий [39]. Этот антибиотик широко применялся в сельском хозяйстве многих стран в качестве кормовой добавки для стимулирования роста цыплят, индюшек, свиней и крупного рогатого скота, а также для профилактики энтерита у домашней птицы. Однако использование авопарцина в сельском хозяйстве явилось причиной появления и распространённости устойчивых к ванкоми-

цину штаммов энтерококков [40, 41]. В 1999 г. Европейский Союз (ЕС), а в 2000 г. Австралия, Китай и Тайвань запретили применение авопарцина в сельском хозяйстве. В РФ авопарцин также не применяется. Было констатировано, что после запрета наблюдалось снижение контаминации мясных продуктов ванкомицинорезистентными энтерококками в птицеводстве (от 18,8 до 9,6%), но не в продуктах из свинины (с 9,7 до 6,9%) [42]. Однако запрет на противомикробные препараты, способствующие росту, привёл к увеличению всплеск некротического энтерита и последующему увеличению использования терапевтических противомикробных препаратов [43]. В настоящее время авопарцин с добавлением абамектина под названием Avotan® Pour-On зарегистрирован в Намибии (Reg. No. V07/18.1.2/376 NS0) к использованию для борьбы с аскаридами и синими клещами у крупного рогатого скота [44].

## 4.2. Ингибиторы функции клеточных мембран

**4.2.1. Полипептиды.** Полипептиды образуют прочный межмолекулярный комплекс с липидами, нарушая целостность мембранных структур микроорганизмов и приводя их к гибели. Энрамицин, бацитрацин, эндурацидины А и В являются препаратами двойного назначения, в то время полимиксины Е (колистин) (6) и М (7) (рис. 4) в основном используются в АПК как лечебно-профилактическое средство и кормовая добавка. Близкий им по структуре полимиксин В разрешён в составе противомикробной мази и глазных капель.

**Колистин** (Полимиксин Е, Colistin, Polymyxin) (6) (см. рис. 4) относится к группе поли-

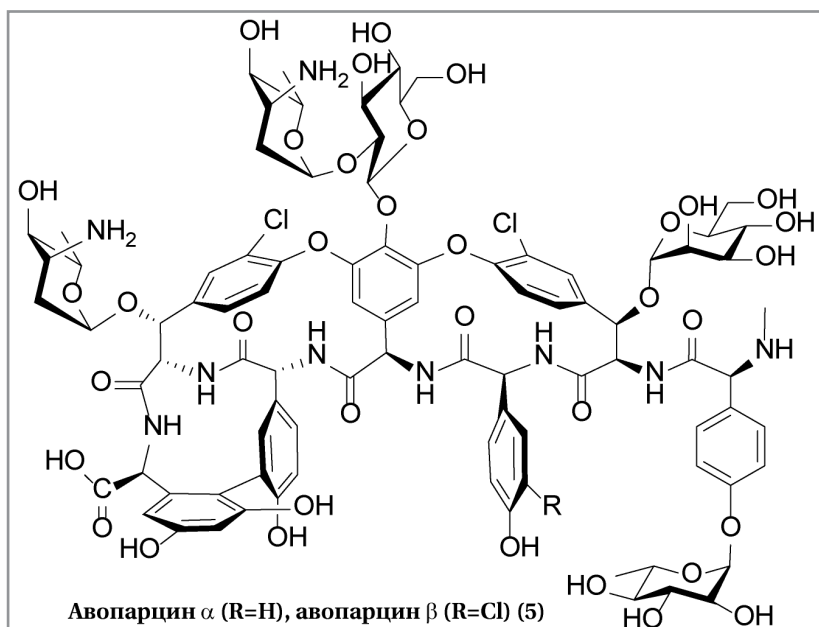


Рис. 3. Структура авопарцина (5).

Fig. 3. Structure of avoparcin (5).



миксинов и образуется в результате нерибосомного синтеза в процессе биосинтеза бактерии *Paenibacillus polymyxa* или *Bacillus colistinus*. Антибиотик состоит из циклического пептида и фрагмента линейного пептида, ацилированного жирной кислотой. Колистин — антибиотик резерва, используемый в качестве препарата выбора при лечении инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью. К ним могут относиться такие бактерии, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* или *Acinetobacter* spp.

Препарат выпускается в ингаляционной форме, известной как колистиметат натрия, а также в форме, которая наносится на кожу или принимается внутрь, известной как сульфат колистина, для местного применения или для применения внутрь. С 2017 г. отмечено появление устойчивости некоторых штаммов бактерий к колистину [45].

Так, колистин (6) остаётся одним из немногих средств, действующих на изоляты с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), связанной с экспрессией новой металло- $\beta$ -лактамазы NDM-1, относящихся к «супербактериям» (superbugs) [46], поэтому в редких случаях его применяют и в медицине [47].

Полимиксин М (7) (polymyxin M) (см. рис. 4) продуцируется культурами *Paenibacillus kobensis* и *Bacillus polymyxa* [48]. Полимиксин М (7) используется для приёма внутрь для лечения кишечных и наружных инфекций животных. Выводится 7 из организма в неизменённом виде преимущественно с мочой.

Поскольку полимиксины способны также частично нарушать мембранные структуры теплокровных животных они достаточно токсичны для человека и теплокровных животных ввиду проявления нефро- и нейротоксичности.

Механизм резистентности заключается в изменении структуры мишени липида А [49]. Не исключено, что такое изменение мишени может быть вызвано передачей мутированной наследственности бактерии от других микроорганизмов. Например, в 2015 г. было сообщение об обнаружении в штамме продуцента антибиотика плазмиды, содержащей ген устойчивости *mcr-1* к колистину (6) [50].

Во многих странах, включая ЕС, Китай, Индию, колистин (6) запрещён к применению в ка-

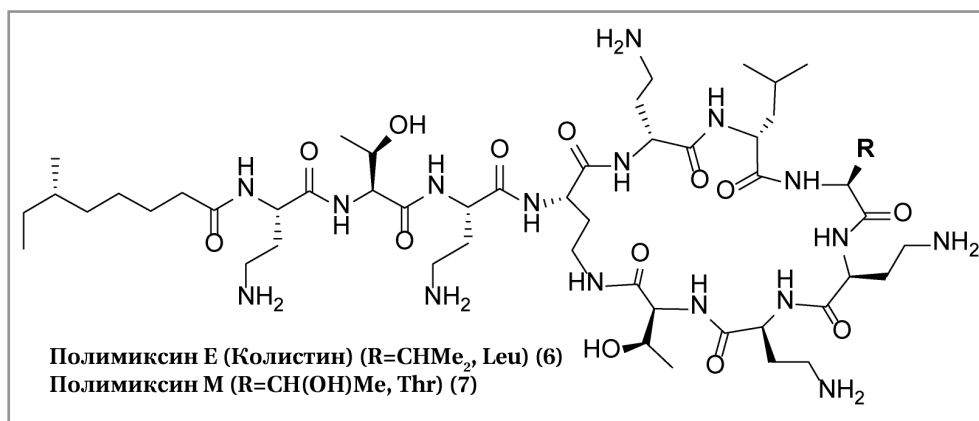


Рис. 4. Структуры полимиксина Е (колистина) (6) и полимиксина М (7).

Fig. 4. Structures of polymyxin E (colistin) (6) and polymyxin M (7).

честве кормовой добавки, но использование его в ветеринарии в качестве лечебного препарата по показаниям продолжается [51]. Следует также отметить, что близкий 6 и 7 по структуре антибиотик полимиксин В в комплексе с неомицином и бацитрацином (неоспорином) разрешён к применению в составе противомикробной мази при конъюнктивите и кератите.

#### 4.3. Антибиотики, ингибирующие синтез белка

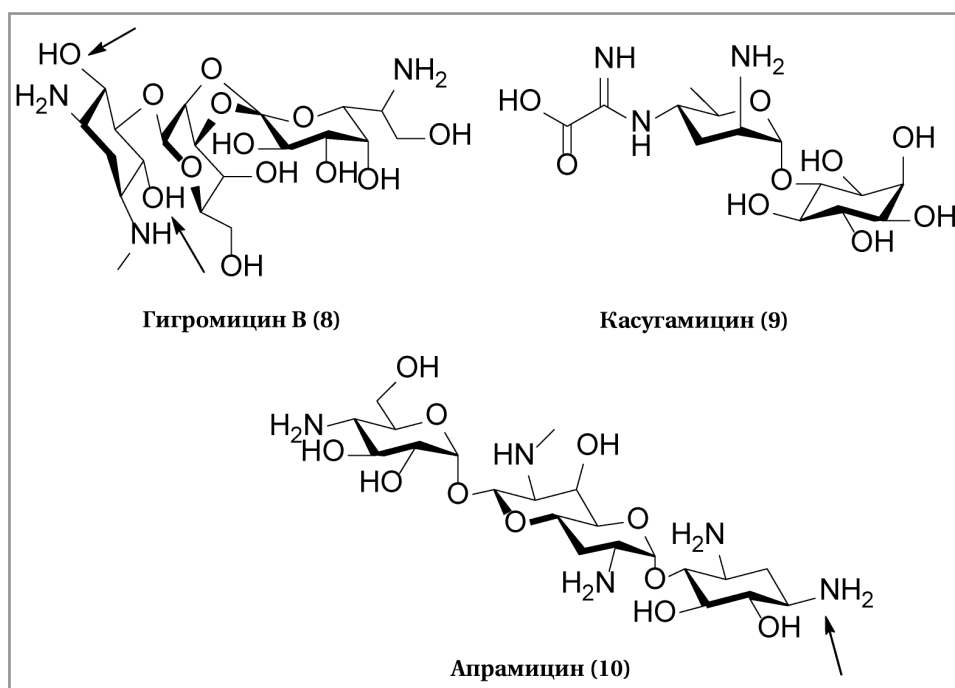
4.3.1. Аминогликозиды. После бета-лактамов наиважнейшей группой для борьбы с грамотрицательными бактериями являются антибиотики аминогликозидной группы: гентамицин, неомицин, стрептомицин, дигидрострептомицин, канамицин, спектиномицин, паромомицин, фрамицетин — препараты смешанного медицинского и сельскохозяйственного применения [52]. Аминогликозиды образуют связи с бактериальными рибосомами и нарушают биосинтез белков в клетках, вызывая разрыв потока генетической информации в клетке. Но место присоединения к рибосоме у каждого из них разное.

Аминогликозиды гигромицин В (8), касугамицин (9), апрамицин (10) (рис. 5) в настоящее время используются только в сельском хозяйстве.

Гигромицин В (Hygromycin) (см. рис. 5) (8) ингибирует синтез белка, препятствуя транслокации рибосом 70S и вызывая неправильное прочтение матриц мРНК. Антибиотик выделен из культуры лучистого гриба *Streptomyces hygroscopicus*.

Гигромицин В (8) классифицируется как псевдотрисахарид с необычным спироциклическим ортоэфирным фрагментом [53].

У гигромицина В имеется только один сайт связывания с рибосомой, он взаимодействует с h44 30S-субъединицей [54]. Антибиотик оказывает бактериостатическое действие на многие грамположительные и грамотрицательные бактерии *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *E. coli*, а также на дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* [55].



**Рис. 5.** Структура аминогликозидов гигромицина (8), касугамицина (9) и апрамицина (10).

**Примечание.** Стрелками показаны функциональные группы, подверженные модификации ферментами и вызывающие устойчивость бактерий к антибиотикам.

**Fig. 5.** Structure of aminoglycosides: hygromycin (8), kasugamycin (9), and apramycin (10).

**Note.** Arrows indicate functional groups that are subject to modification by enzymes and that cause bacterial resistance to antibiotics.

Антибиотик применяется как пероральный препарат, обладающий также выраженным антигельминтным действием при аскаридозе, трихоцефалёзе свиней, гетеракидозе кур [56]. Продаётся 8 под названием «Гигроветин», как добавка к комбикормам, которые скормливают свиньям и птице [57]. Гигромицин В (8) обладает уникальным способом ингибирования трансляции рибосомного синтеза белка, отличающегося от индуцируемого другими аминогликозидами.

Устойчивость микроорганизмов к 8 определяется аминоклитолфосфотрансферазой, которая модифицирует гигромицин В также, как и структурно родственные антибиотики аминогликозиды. Из *E. coli* была выделена плазмида, придающая устойчивость к 8 [58].

Антибиотик 8 также применяется в молекулярно-биологических исследованиях. Было установлено, что ген устойчивости, кодирующий киназу и инактивирующую 8, используется как селективный маркер для отбора трансформантов и в исследованиях растений [59].

**Касугамицин** (Kasugamycin, kasumin) (9) (см. рис. 5) был выделен из почвенного актиномицета *Streptomyces kasugaensis* в 1965 г. Антибиотик ингибирует синтез белка за счёт взаимодействия с аминоацил-тРНК, мРНК-30S и с рибосомальными комплексами мРНК-70S. Он обладает широким

спектром антимикробного действия, в основном в отношении грамотрицательных бактерий и грибов. К 9 чувствительны *Salmonella typhosa*, *Salmonella paratyphi* A, *K. pneumonia*, *Salmonella flexneri*, *Brucella melitensis*, а также бактерии рода *Pseudomonas*, в частности *P. tabaci* [60]. Особенно полезным свойством этого антибиотика является выраженное противогрибковое действие, которое используется для борьбы с болезнями риса, вызванными *Pyricularia oryzae*, а также некоторыми другими грибковыми заболеваниями сахарной свёклы, картофеля и томатов [61].

Касугамицин (9), в свою очередь, в значительной степени был заменён более современными препаратами, но остаётся важным в неко-

торых странах из-за своей низкой цены [62]. В России 9 применяется главным образом как пестицид под названием «Касумин 2Л». Обладает особой активностью по отношению к пирикулярнозу риса и пшеницы и разрушению корней овощей. Пользуется большой популярностью у фермеров [63].

Устойчивость к касугамицину сравнительно редко приобретается в результате мутаций рибосомных 16S/18S рРНК метилтрансферазами, которые метилирует соседние адениновые нуклеотиды. Эти два аденозина преобразуются в N<sup>6</sup>, N<sup>6</sup>-диметиладенозины ферментами у бактерий с помощью KsgA и, соответственно, Dim1p у дрожжей, снижая сродство антибиотика к мишени [64].

**Апрамицин** (Apramycin, Nebramycin factor 2) (10) (см. рис. 5) продуцируется актиномицетами *Streptomyces tenebrarius* и *Streptomyces cremeus* [65]. Структура апрамицина содержит необычный сахар диаминооктозу. Механизм антибактериального действия апрамицина (10) обусловлен подавлением синтеза белка микроорганизмов путём необратимого связывания с 30S-субъединицей рибосом. С 1998 г. апрамицин разрешён к применению в ветеринарии в ряде европейских стран. Антибиотик оказывает бактерицидное действие на грамотрицательные и определённые грамположительные бактерии: *E. coli*, *Bordetella* spp., *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Strep-*

*Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Proteus* spp. и некоторые виды *Mycoplasma* [66].

Антибиотик используют для лечения желудочно-кишечных и респираторных инфекционных заболеваний молодняка и взрослых животных, вызываемых преимущественно грамотрицательными микроорганизмами, чувствительными к апрамицину и устойчивыми к другим препаратам (сальмонеллёз и колибактериоз телят, овец, свиней), а также лечения мастита свиней [67]. Высокая активность апрамицина объясняется тем, что он отличается по механизму действия от остальных аминогликозидов. Для него известна только перекрёстная устойчивость для гентамицинорезистентного штамма *E. coli*, которая может быть вызвана геном N-ацетилтрансферазы (aac(3)-IV), которая ацетирует аминогруппы антибиотика [68].

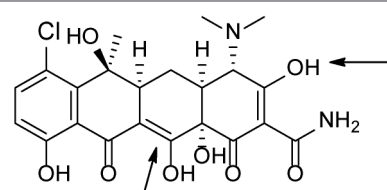
Этот антибиотик вызывает интерес с точки зрения возможности перевести его в разряд медицинских препаратов для лечения инфекций, вызванных полирезистентными грамотрицательными микроорганизмами, в том числе и устойчивыми к другим аминогликозидным антибиотикам [69]. В настоящее время апрамицин (9) проходит фазу II клинических испытаний [70].

Согласно Решению Совета Евразийской экономической комиссии от 21 января 2022 г. № 1 «О Правилах регулирования обращения ветеринарных лекарственных средств на таможенной территории Евразийского экономического союза» (Приложение № 4) апрамицин запрещён к применению для всех видов животных (в период лактации или яйценоскости) [71].

**4.3.2. Тетрациклины.** Тетрациклины относятся к антибиотикам широкого спектра действия и применяются как в медицинских целях (тетрациклин, доксициклин, окситетрациклин (террамицин), так и в ветеринарной практике. Тетрациклины являются специфическими ингибиторами как EF-Tu-промотируемого, так и не-энзиматического связывания аминоацил-тРНК с А-участком бактериальной 70S рибосомы. Тетрациклины также подавляют кодон-зависимое связывание аминоацил-тРНК с изолированной 30S субъединицей бактериальной рибосомы.

**Хлортетрациклин** (Chlortetracycline, Ауреомицин, Биомицин) (11) (рис. 6) — первый из открытых тетрациклинов, который используется в животноводстве и аквакультуре в качестве лечебно-профилактического препарата и кормовой добавки. Антибиотик (11) выделен из культуры *Streptomyces aureofaciens*, он эффективен при различных инфекциях у животных, вызванных *Mycoplasma* spp., *Chlamydia* spp., *Clostridium* spp., *Pasteurella* spp., *Ornithobacterium* *hinotraceale* и некоторыми простейшими [72].

Распространённость резистентности к природным тетрациклинам довольно высокая. Важно



**Хлортетрациклин (11)**

**Рис. 6. Структура хлортетрациклина (11).**

**Примечание.** Стрелками показаны функциональные группы, подверженные действию деструктаз.

**Fig. 6. Structure of chlortetracycline (11).**

**Note.** Arrows indicate functional groups susceptible to the action of destruktases.

учитывать, что резистентность микроорганизмов к одному препарату из группы тетрациклинов сопровождается перекрёстной устойчивостью к аналогам той же группы антибиотиков и антибиотикам других групп. У людей в европейских странах она составляет 66,9% для *E. coli* и видов *Klebsiella*, продуцирующих  $\beta$ -лактамазу расширенного спектра (ESBL) [73]. А для метициллиноустойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* обусловленных геном *mecA*, общий процент резистентности к тетрациклину составляет 63,6% [74].

Для тетрациклинов описано четыре типа резистентности, из которых наиболее важен выброс (эффлюкс) молекул антибиотика из клетки бактерии. Кроме того, антибиотики часто подвержены также действию деструктаз, в основном монооксигеназ, которые превращают антибиотик в неактивную форму, неспособную связываться с мишенью [75].

Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств» содержания тетрациклинов (включая хлортетрациклин) в переработанной пищевой продукции животного происхождения не допускается [76].

В РФ для тетрациклинов содержания в пищевых продуктах также не допускается, поэтому использование этих антибиотиков в качестве кормовых добавок запрещено, а применение в ветеринарной практике осуществляется по рецептам (из Приказа Минсельхоза РФ № 776 от 02.11.2022) [77].

**4.3.3. Макролиды.** К макролидам двойного назначения относятся 14-членные эритромицин, олеандомицин, 15-членный азитромицин и 16-членный спирамицин, и сельскохозяйственного значения — природный 16-членный тилозин (12) и его полусинтетические аналоги тилвалозин (13) (рис. 7), тилмикозин (14), тилдипирозин (15) (рис. 8), а также 15-членные полусинтетические аналоги азитромицина — азалид тулатромицин (16) и изоазалид гамитромицин (17) (рис. 9). Макролиды ингибируют

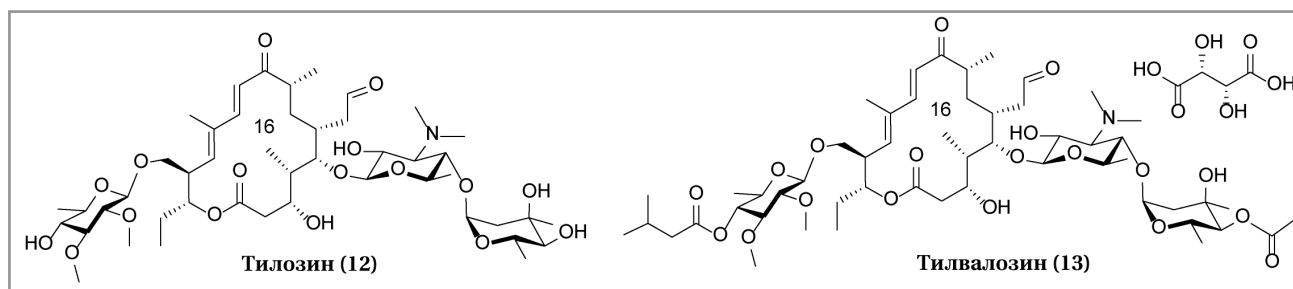


Рис. 7. Структуры тилозина (12) и тилвалозина тартрата (13).

Fig. 7. Structures of tylosin (12) and tylvalosin tartrate (13).

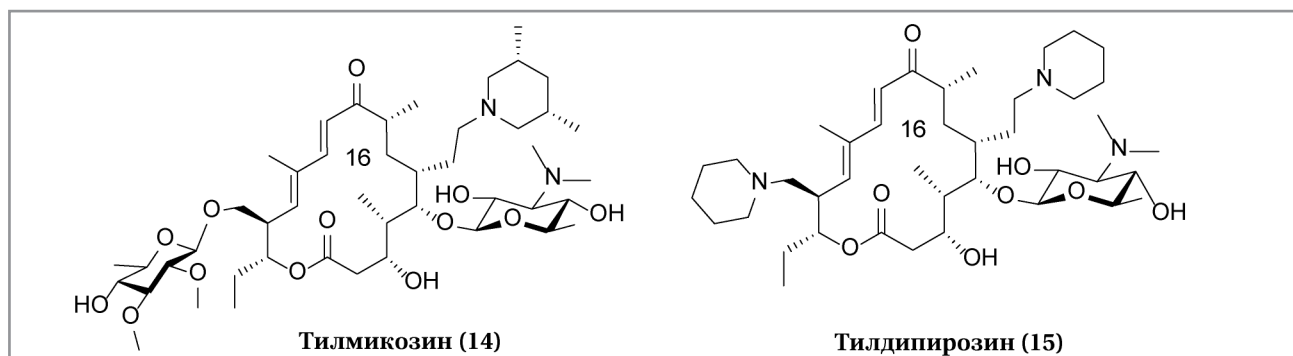


Рис. 8. Структуры тилмикозина (14) и тилдипиросина (15).

Fig. 8. Structures of tilmicosin (14) and tildipirosin (15).

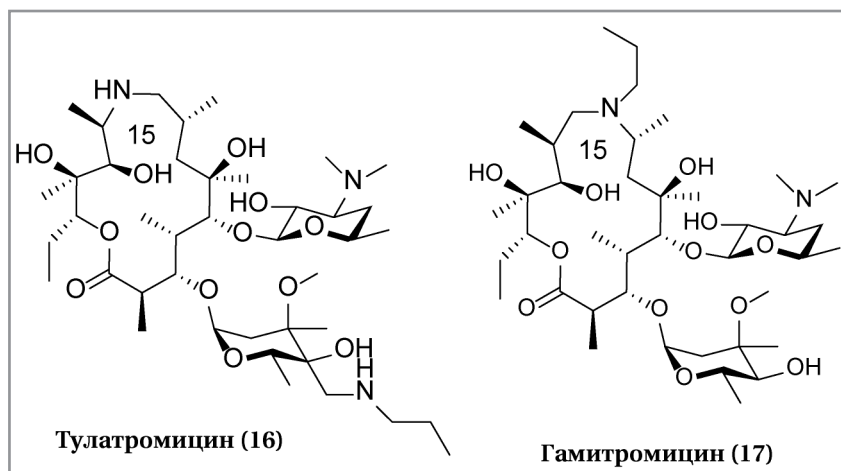


Рис. 9. Структуры тулатромицина (16) и гамитромицина (17).

Fig. 9. Structures of tulathromycin (16) and gamitromycin (17).

синтез белка путём связывания с частицей 23S РНК большой субъединицы 50S в области выходного туннеля, что приводит к его закупорке и гибели клетки [30].

Макролиды эффективны в отношении грамположительных кокков (например, *Streptococcus pneumoniae*) и некоторых грамотрицательных бактерий (например, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*), а также внутриклеточных возбудителей — микоплазм, хламидий, кампилобактерий и легионелл [78]. В отношении *E. coli* и *Salmonella* spp. они не активны. Кроме того, 16-членные макролиды,

не являются индукторами метилаз, которые ответственны за развитие резистентности у бактерий к другим макролидам. Поэтому они могут действовать на штаммы микроорганизмов, которые устойчивы к эритромицину.

**Тилозин** (Tilosin) (12) (см. рис. 7) — первый макролидный антибиотик, выделенный из культуры *Streptomyces fradiae* и одобренный для использования как ветеринарный препарат и в качестве стимулятора роста. Как биодобавка 12 одобрен в ЕС в 1970 г. [79]. Убой животных на мясо, которым давали 12, разрешается только после 8 сут после прекращения его введения. Мо-

локо от животных, получающих 12 запрещается использовать для пищевых целей до истечения 4 сут после последнего введения.

Антибиотик также применяется в аквакультуре [80]. Не рекомендуется его применение лошадям и кроликам [81]. Тилозин (12) обладает высокой антибактериальной активностью в отношении многих грамположительных бактерий, включающей стафилококки, стрептококки и коринебактерии [82]. В отношении грамотрицательных бактерий он имеет узкий спектр активности, ограниченный *Campylobacter coli* и не-



которыми спирохетами [83]. Для тилозина отмечено развитие резистентности у бактерий *Arcanobacterium pyogenes*, часто ответственных за гнойный мастит у коров [84].

**Тилвалозин** (Tylvalosin, Acetylisovaleryltylosin tartrate, AIVLOSIN, тиванин) (13) (см. рис. 7) — полусинтетический макролид последующего поколения с широким спектром активности тилозина, являясь его депо-формой. В настоящее время 13 в пероральной форме используется для борьбы с бактериальными инфекциями дыхательной и пищеварительной систем у свиней и птицы, вызванными патогенными микроорганизмами, такими как *Mycoplasma* sp., тилвалозин (13) как препарат под названием Aivlosin одобрен FDA в 2012 г. [85].

В отличие от тилозина (12), который мало эффективен при проникновении через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, тилмикозин (14) тилдипирозин (15), а также тулатромицин (16) активны в отношении *Mannheimia haemolytica* и *Pasteurella multocida*, поэтому являются двумя основными этиологическими агентами респираторных заболеваний крупного рогатого скота [86].

**Тилмикозин** (Tilmicosin) (14) (рис. 8) — полусинтетический аналог тилозина, используется как лечебный препарат. Он имеет высокую активность в отношении многих грамположительных (стрептококки, стафилококки, коринебактерии) и грамотрицательных бактерий — *Ornithobacterium* spp., *Actinobacillus* spp., *Pasteurella* spp., а также всех видов микоплазм. Водный раствор фосфата тилмикозина (14) одобрен FDA в 2005 г. в виде инъекций водного раствора для лечения респираторных заболеваний крупного рогатого скота и овец. Не рекомендуется применение тилмикозина свиньям и козам. В терапии микоплазмозов тилмикозин (14) не уступает по эффективности тилозину на примере полевых изолятов *Mycoplasma sinoviae* [87].

Однако за последние годы уже наметилась тенденция развития резистентности к 14 в отношении штаммов *Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Pasteurella multocida*, которая составила 39% и 29% от общего числа изученных изолятов [88].

Для тилмикозина (14) наряду с антибактериальной активностью было обнаружено мощное иммуномодулирующее действие, которое усиливает противовоспалительное действие [89].

**Тилдипирозин** (Tildipirosin (Zuprevo, Зупрево) (15) (см. рис. 8) — полусинтетический аналог тилозина, используемый для лечения бактериальных респираторных заболеваний у крупного рогатого скота и свиней. Препарат Zuprevo разрешён FDA к применению в ветеринарии в 2014 г. [90, 91]. Тилдипирозин (15) дополнительно доказал свою эффективность против бактерий *Histophilus somni*, *Bordetella bronchiseptica*,

*Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Haemophilus parasuis*, которые также могут быть связаны с респираторными заболеваниями животных. Из всех макролидов у 15 отмечено наибольшее время пребывания в плазме и тканях лёгких, поэтому он рекомендован в качестве лекарства первой линии для контроля респираторных заболеваний крупного рогатого скота из группы высокого риска [92]. К тилдипирозину (15) очень чувствительна бактерия *Glaesserella parasuis*, вызывающая болезнь Глессера у поросят. Однако, с другой стороны, уже есть данные о снижении чувствительности этой бактерии к 15. В частности, было установлено, что десять изолятов из 100 продемонстрировали устойчивость с МПК  $\geq 8$  и  $\leq 16$  мкг/мл [93].

**Тулатромицин** (Tulathromycin, Tulissin, Tulaven) (16) (рис. 9) 15-членный макролид азалид, полусинтетический аналог широко применяемого в медицине антибиотика азитромицина. Как инъекционный препарат 16 под торговым названием Драхсин или Tulissin рекомендован в качестве лекарств первой линии для контроля респираторных заболеваний крупного рогатого скота из группы высокого риска [94]. Одобрен препарат 16 в ЕС в 2003 г. для применения при лечении респираторных заболеваний свиней, вызванных инфекциями, обусловленными *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Haemophilus parasuis* и *Bordetella bronchiseptica* [95]. В настоящее время установлено, что применение тулатромицина достоверно связано с увеличением распространённости устойчивых к эритромицину изолятов *Enterococcus* spp. [96].

**Гамитромицин** (Gamithromycin, Zactran, ML-1709460) (17) (см. рис. 9) 15-членный макролид изоазалид — полусинтетический инъекционный препарат, одобренный FDA в 2011 г. для лечения респираторных заболеваний, вызванных бактериями у крупного рогатого скота, включая *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* и *Histophilus somni* [97].

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод о том, что все ветеринарные макролиды (12–17) являются достаточно эффективными лечебными средствами в борьбе с респираторными заболеваниями крупного рогатого скота и свиней, и особой разницы в применении полусинтетических производных последних поколений (14–17) в ветеринарной практике не выявлено [98, 99]. Однако появление резистентности практически у всех препаратов (14–17) в отношении некоторых штаммов, вызывающих инфекционные заболевания дыхательных путей у животных, делают их потенциально опасными в перспективе широкого применения макролидов в медицинской практике.

В частности, чаще всего встречается механизм посттранскрипционной модификации рибосо-

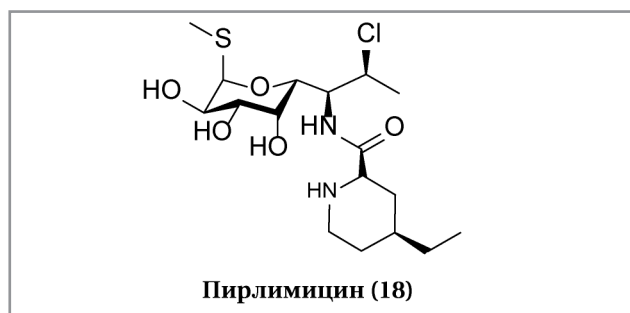
мальной рРНК 23S MLS-типа путём моно/диметилирования остатка аденина, которая опосредована Erm-метилтрансферазным ферментом (*erm*-ген). В этом случае происходит нарушение сродства антибиотика к рибосоме, и как результат макролиды не оказывают антибактериального действия. Такой тип резистентности вызывает перекрёстную устойчивость бактерий к 14- и 15-членным макролидам, хлорамфениколу и линкозамидам, но не вызывает перекрёстную устойчивость в случае 16-членных макролидов и клиндамицина. Обычно гены метилаз наследуются бактериальными клетками или передаются плазмидами [100].

**4.3.4. Линкозамиды.** Механизм противомикробной активности линкозамидов заключается в подавлении белкового синтеза на рибосоме. Они обратимо связываются с 50S субъединицей рибосомы и препятствуют образованию пептидных связей. Молекула антибиотика перекрывается с аминоконильной частью сайта связывания aa-тРНК рядом с пептидилтрансферазным центром (ПТЦ).

**Пирлимицин** (Pirlimycin, U-57930E) (18) (рис. 10) относится к группе линкозамидов и является полусинтетическим аналогом природного антибиотика линкомицина, родственному полусинтетическому клиндамицину.

Пирлимицин (18) применяется главным образом при мастите коров [101]. Линкомицин и клиндамицин применяются в медицине. Пирлимицин (18), вводимый перорально или подкожно, продемонстрировал активность, превосходящую активность клиндамицина при защите мышей, инфицированных *S. aureus*, *S. pyogenes* или *S. pneumoniae*. Пирлимицин был значительно более активен, чем клиндамицин, в отношении *Plasmodium berghei* [102].

Резистентность к линкозамидам развивается медленно, однако такие штаммы обладают аде-



**Рис. 10.** Структура пирлимицина (18).

**Fig. 10.** Structure of pirlimycin (18).

нином A2058, расположенным в спирали h69 субъединицы 50S, что приводит к формированию у бактерий МЛУ-фенотипа, влияющим на позиционирование aa-тРНК в А-сайте рибосомы (резистентность к линкозамидам, макролидам и стрептограмину В).

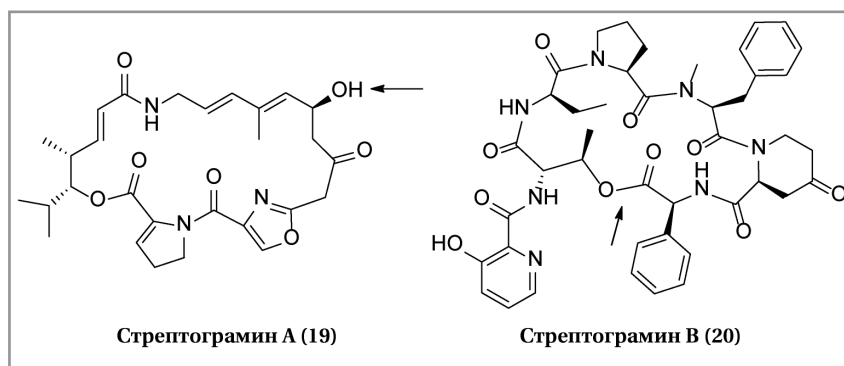
Недавно, 4 августа 2023 г. пирлимицин (18) был обнаружен в сыром молоке в одном из фермерских хозяйств Амурской области. Фермеру предписано устранить все нарушения [103].

**Вирджинеамицин** (рис. 11) относится к группе стрептограминных антибиотиков и представляет собой комбинацию вирджиниамицина М1 (стрептограмина А или пристинамицина IIА) (19) и вирджиниамицина S1 (стрептограмина В) (20) (рис. 11). Связываясь с 50S-субъединицей стрептограмины ингибируют реакции транслокации и транспептидации. Вирджинеамицин стал одним из первых антибиотиков, нашедшим практическое применение, в частности, с 1960-х гг. широко использовался (и до сих пор востребован в некоторых странах) для стимуляции роста животных [104].

Двухкомпонентный вирджинеамицин вырабатывается культурой *Streptomyces virginiae* [105].

Резистентность к стрептограминам в результате мутации встречается редко.

Тем не менее, в литературе имеются примеры обнаружения высокого процента устойчивости к этому антибиотику. Так, например, устойчивость к вирджинеамицину у штаммов *Clostridium perfringens*, выделенных от кур с клиническими признаками некротического энтерита в Корею в 2010–2016 гг. составляет 82,1% [106]. Чаще всего наблюдается механизм посттранскрипционной модификации рибосомальной рРНК 23S путём метилирования остатка аденина. В таком случае происходит нарушение аффинности антибиотика к рибосоме, и в результате стрептограмины



**Рис. 11.** Структура вирджиниамицинов М1 (19) и S1 (20) (соответственно, стрептограминов А и В).

**Примечание.** Стрелками показаны группы в структуре, подверженные модификации, приводящей к дезактивации антибиотика.

**Fig. 11.** Structure of virginiamycins M1 (19) and S1 (20) (streptogramins A and B, respectively).

**Note.** Arrows indicate groups in the structure that are subject to modification, leading to deactivation of the antibiotic.

не оказывают антибактериального действия. Этот тип устойчивости вызывает перекрёстную резистентность бактерий так же к 14- и 15-членным макролидам, хлорамфениколу и линкозамидам, но не в случае 16-членных макролидов и клиндамицина [30].

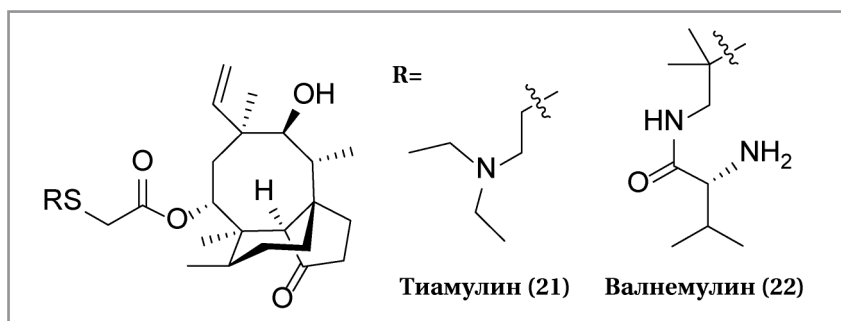
Были выделены бактериальные патогены, которые могут дезактивировать либо 1-й компонент (19), либо 2-й компонент (20) путём ферментативной модификации. Компонент 1 (Вирджиниамицин M1) (19) может подвергаться ацетилированию по единственной ОН-группе макроциклического каркаса. А компонент 2 (вирджиниамицин S1) (20) может дезактивироваться под действием вирджинеамицин-лиазы (VgB), которая расщепляет лактонное кольцо по сложноэфирной группе [107]. Ближайший аналог вирджинеамицина применяемый в клинике синергид, состоящий из родственных структур далфопристина и квинпристина, может вызывать резистентность разными путями, включая эффлюкс и метилирование 23S рРНК, а также с помощью примеров приведённых для вирджинеамицина. Синергид важен с точки зрения борьбы с устойчивыми к ванкомицину штаммами *S. aureus* (VRSA) и *Enterococcus* (VRE), распространённость которых в последние десятилетия увеличивается [108], поэтому применение вирджинеамицина в качестве кормовой добавки необходимо ограничивать.

**4.3.6. Плевромутилины.** Полусинтетические производные дитерпенового природного антибиотика плевромутилина нарушают синтез белка, специфически связываясь с 23S рРНК 50S субъединицы бактериальной рибосомы. Кристаллографические исследования показали, что эти антибиотики перекрывают сайты связывания А и Р для аа-тРНК в ПТИЦ, взаимодействия с нуклеиновыми основаниями А и Р-сайтов [30].

Плевромутилины тиамулин (21) и валнемулин (22) (рис. 12) применяются в животноводстве с 1975 г. По структуре родственны применяемым в клинике полусинтетическим антибиотикам той же группы ретапамулину и лефамулину. Антибиотики действуют на грамположительные бактерии, а также на инфекции, вызванные *Mycoplasma* spp.

**Тиамулин** (Tiamulin) (21) обнаружил свою эффективность при лечении диареи свиней, вызванной или осложнённой *Treponema hyodysenteriae*, микоплазматического артрита, а также хронических респираторных заболеваний у домашних птиц, обусловленных *Mycoplasma gallisepticum* [109].

**Валнемулин** (Valnemulin) (22) используется для профилактики или лечения диареи свиней,



**Рис. 12. Структуры плевромутилинов тиамулина (21) и валнемулина (22).**  
**Fig. 12. Structures of the pleuromutilins tiamulin (21) and valnemulin (22).**

илеита, колита и пневмонии, а также энтероколита кроликов [110]. Резистентность к плевромутилинам встречается редко. Важно отметить, что для них отмечена низкая перекрёстная устойчивость с антибиотиками, имеющими аналогичный спектр антимикробного действия в отношении многих бактерий, включая *S. pyogenes*, *S. aureus* и *Mycobacterium tuberculosis*.

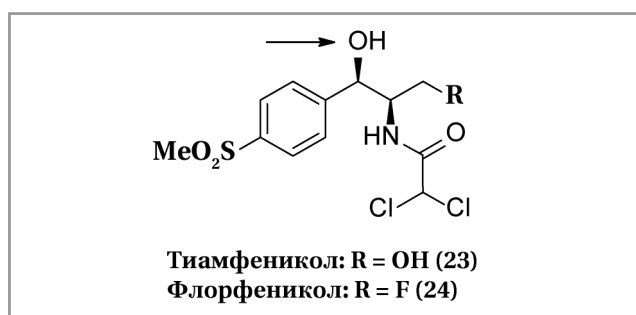
Однако недавно для тиамулина установлена перекрёстная резистентность у бактерии *Thermus thermophilus* к тилозину и эритромицину. Вероятно, это связано с мутациями в рибосомном белке L3, а также в самой 23S рРНК, что приводит к более высокой изменчивости области ПТИЦ и соответственно способности преодолевать ингибирование его тиамулином [111].

**4.3.7. Фениколы.** Фениколы (амфениколы) способны преимущественно взаимодействовать с пептидилтрансферазным центром (ПТИЦ) 50S субъединицы рибосомы, ограничивая синтез бактериального белка у грамположительных/отрицательных бактерий. Это антибиотики системного действия, активные против многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, риккетсий, спирохет, хламидий.

Тиамфеникол (23) и флорфеникол (24) (рис. 13) — синтетические аналоги природного антибиотика хлорамфеникола (левомицетина), применяемого в клинике с ограничениями из-за сравнительно высокой токсичности.

**Тиамфеникол** (Thiamphenicol) (23) имеет аналогичный хлорамфениколу спектр активности, но он от 2,5 до 5 раз более активен. Тиамфеникол (23) используется во многих странах в качестве ветеринарного антибиотика, а также в Китае, Марокко и Италии — для лечения людей. Тиамфеникол — мощный антибиотик против инвазивных пневмококков по сравнению с бета-лактамами. Активность тиамфеникола превосходит активность цефотаксима, цефтриаксона и имипенема в отношении штаммов с высоким уровнем устойчивости к пенициллину. По отношению к MRSA тиамфеникол уступает только гликопептидам, но ингибируют штаммы золотистого





**Рис. 13.** Структуры тиамфеникола (23) и флорфеникола (24).

**Примечание.** Стрелкой обозначена функциональная группа, модификация которой приводит к инактивации антибиотика ацетилтрансферазами или оксидазами.

**Fig. 13. Structures of thiamphenicol (23) and florfenicol (24).**  
**Note.** The arrow indicates the functional group, modification of which leads to inactivation of the antibiotic by acetyltransferases or oxidases.

стафилококка со средним уровнем устойчивости к ванкомицину (VISA) [112].

Флорфеникол (Florfenicol, Nuflor) (24) является фторированным синтетическим аналогом тиамфеникола и используется в ветеринарии [113]. В США флорфеникол (24) в настоящее время разрешён для лечения респираторных заболеваний крупного рогатого скота, вызванных микроорганизмами *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* и *Histophilus somni*, а также для лечения межпальцевой флегмоны крупного рогатого скота (гниль стопы, острый межпальцевой некробациллез, инфекционный пододерматит), вызванных *Fusobacterium necrophorum* и *Bacteroides melaninogenicus*. Флорфеникол (24) широко применяется в аквакультуре для лечения и увеличения продуктивности [114].

Флорфеникол (24) проявляет активность в отношении хлорамфеникол–тиамфеникол-резистентных штаммов *Shigella dysenteriae* и резистентного штамма вируса *H. influenzae* [115]. Устойчивость к фениколам у микроорганизмов развивается сравнительно медленно [116] и обусловлена в основном инактивацией антибиотика ацетилтрансферазой, ацетилирующей гидроксильные группы антибиотика. Моноацетилированные производные не способны связываться с 50S-рибосомальной субъединицей и ингибировать прокариотическую пептидилтрансферазу.

Кроме того, гидроксильная группа фениколов может окисляться оксидазами до карбоксильной [117]. Из известных на сегодняшний день генов устойчивости к хлорамфениколу лишь небольшое число также вызывает устойчивость к флорфениколу [118].

Фениколы не метаболизируются у крупного рогатого скота, домашней птицы, овец или людей, а выводятся преимущественно из организма в неизменённом виде. Важно отметить, что

остатки хлорамфеникола и тиамфеникола по-прежнему широко обнаруживаются в сточных водах, почве, отложениях, поверхностных водах и даже в некоторых импортируемых продуктах питания в концентрациях от наногаммов до миллиграммов на литр/килограмм, особенно это отмечается в Китае [119].

В качестве профилактики снижения опасности распространения резистентности среди микроорганизмов в окружающей среде предлагается использование компостирования отходов жизнедеятельности животных, выращенных с использованием фениколов. Было показано, что компостирование навоза свиней, содержащего остаточные количества 23 или 24 может снижать уровень генов антибиотикорезистентности и мобильных генетических элементов в микроорганизмах [120].

#### 4.4. Ингибиторы синтеза ДНК

Большую группу ингибиторов топоизомераз II (гираз) составляют синтетические гетероциклические производные налидиксовой кислоты, включая фторхинолоны, а также производное кумарина — новобиоцин.

**4.4.1. Фторхинолоны и кумарины.** Фторхинолоны и кумарины относятся к классу гетероциклических соединений и являются ингибиторами синтеза ДНК. Связываясь с ДНК-гиразами GyrA и, соответственно GyrB, они останавливают процесс репликации в клетке микроорганизма. Фторхинолоны являются наиболее успешным классом синтетических антибактериальных препаратов, обладающих широким спектром противомикробной активности. Эти препараты активны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая некоторые штаммы, резистентные к другим антибиотикам. Из списка наиболее часто применяемых фторхинолонов, таких как ципрофлоксацин, левофлоксацин, офлоксацин, марбофлоксацин, только препарат 2-го поколения энрофлоксацин (рис. 14) рекомендован как ветеринарный препарат для лечения лёгочных заболеваний. Выпускается под названием Байтрил.

Энрофлоксацин (Enrofloxacin) (рис. 14) проявляет высокую антибактериальную активность против различных грамположительных бактерий и грамотрицательных бактерий, особенно в отношении бактерии *Mycoplasma*. В частности, 25 активен в отношении многих штаммов *Staphylococcus* spp. и *Pseudomonas aeruginosa*, применяется в виде соли мезилата [117].

Антибиотик используется в ветеринарии только как лечебный препарат и показывает эффективность против широкого спектра патогенных бактерий, вызывающих различные инфекционные заболевания дыхательных путей, пищеварительного тракта, при сальмонеллёзе, мочеполовой инфекции, септицемии. Биодоступность при пероральном при-



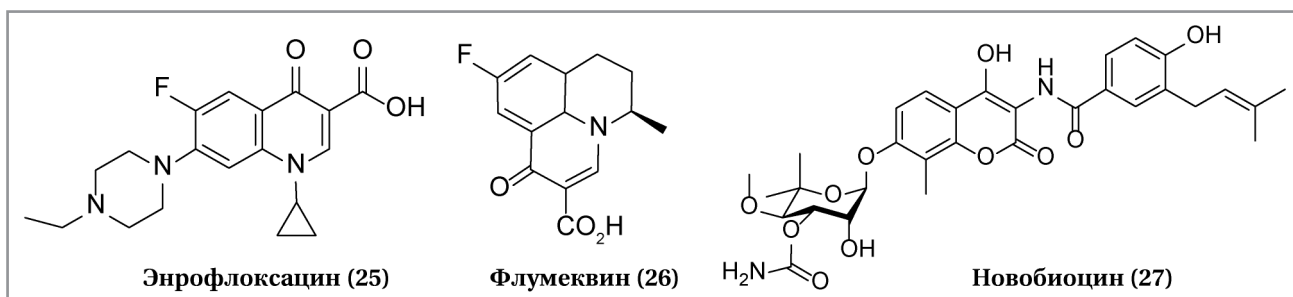


Рис. 14. Структуры энрофлоксацина (25), флумеквина (26) и новобиоцина (27).

Fig. 14. Structures of enrofloxacin (25), flumequine (26), and novobiocin (27).

менении 25 достигает порядка 80%. В организме теплокровных животных он подвергается частичному деэтированию ферментом CYP450 в активный метаболит ципрофлоксацин [121].

Развитие резистентности при использовании энрофлоксацина (25) представляет угрозу. В частности, бактерия *Pseudomonas aeruginosa*, устойчива к действию антибиотика. В сентябре 2005 г. FDA отозвало разрешение на использование Байтрила для обработки домашней птицы, поскольку была установлена устойчивость к фторхинолону штаммов бактерии *Campylobacter*, патогена человека.

Флумеквин (Flumequine, R-802, Apuron) (26) (см. рис. 14) относится к синтетическим фторхинолонам первого поколения. Он проявил активность при лечении мочеполовых инфекций, вызванных грамположительными и грамотрицательными бактериями: *E. coli*, *Proteus* spp., *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. [122, 123]. Флумеквин — один из наиболее эффективных препаратов против *Actinobacillus pleuropneumoniae* — грамотрицательного, факультативного анаэробного, респираторного патогена, обнаруженного у свиней. Впервые об этом было сообщено в 1957 г. и официально объявлено, что он является возбудителем плевропневмонии свиней [124]. Однако из-за побочных эффектов этот препарат был исключён из препаратов медицинского профиля, но нашёл применение в ветеринарной практике для лечения кишечных инфекций (всех инфекций кишечного тракта) крупного рогатого скота, свиней, кур и рыб, но лишь в ограниченном числе стран. Однако флумеквин до сих пор используется в животноводстве в Нидерландах, Бельгии, Греции, Франции, Чили.

Несмотря на большое значение для терапии человека, хинолоны до сих пор используются в Чили при разведении лосося (флумеквин) [125]. Под названием Флубактин (Flubactin) в виде 10 или 20% порошка или раствора применяется перорально (добавлением к воде или корму) для лечения всех видов животных и птиц. Также антибиотик иногда используется при инфекциях мочевыводящих путей (ветеринарных и человеческих).

Флумеквин ингибирует работу фермента ДНК-полимеразы (ДНК-гиразы). Широкое использование флумеквина привело к появлению резистентных к хинолонам изолятов *Aeromonas salmonicida*. Были обнаружены мутации *gyrA* в устойчивых к хинолонам изолятах этого штамма бактерии [126]. Устойчивость к фторхинолонам у изолятов *E. coli* от домашнего скота в Европе остаётся высокой, хотя в Европе ограничено использование фторхинолонов у животных.

Также и в других странах, например в Иране, исследования показали, что из 206 образцов фекальных изолятов бройлерных цыплят *E. coli* имели высокую резистентность к флумеквину. По данным фенотипического анализа, наиболее преобладающими мутациями были в генах ДНК-гиразы *qnrS* и *qnrB*, кодирующих устойчивость к хинолонам [127].

Новобиоцин (Novobiocin) (альбамицин, катомицин, биотексин) (27) (см. рис. 14) представляет собой природный аминокумариновый антибиотик, который вырабатывается актиномицетами *Streptomyces spheroides* и *Streptomyces niveus* [128]. Старое название у него стрептоницицин и не следует путать с сидерофорным антибиотиком альбомуцином. Преимущественно 27 используется как ветеринарный препарат. Основное применение новобиоцина (27) в ветеринарии — местное лечение мастита, вызванного *S. aureus*, у дойных коров. Препарат комбинируется с прокаин-пенициллином G при лечении инфекций, вызванных бактериями *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, особенно в терапии сухостойных коров [27].

Новобиоцин показал хорошие результаты в лечении экспериментальных животных, заражённых как чувствительными, так и высокорезистентными пневмококками [129].

Бактерии *Staphylococcus xylosus* и *Staphylococcus sciuri*, выделенные от животных, устойчивы к новобиоцину. Многие виды микоплазм умеренно чувствительны.

Хромосомная резистентность довольно легко развивается *in vitro* и обнаруживалась во время лечения инфекций, вызванных *S. aureus* [130].



и 29 продолжают активно использовать в других странах, например, карбадокс в США, олаквиндокс в Австралии и Китае [135].

Карбадокс (Carbadox) (28) десятилетиями эффективно использовался большинством производителей свинины для поддержания здоровья животных при соблюдении 42-дневного периода отмены. По мнению Национального совета производителей свинины США (NPPC) [136], 42-дневный период отмены, вероятно, будет продлён до 60 дней или более, что обеспечит дополнительную защиту от остатков. FDA безуспешно пытается отменить распространённый препарат, используемый в свиноводстве, ссылаясь на риск развития рака у человека [137].

В РФ Приказом Минсельхоза России от 18.11.2021 N 771 в РФ вводится запрет на лечение препаратами карбадокс (28), олаквиндокс (29) и меквиндокс (30) [138].

Несмотря на запрет применения в Республике Беларусь, зарегистрированы лекарственные средства для животных, содержащие 28 и 29, поэтому остаточные количества этих препаратов и их токсичные метаболиты регистрируются мониторингом ВГНКИ в пробах ряда хозяйств РФ и РБ [139].

## 5. Альтернативные методы борьбы с антибиотикорезистентностью в АПК

В настоящее время предлагаются различные варианты стратегии преодоления устойчивости к антибиотикам, основанные на альтернативных подходах, некоторые из которых перечислены ниже.

Возможно использование генетически модифицированных бактерий, которые могут служить средством уничтожения патогенных бактерий. Так, модифицированная *E. coli* способна секретировать антимикробные пептиды в ответ на молекулы quorum-sensing, выделяемые *P. aeruginosa* [140]. Такие антимикробные пептиды способны разрушать биоплёнки, образованные *P. aeruginosa*, что позволяет предположить, что для борьбы с важными патогенами могут быть специально разработаны «бактерии-хищники».

Антимикробные пептиды, которые синтезируются на рибосоме и выступают ключевыми молекулярными факторами врождённого иммунитета животных, растений и грибов, а также выполняют защитную и коммуникативную функцию у бактерий, показали потенциал на уничтожение болезнетворных грибков и бактерий растений. Утверждается, что совместное применение антимикробных пептидов с традиционными антибиотиками не только усиливает общий эффект контроля, но и замедляет эволюцию устойчивости возбудителя к традиционным антибиотикам [141].

Перспективным направлением может быть поиск новых соединений, так называемых потенциаторов, восстанавливающих антибактериальную активность клинически важных антибиотиков, которые утратили эффективность вследствие антибиотикорезистентности. Типичным примером может служить клавулановая кислота для бета-лактамов. Удачным примером являются изофлавоны, выделенные из *Lupinus argenteus*, которые усиливают активность природного растительного антибиотика берберина и синтетического фторхинолинового антибиотика норфлоксацина. Изофлавоны увеличивают поглощение берберина клетками *S. aureus*, что указывает на то, что они могут ингибировать механизм МЛУ [142]. Таким образом *L. argenteus* содержит слабое антибактериальное средство, а также ингибиторы полирезистентного эффлюксного белка, которые повышают его эффективность.

Приходится констатировать, что предложенные методы в настоящее время находятся на стадии разработки и далеки от широкого практического применения.

Однако в настоящее время большую подмогу в ряде случаев в решении проблемы антибиотикорезистентности в АПК могут служить методы фаготерапии, вакцинации и иммунизации, которые применяются во всём мире и в РФ.

Бактериофаги действуют за счёт выработки лизисных ферментов, которые разрушают клетки бактерий. Ветеринарная фаготерапия осуществляется в комплексе с другими лечебными средствами, в том числе и с антибиотиками. Метод лечения и профилактики бактериофагами используется при сальмонеллёзах животных, колибактериозе телят и поросят, а также при стафилококковом мастите коров [143].

Однако, как самостоятельный вид лечения вирусными фагами имеет ограничения вследствие узкой специфичности и сложностей при поддержании стабильности антибактериальных свойств. Кроме того, образование антител против фагов может стать препятствием для успеха фаготерапии, особенно после повторного введения, поэтому часто используется коктейль из нескольких бактериофагов. Тем не менее, спрос на бактериофаговые препараты в РФ, особенно для наружного применения, за последние годы увеличивается [144].

Вакцины потенциально являются основным средством ограничения возникающей антибиотикорезистентности бактерий и имеют весомый потенциал для снижения использования антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве.

Иммунотерапия широко не применяется, нередко используется у непродуктивных животных — кошек и собак и ограниченно в сельскохозяйственной практике у лошадей [145].

Уже имеется немало примеров успешного применения вакцин для защиты сельскохозяйственных животных от бактериальных инфекций. Испытание вакцины против птичьего колибактериоза на цыплятах-бройлерах выявило значительные различия в потреблении антибиотиков между вакцинированным и контрольным стадами. Вакцинация против диареи у свиней (илеита), вызванной *Lawsonia intracellularis*, снизила потребление окситетрациклина при этом заболевании почти на 80%. В другом исследовании применение вакцины в стадах свиней, инфицированных *Actinobacillus pleuropneumonia* привела к значительному снижению в потреблении антибиотиков по сравнению с невакцинированными стадами [146].

Вакцинация и иммунизация имеют главным образом профилактическое значение. Кроме того, многие существующие вакцины и иммунные препараты применимы только к ограниченному числу инфекционных заболеваний животных и имеют ряд недостатков в отношении безопасности, эффективности и/или удобства использования. Это обстоятельство существенно ограничивает способность альтернативных методов заменить использование антибиотиков в случае тяжёлых инфекционных заболеваний животных.

Соотношение методов лечения инфекционных заболеваний скота разными методами представлен в виде рис. 16 [145]. Внешняя часть круга представляет все инфекционные заболевания у домашнего скота. Большая часть из них (а именно бактериальные инфекции) можно контролировать с помощью антибиотиков (большой кружок). Некоторые из них также могут контролироваться альтернативными методами, такими как вакцинация и невакцинные иммунные методы (малые пунктирные кружки).

## Заключение

Как приостановить распространение резистентности?

Что предпринимается для этого и какие альтернативы могут заменить если не полностью, то хотя бы частично применение антибиотиков в частности с АПК?

Особо важную роль можно достигнуть управлением антибиотиками. С этой целью необходимо определить группы антибиотиков, применяемых в сельскохозяйственной практике. Антибиотики делятся на препараты, используемые: 1) в медицине и ветеринарии по показаниям (т. е. двойного назначения), 2) в ветеринарии как специально рекомендованные для лечения животных и 3) в качестве кормовых добавок.

Предлагается несколько вариантов снижения рисков антибиотикорезистентности в АПК.

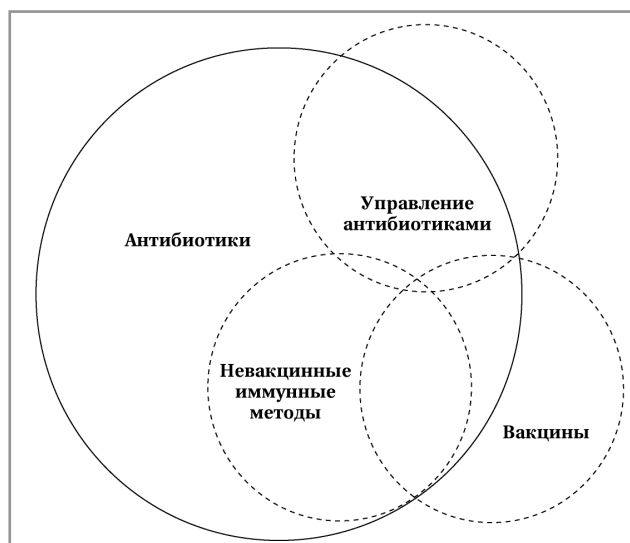


Рис. 16. Средства для борьбы с инфекционными болезнями животноводства.

Fig. 16. Means for combating infectious diseases of livestock.

Во-первых, ужесточить контроль за соблюдением инструкций по применению используемых в медицине лечебных препаратов строго по показаниям, не допуская огульного назначения антибиотиков широкого профиля.

Во-вторых, рекомендовано в первую очередь использовать антибиотики, специально предназначенные для животных, несмотря на то, что они имеют с медицинскими препаратами одинаковые механизмы действия, а следовательно и одинаковые механизмы резистентности.

В-третьих, предлагается не применять в качестве стимуляторов роста антибиотики тех классов, которые имеют двойное назначение или специально предназначенные для лечения животных, а довольствоваться только той группой антибиотиков, которые имеют иные механизмы действия (например, ортосомидины авиламицин А и эвернимидин, ионофоры салиномицин, нарасин и моненсин, никкомицины и др.).

Использование таких «нейтральных» антибиотиков по крайней мере на данном этапе считается относительно безопасным. Однако и это решение проблемы антибиотикорезистентности не бесспорно, поскольку и к этим «нейтральным» антибиотикам со временем появляется устойчивость, обусловленная генами, ответственными за свойства (например, кодирующими эффлюкс), общими для многих микроорганизмов, в том числе и почвенных. Такие гены неизбежно со временем путём горизонтального переноса попадут и к болезнетворным бактериям, и безопасность применения «нейтральных» антибиотиков — это только вопрос времени.

Тем не менее за последние несколько лет достигнут значительный прогресс в улучшении



управления использованием антибиотиков в ветеринарии посредством регулирующего законодательства как в США, так и в Европейском Союзе, в том числе внедрение руководящих документов 209 и 213 FDA (США). В статье [147] даются разъяснения по поводу директивных документов, направленных на снижение рисков развития резистентности в США и ЕС.

В частности, в США запретили безрецептурную продажу фермерам важных с медицинской точки зрения противомикробных препаратов для человека. Также согласно новым правилам FDA, вступивших в силу 1 января 2017 г., запрещено использование антибиотиков в качестве кормовых добавок [148].

В странах ЕС на ряд антибиотиков наложены запреты на немедицинское применение, например, на нитрофураны, хлорамфеникол, метронидазол, авопарцин (Регламент комиссии по фармакологически активным веществам и их классификации относительно максимальных пределов остатков в пищевых продуктах животного происхождения. EU № 37/2010 от 22 декабря 2009 г.) [149].

Кроме того, в ЕС согласно постановлению 2019/6 антибиотики могут использоваться для профилактики только паразитарных и иммунных заболеваний, но их следует ограничивать отдельными или небольшими группами животных, у которых риск заболевания считается высоким. А постановление 2019/4 ЕС не позволяет использовать медицинские антибиотики как корм для профилактического применения. Закон ЕС об использовании медицинских антибиотиков в качестве ветеринарных лекарственных средств, продуктов и в лечебных кормах вступил в силу 28 января 2022 г. [147].

Важно отметить, что в Китае, Индии, в ряде стран Британского Содружества, в Азии и других странах Африки и Южной Америки осуществляются свои подходы к этой насущной проблеме и регулируются соответствующими законами, которые достаточно лояльны к использованию антибиотиков в сельском хозяйстве.

В РФ применение антибиотиков в ветеринарии по возможности ограничивается.

Проводится работа по снижению рисков контаминации антибиотиками пищевых продуктов и уменьшению вреда от применения антибиотиков в сельском хозяйстве. Выпущен приказ № 776 Минсельхоза от 02.11.2022 [16], согласно которому ветеринару на лечение животных требуется выписка рецепта на все препараты, содержащие антибиотики, включая специально предназначенные для животных [150].

Кроме того, в РФ недавно был принят закон, согласно которому запрещается отпускать и добавлять в корма животным противомикробные препараты (спектиномицин, новобиоцин, флорфеникол, бензилпенициллин и его соли, клотаксациллин и ряд других) без рецепта ветврача или специального требования (Федеральный закон от 30.12.2021 N 463-ФЗ) [151].

Такое требование по закону может выдать ветеринарная организация или сельхозпредприятие, где разводят животных. Кроме того, поправки запрещают приготовление кормов с противомикробными препаратами производителям без лицензии на фармацевтическую деятельность. Аналогичную лицензию по закону необходимо получать животноводом, которые применяют антибиотики как кормовую добавку непосредственно на ферме. Однако по сообщениям портала «Ветеринария и жизнь» Госдума отложила на 2 года (с 01.03.2023 г. по 01.03.2025 г.) вступление в силу нового порядка контроля за назначением и применением ветеринарных препаратов в животноводстве [152].

Разработка мероприятий по управлению рисками на пищевых предприятиях является одним из важных элементов обеспечения безопасности продукции, которую контролируют и государство, и партнёры [153]. В результате можно сделать вывод о том, что применение антибиотиков, рассмотренных в этом обзоре, принципиально не решает проблему антибиотикорезистентности в АПК. Однако в ближайшем будущем наибольшую пользу должно принести внедрение всё более ужесточающих мер по ограничению использования антибиотиков (хотя бы в качестве кормовых добавок), а также совершенствование альтернативных методов использования антибиотиков.

### **Дополнительная информация**

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи. Данное исследование было проведено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Работа выполнена без привлечения внешнего финансирования.

**Участие авторов.** Олсуфьева Е. Н. — анализ и интерпретация литературы, редактирование, финальное утверждение рукописи. Янковская В. С. — анализ и интерпретация литературы, написание текста.

## Литература/References

- Kirchhelle C. Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). Palgrave Commun. 2018; 4: 96–96. doi: doi.org/10.1057/s41599-018-0152-2.
- Castanon J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. Poultry Science. 2007; 86 (11): 2466–2471. doi: doi.org/10.3382/ps.2007-00249.
- Campbell W. C. History of the discovery of sulfaquinoxaline as a coccidiostat. J Parasitol. 2008; 94 (4): 934–945. doi: 10.1645/GE-1413.1.
- Симджи Ш., Дул Р., Козлов Р. С. Антимикробные препараты. Рациональное применение антибиотиков в животноводстве и ветеринарии. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016; 18 (3): 186–190. [Simdzhii Sh., Dul R., Kozlov R. S. Antimikrobnnye preparaty. Ratsional'noe primeneniye antibiotikov v zhivotnovodstve i veterinarii. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2016; 18 (3): 186–190. (in Russian)]
- McManus P. S., Stockwell V. O., Sundin G. W., Jones A. L. Antibiotic use in plant agriculture. Annu Rev Phytopathol. 2002; 40: 443–465. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120301.093927.
- Кузнецова Н. М., Валишев А. А. Антибиотики и консерванты, используемые в мясоперерабатывающей промышленности. Мясная индустрия. 2018; 2: 20–21. [Kuznetsova N. M., Valishev A. A. Antibiotiki i konservanty, ispol'zuemye v myasoperebatyvuyshej promyshlennosti. Myasnaya industriya. 2018; 2: 20–21. (in Russian)]
- Экономика, 19:00, 14 марта 2016. <https://www.interfax.ru/business/498421>. [Ekonomika, 19:00, 14 марта 2016. <https://www.interfax.ru/business/498421> (in Russian)]
- Patel S. J., Wellington M., Shah R. M., Ferreira M. J. Antibiotic Stewardship in Food-producing Animals: Challenges, Progress, and Opportunities. Clinical Therapeutics. 2020; 42 (9): 1649–1658. doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.07.004.
- Van Boeckel T. P., Brower C., Gilbert M., Grenfell B. T., Levin S. A., Robinson T. P., Teillant A., Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015; 112 (18): 5649–5654. doi: 10.1073/pnas.1503141112.
- WHO: Antimicrobial resistance 21 November 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- O'Neill J. Review on AMR. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations. December 2014. <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v/items>.
- Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discover, and development of new antibiotics. World Health Organization, 2017. <https://remed.org/wp-content/uploads/2017/03/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-2017.pdf>.
- Gottlieb D. The production and role of antibiotics in soil. J Antibiot (Tokyo). 1976; 29 (10): 987–1000. doi: 10.7164/antibiotics.29.987.
- Morgan N. K. Managing gut health without reliance on antimicrobials in poultry. Anim Prod. Sci. 2017; 57: 2270–2279. doi: 10.1071/AN17288.
- Алексеев Н. Р., Шелепов И. А. Антибиотики и корма. Современный фермер. 2013; 4: 48–51. [Aleksseev N. R., Shelepov I. A. Antibiotiki i Korma. Sovremennyy Fermer. 2013; 4: 48–51. (in Russian)]
- Олсуфьева Е. Н., В. С. Янковская, Н. И. Дунченко. Обзор рисков контаминации антибиотиками молочной продукции. Антибиотики и химиотерапия. 2022; 67 (7–8): 82–96. doi: doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-82-96. [Olsufyeva E. N., Yankovskaya V. S., Dunchenko N. I. Overview of the risks of antibiotic contamination of dairy products. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2022; 67: 7–8: 82–96. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-82-96>. (in Russian)]
- Маневич Б. В., Кузина Ж. И., Харитонов Е. Б., Орлова Т. В. Борьба с биоуплёнками на молочных предприятиях. Молочная Промышленность, 2018; 12: 12–14.
- Купцова С., Дунченко Н., Янковская В., Волошина Е., Гинзбург, Михайлова К. Анализ рисков в процессе производства рыбные консервы. Веб-конференция E3S 390, 02031 (2023) Агротехника-VIII 2023. Красноярск, 29–31 марта 2023. 2023; 02031. doi: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202339002031>. [Kuptsova S., Dunchenko N., Yankovskaya V., Ginzburg M., Mikhailova K. Risk analysis within the production process of fish preserves. E3S Web of Conferences: VIII International Conference on Advanced Agritechologies, Environmental Engineering and Sustainable Development (AGRI-TECH-VIII 2023), Krasnoyarsk, 29–31 марта 2023 года. EDP Sciences: EDP Sciences, 2023; 02031. doi: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202339002031>. (in Russian)]
- Jangir P. K., Ogunlana L., Szili P., Czikkely M., Shaw L. P., Stevens E. J., Yu Y., Yang Q., Wang Y., Pál C., Walsh T. R., MacLean C. R. The evolution of colistin resistance increases bacterial resistance to host antimicrobial peptides and virulence. 2023; 12: e84395. doi: 10.7554/eLife.84395.
- Lo'pez D., Vlamakis H., Kolter R. Biofilms. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010; 2: 1–11. doi: 10.1101/cshperspect.a000398.
- Parrino B., Schillaci D., Carnevale I., Giovannetti E., Diana P., Cirrincione G., Cascioferro S. Synthetic small molecules as anti-biofilm agents in the struggle against antibiotic resistance. Eur J Med Chem. 2019; 161: 154178. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.036.
- Дунченко Н. И., Шетинин М. П., Янковская В. С. Управление качеством продукции. Пищевая промышленность. СПб.: Лань, 2018; 244. [Dunchenko N. I., Shchetinin M. P., Yankovskaya V. S. Upravleniye kachestvom produktsii. Pishchevaya promyshlennost'. SPb.: Lan, 2018; 244. (in Russian)]
- Шекотихин А. Е., Олсуфьева Е. Н., Янковская В. С. Антибиотики и родственные соединения. Научное издание. М.: Лаборатория знаний, 2022; 511. ISBN 978-5-93208-247-8 [Shchekotikhin A. E., Olsufyeva E. N., Yankovskaya V. S. Antibiotiki i rodstvvennye soedineniya. Nauchnoe izdanie. Moscow: Laboratoriya Znaniy, 2022; 511. ISBN 978-5-93208-247-8. (in Russian)]
- O'Neill J. Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste. The review on antimicrobial resistance. December 2015. <https://wellcomecollection.org/works/x88ast2u>.
- Sarkar D. J., Mukherjee I., Shakil N. A., Rana V. S., Kaushik P., Debnath S. Antibiotics in Agriculture: Use and Impact. Ind. J. Ethnophytopharmaceuticals (IJEPP). 2018; 4 (1): 4–19.
- Constable P., Hinchcliff K. W., Done S., Gruenberg W. Veterinary medicine. Practical antimicrobial therapeutics, 2017, 11th Edition, Saunders Ltd., 153–174. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-5246-0.00006-1B>.
- Butaye P., Devriese L. A., Haesebrouck F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. Clin Microbiol Rev. 2003; 16 (2): 175–188. doi: 10.1128/CMR.16.2.175-188.2003.
- Egorov H. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Издательство МГУ, 2004; 528. ISBN 5-02-033595-9. [Egorov N. S. Fundamentals of the doctrine of antibiotics. Moscow: MSU Publishing House, 2004; 528 (in Russian)]
- Fisher J. E., Mobashery S., Miller M. J. (eds.) Antibacterials. Volume II. Topic in Medicinal Chemistry. Springer, 2018; 228. ISBN-10: 3319708384; ISBN-13: 978-3319708386
- Walsh C. T., Wenciewicz T. A. Antibiotics: challenges, mechanisms, opportunities. ASM Press, Washington, 2016; 477. ISBN: 978-1-555-81930-9.
- Greenwood D.  $\beta$ -lactam antibiotics: cephalosporins. In book Antibiotic and Chemotherapy (9th ed.) 2010, 170–199. Chapter 13. Elsevier. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4064-1.00013-0>.
- Harada K., Irie S., Ohnishi M., Kataoka Y. Assessment of the usefulness of cefepirin and cefalonium disks for susceptibility testing of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. Antibiotics. 2020; 9 (4): 197–204. doi: 10.3390/antibiotics9040197.
- Yang Q., Zhang C., Liu X., Zhang L., Yong K., Lv Q., Zhang Y., Chen L., Zhong P., Liu Y. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefquinome against *Streptococcus agalactiae* in a murine mastitis model. PLoS ONE. 2023; 18 (1): e0278306. doi: 10.1371/journal.pone.0278306.
- Hassan S. E., Altaf S., Ijaz M., Mohy-ud-din M. T. A Review on ceftiofur international journal of advanced scientific research and management. 2016; 1(8): 22–26. www.ijasrm.com. ISSN 2455-6378 22.
- Donaldson S. C., Straley B. A., Hegde N. V., Sawant A. A., DebRoy C., Jayarao B. M. Molecular Epidemiology of Ceftiofur-Resistant *Escherichia coli* isolates from dairy calves. Appl Environ Microbiol. 2006; 72 (6): 3940–3948. doi: 10.1128/AEM.02770-05.
- Velazquez-Meza M. E., Galarde-López M., Carrillo-Quiróz B., Alpuche-Aranda C. M. Antimicrobial resistance: One Health approach. Vet World. 2022; 15 (3): 743–749. doi: 10.14202/vetworld.2022.743-749.
- Wente N., Zoche-Golob V., Behr M., Krömker V. Susceptibility to cephalosporins of bacteria causing intramammary infections in dairy cows with a high somatic cell count in Germany. Prev Vet Med. 2016; 1 (131): 146–151. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.06.010.
- McGahren W. J., Leese R. A., Barbatschi E., Morton G. O., Kuck N. A., El-lestad G. A. Components and degradation compounds of the avoparcin complex. J Antibiot (Tokyo). 1983; 36 (12): 1671–1682. doi: 10.7164/antibiotics.36.1671.
- Kunstmann M. P., Mitscher L. A., Porter J. N., Shay A. J., Darken M. A. LL-AV290, a new antibiotic. I. Fermentation, isolation, and characterization. Antimicrob Agents Chemother. 1968; 8: 242–245.
- Collignon P. J. Vancomycin-resistant enterococci and use of avoparcin in animal feed: is there a link? Med J Aust. 1999; 171 (3), 144–146. doi: 10.5694/j.1326-5377.1999.tb123568.x.
- Butler M. S., Hansford K. A., Blaskovich M. A. T., Halai R., Cooper M. A. Glycopeptide antibiotics: Back to the future. J Antibiot (Tokyo). 2014; 67, 631–644. doi: 10.1038/ja.2014.111.
- Adiveter. [https://www.adiveter.com/ftp\\_public/articulo1138.pdf](https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1138.pdf).
- Abd El-Hack M. E., El-Saadony M. T., Elbestawy A. R., El-Shall N. A., Saad A. M., Salem H. M., El-Tahan A. M., Khafaga A. F., Taha A. E., AbuQamar S. F., El-Tarabily K. A. Necrotic enteritis in broiler chickens: disease characteristics and prevention using organic antibiotic alternatives — a comprehensive review. Poult Sci. 2022; 101: 101590. doi: 10.1016/j.psj.2021.101590.
- MSD Animal Health. <https://www.msd-animal-health.co.za/product-list/>.
- Biswas S., Brunel J.-M., Dubus J.-C., Reynaud-Gaubert M., Rolain J.-M. Colistin: an update of the antibiotic of the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012; 10 (8): 917–934. doi: 10.1586/eri.12.78.

46. El-Sayed Ahmed M. A. E., Zhong L. L., Shen C., Yang Y., Doi Y., Tian G. B. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1): 868–885. doi: 10.1080/22221751.2020.1754133.
47. Kumarasamy K. K., Toleman M. A., Walsh T. R., Bagaria J., Butt F., Balakrishnan R., Chaudhary U., Doumith M., Giske C. G., Irfan S., Krishnan P., Kumar A. V., Maharjan S., Mushtaq S., Noorie T., Paterson D. L., Pearson A., Perry C., Pike R., Rao B., Ray U., Sarma J. B., Sharma M., Sheridan E., Thirunarayan M. A., Turton J., Upadhyay S., Warner M., Welfare W., Livermore D. M., Woodford N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010; 10 (9): 597–602. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70143-2.
48. Martin N. J., Hu H., Moake M. M., Churey J. J., Whittall R., Worobo R. W., Vederas J. C. Isolation, structural characterization, and properties of maticin (polymyxin M), a cyclic peptide antibiotic produced by *Paenibacillus kobensis* M. *J Biol Chem.* 2003; 278(15): 13124–13132. doi: 10.1074/jbc.M212364200.
49. Hamel M., Rolain J.-M., Baron S. A. The History of colistin resistance mechanisms in bacteria: progress and challenges. *Microorganisms*; 2021; 9: 442–458. doi: 10.3390/microorganisms9020442.
50. Martin N. J., Hu H., Moake M. M., Churey J. J., Whittall R., Worobo R. W., Vederas J. C. Isolation, structural characterization, and properties of maticin (polymyxin M), a cyclic peptide antibiotic produced by *Paenibacillus kobensis* M. *J Biol Chem.* 2003; 278 (15): 13124–13132. doi: 10.1074/jbc.M212364200.
51. Kumar H., Chen B.-H., Kuca K., Nepovimova E., Kaushal A., Nagraik R., Bhatia S. K., Dhanjal D. S., Kumar V., Kumar A., Upadhyay N. K., Verma R., Kumar D. Understanding of colistin usage in food animals and available detection techniques: a review. *Animals (Basel)*. 2020; 10 (10): 1892–1920. doi: 10.3390/ani10101892.
52. <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202211300044?index=1>.
53. Zhang J., Fan P.-H., Lin G.-M., W.-C. Chang, Liu H.-W. Recent progress in unusual carbohydrate-containing natural products biosynthesis in comprehensive natural products III (Third Edition): Chemistry and Biology. 2020; 2: 336–392. Elsevier. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14698-0>.
54. Borovinskaya M. A., Shoji S., Fredrick K., Cate J. H. D. Structural basis for hygromycin B inhibition of protein biosynthesis. *RNA*. 2008; 14: 1590–1599. doi: 10.1261/rna.1076908.
55. Abdulmunim Z., Jabba R. N., Al-Shaibani A. B. Studying the optimum conditions of hygromycin B production and detect their toxicity. *JUB-PAS*. 2018; 26 (2): 119–130. doi: <https://doi.org/10.29196/jub.v26i2.480>.
56. [https://domestic\\_veterinary\\_drugs.academic.ru/200/ГИГПОМИЦИН\\_Б](https://domestic_veterinary_drugs.academic.ru/200/ГИГПОМИЦИН_Б).
57. <http://www.cnsb.ru/AKDiL/0031/base/RG/000201.shtm>.
58. Rao R. N., Allen N. E., Hobbs J. N., Alborn W. E., Kirst H. A., Paschal J. W. Genetic and enzymatic basis of hygromycin B resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983; 24 (5): 689–695. doi: 10.1128/aac.24.5.689.
59. Pazuki A., Asghari J., Sohani M. M., Pessarakli M., Afkari F. Effects of some organic nitrogen sources and antibiotics on callus growth of indica rice cultivars. *J. Plant Nutr.* 2015, 38 (8): 1231–1240. doi: 10.1080/01904167.2014.983118.
60. Hamada M., Hashimoto T., Takahashi T., Yokoyama S., Miyake M., Takeuchi T., Okami Y., Umezawa H. Antimicrobial activity of kasugamycin. *J Antibiot. ser. A*; 1965; 18: 104–106. PMID: 14326081. <https://glavagronom.ru/substance/kasugamicin>.
61. Müller E., Ackermann P., Margot P. Fungicides, agricultural, 2. Individual Fungicides 2012; 16: 158–228. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. doi: [https://doi.org/10.1002/14356007.o12\\_o06](https://doi.org/10.1002/14356007.o12_o06).
62. <http://weedcontrolproduct.ru/3-15-kasugamycin.html>.
63. Desai P. M., Rife J. P. The adenosine dimethyltransferase KsgA recognizes a specific conformational state of the 30S ribosomal subunit. *Arch Biochem Biophys.* 2006; 449 (1–2): 57–63. doi: 10.1016/j.abb.2006.02.028.
64. Синягина О. П., Лапчинская О. А. Влияние антибиотической устойчивости на появление мутантов в культуре *Streptomyces Creteus subsp.*, продуцирующей аминогликозидный комплекс. Антибиотики. 1983; 28 (4): 262–265. [Sinyagina O. P., Lapchinskaya O. A. Effect of antibiotic resistance on the appearance of mutants in a culture of *Streptomyces Creteus subsp. tobramycin* producing an aminoglycoside complex. *Antibiotiki*. 1983; 28 (4): 262–265. PMID: 6859825 (in Russian)]
65. Ryden R., Moore B. J. The *in vitro* activity of apramycin, a new aminocyclitol antibiotic. *J Antimicrob Chemother.* 1977; 3 (6): 609–613. <https://vetorg.ru/catalog/item-299.html>
66. Jensen V. E., Jakobsen L., Emborg H.-D., Seyfarth A. M., Hammerum A. M. Correlation between apramycin and gentamicin use in pigs and an increasing reservoir of gentamicin-resistant *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58 (1): 101–107. doi: 10.1093/jac/dkl201.
67. Juhas M., Widlake E., Teo J., Huseby D. L., Tyrrell J. M., Polikanov Y. S., Ercan O., Petersson A., Cao S., Aboklaish A. F., Rominski A., Crich D., Bottger E. C., Walsh T. R., Hughes D., Hobbie S. N. *In vitro* activity of apramycin against multidrug-, carbapenem- and aminoglycoside-resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2019; 74 (4): 944–952. doi: 10.1093/jac/dky546.
68. Zhao C., Chirkova A., Rosenborg S., Villar R. P., Lindberg J., Hobbie S. N., Friberg L. E. Population pharmacokinetics of apramycin from first-in-human plasma and urine data to support prediction of efficacious dose. *J Antimicrob Chemother.* 2022; 77 (10): 2718–2728. doi: 10.1093/jac/dkac225. <https://www.alta.ru/tamdoc/22sr0001/>.
69. Мирошникова М. С. Тетрациклиновые антибиотики в животноводстве и ветеринарии. Шаг в науку. 2021; 2: 10–20. ISSN 2542-1069. [Miroshnikova M. S. Tetratsiklinovyye antibiotiki v zhivotnovodstve i veterinarii. *Shag v Nauku*. 2021; 2: 10–20. ISSN 2542-1069. (in Russian)]
70. Javid A., Mesdaghinia A., Nasser S., Mahvi A. H., Alimohammadi M., Gharibi H. Assessment of tetracycline contamination in surface and ground-water resources proximal to animal farming houses in Tehran Iran. *J Environ Heal Sci Eng.* 2016; 14: 1–5. doi: 10.1186/s40201-016-0245-z.
71. Emaneini M., Bigverdi R., Kalantar D., Soroush S., Jabalameli F., Noorazar Khoshnab B., Asadolahi P., Taherikalani M. Distribution of genes encoding tetracycline resistance and aminoglycoside modifying enzymes in staphylococcus aureus strains isolated from a burn center. *Ann Burns Fire Disasters.* 2013; 26 (2): 76–80. PMID: 24133400.
72. Markley J. L., Wenciewicz T. A. Tetracycline-inactivating enzymes. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1058–1079. doi: 10.3389/fmicb.2018.01058. <https://www.alta.ru/tamdoc/18kr0028/>.
73. <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202211300044>.
74. Baggot J. D., Giguere S. Principles of antimicrobial drug bioavailability and disposition. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 5th Edition. Giguere S., Prescott J. E., Dowling P. M. (eds.). John Wiley & Sons, Wiley-Blackwell, 2013; 41–77. doi: <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch4>.
75. Hirsch R., Ternes T., Haberer K., Kratz K. L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci Total Environ.* 1999; 225 (1–2): 109–118. doi: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00337-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00337-4).
76. <https://amrls.umn.edu/antibiotics-veterinary-medicine#macrolides>.
77. Petropoulos A. D., Kouvella E. C., Dinos G. P., Kalpaxis D. L. Stepwise binding of tylosin and erythromycin to *Escherichia coli* ribosomes, characterized by kinetic and footprinting analysis. *J Biol Chem.* 2008; 283 (8): 4756–4765. doi: 10.1074/jbc.M708371200.
78. Corcoran J. W., Huber M. L. B., Huber F. M. Relationship of ribosomal binding and antibacterial properties of tylosin-type antibiotics. *J Antibiot (Tokyo)*. 1977; 30 (11): 1012–1014. doi: 10.7164/antibiotics.30.1012.
79. Jost H., Field A. C., Trinh H. T., Songer J. G., Billington S. J. Tylosin resistance in *Arcanobacterium pyogenes* is encoded by an erm x determinant B. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47 (11): 3519–3524. doi: 10.1128/AAC.47.11.3519-3524.2003.
80. <https://www.federalregister.gov/documents/2012/09/10/2012-22194/new-animal-drugs-enrofloxacin-tylvalosin>.
81. Andersen N. M., Poehlsgaard J., Warrass R., Douthwaite S. Inhibition of protein synthesis on the ribosome by tildipirosin compared with other veterinary macrolides. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56 (11): 6033–6036. doi: 10.1128/AAC.01250-12.
82. Пломодьялов Д. Тилмикозин — макролидный антибиотик нового поколения. На стол ветеринарному врачу. Ветеринария. Животноводство России. Спецвыпуск. 2015; 20–21. [Plomod'yalov D. Tilmikozin — makrolidnyy antibiotik novogo pokoleniya. Na stol veterinarnomu vrachu. *Veterinariya. Zhivotnovodstvo Rossii. Spetsvypusk*. 2015; 20–21. (in Russian)]
83. Siteavu M. I., Drucea R. I., Pitoiu E., Ciobotaru-Pirvu E. Antimicrobial resistance of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, and *Pasteurella multocida* isolated from Romanian Swine Farms. *Microorganisms*. 2023; 11: 2410–2423. doi: 10.3390/microorganisms11102410.
84. Buret A. G. Immuno-modulation and anti-inflammatory benefits of antibiotics: the example of tilmicosin. *Can J Vet Res.* 2010; 74: 1–10. <https://www.fda.gov/media/88094/download>.
85. <https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Tildipirosin>.
86. Coetzee J. E., Magstadt D. R., Sidhu P. K., Follett L., Schuler A. M., Krull A. C., Cooper V. L., Engelken T. J., Kleinhenz M. D., O'Connor A. M. Association between antimicrobial drug class for treatment and retreatment of bovine respiratory disease (BRD) and frequency of resistant BRD pathogen isolation from veterinary diagnostic laboratory samples. *PLoS ONE*. 2019; 14 (12): e0219104. doi: 10.1371/journal.pone.0219104.
87. Peresb P. R., Prigolb S. R., Martinc C. B. G., Feronatodd C., Surinachd M. C., Kreutz L. C., Frandoloso R. Tildipirosin: An effective antibiotic against *Glaesserella parasuis* from an *in vitro* analysis. *Vet Anim Sci.* 2020; 10: 100136. doi: 10.1016/j.vas.2020.100136.
88. Coetzee J. E., Magstadt D. R., Sidhu P. K., Follett L., Schuler A. M., Krull A. C., Cooper V. L., Engelken T. J., Kleinhenz M. D., O'Connor A. M. Association between antimicrobial drug class for treatment and retreatment of bovine respiratory disease (BRD) and frequency of resistant BRD pathogen isolation from veterinary diagnostic laboratory samples. *PLoS ONE*. 2019; 14(12): e0219104. doi: 10.1371/journal.pone.0219104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219104>.



95. Lewy K., Cernicchiaro N., Dixon A. L., Beyene T. J., Shane D., George L. A., Nagaraja T. G., White B. J., Sanderson M. W. Association between tulathromycin treatment for bovine respiratory disease and antimicrobial resistance profiles among gut commensals and foodborne bacterial pathogens isolated from feces of beef steers. *J Food Prot.* 2022; 85 (8): 1221–1231. doi: 10.4315/jfp-22-078.
96. New Animal Drugs; Gamithromycin. Federal Register. A Rule by the Food and Drug Administration on 09/19/2011. <https://www.federalregister.gov/documents/2011/09/19/2011-23874/new-animal-drugs-gamithromycin>.
97. Torres S., Thomson D. U., Bello N. M., Nosky B. J., Chris D. Reinhardt. Field study of the comparative efficacy of gamithromycin and tulathromycin for the control of undifferentiated bovine respiratory disease complex in beef feedlot calves at high risk of developing respiratory tract disease. *Am J Vet Res.* 2013; 74: 839–846. doi: 10.2460/ajvr.74.6.839.
98. Miller T. J., Hubbert M. E., Reinhardt C. D., Loest C. A., Schuwandt E. F., Thomson D. U. Comparison of tulathromycin, tilmicosin, and gamithromycin for metaphylactic treatment of high-risk calves for control of bovine respiratory disease. *The Bovine Practitioner.* 2016; 50 (2): 175–179. doi: <https://doi.org/10.21423/bovine-vol50no2p175-179>.
99. Алексанян Л. А., Верткин А. Л., Гуревич К. Г., Ищенко А. Л., Колобов С. В., Лобанова Е. Г., Пашков К. А., Попков С. А., Попкова А. М., Солдатенко И. В. В кн. Макролиды: Монография. Под ред. Попковой А. М., Верткин А. Л., Колобова С. В. М.: Диалог. МГУ. 2000; 108. ISBN 5-89209-494-504. Опубликована на сайте РМЖ (Русский медицинский журнал): [https://www.rmj.ru/articles/klinicheskaya\\_farmakologiya/Ispolyzovanie\\_makrolidov\\_pri\\_hirurgicheskikh\\_infekciyah\\_koghi\\_i\\_myagkih\\_tkanej/#ixzz8c0gMSP3q](https://www.rmj.ru/articles/klinicheskaya_farmakologiya/Ispolyzovanie_makrolidov_pri_hirurgicheskikh_infekciyah_koghi_i_myagkih_tkanej/#ixzz8c0gMSP3q). [Aleksanyan L. A., Vertkin A. L., Gurevich K. G., Ishchenko A. L., Kolobov S. V., Lobanova E. G., Pashkov K. A., Popkov S. A., Popkova A. M., Soldatenko I. V. V kn. Makrolidy: Monografiya. Pod red. Popkovoy A. M., Vertkina A. L., Kolobova S. V. M.: Dialog. MGU. 2000; 108. ISBN 5-89209-494-504. Opublikovana na sayte RMZH (Russkiy meditsinskiy zhurnal): [https://www.rmj.ru/articles/klinicheskaya\\_farmakologiya/Ispolyzovanie\\_makrolidov\\_pri\\_hirurgicheskikh\\_infekciyah\\_koghi\\_i\\_myagkih\\_tkanej/#ixzz8c0gMSP3q](https://www.rmj.ru/articles/klinicheskaya_farmakologiya/Ispolyzovanie_makrolidov_pri_hirurgicheskikh_infekciyah_koghi_i_myagkih_tkanej/#ixzz8c0gMSP3q). (in Russian)]
100. Deluyker H. A., Van Oye S. N., Boucher J. F. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin. treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *J Dairy Sci.* 2005; 88: 604–614. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(05)72724-7.
101. Birkenmeyer R. D., Kroll S. J., Lewis C., Stern K. F., Zurenko G. E. Synthesis and antimicrobial activity of clindamycin analogues: pirlimycin, a potent antibacterial agent. *J Med Chem.* 1984; 27: 216–223. doi: 10.1021/jm00368a020.
102. <https://iz.ru/1554209/2023-08-04/antibiotik-obnaruzhili-v-syrom-moloke-v-amurskoj-oblasti>.
103. Barnhart C. E., Robertson J. C., Miller H. W. Virginiamycin, a new antibiotic, for growing swine. *J Anim Sci.* 1960; 19 (4): 1247.
104. LeFevre J. W., Glass T.E., Kolpak M. X., Kingston D. G. I., Chen P. N. Biosynthesis of antibiotics of the virginiamycin family. 2. Assignment of the <sup>13</sup>C-NMR spectra of virginiamycin m1 and antibiotic A2315A. *J Nat Prod.* 1983; 46 (4): 475–480. doi: <https://doi.org/10.1021/np50028a008>.
105. Wei B., Cha S.-Y., Zhang J.-F., Shang K., Park H.-C., Kang J. W., Lee K.-J., Kang M., Jang H.-K. Antimicrobial susceptibility and association with toxin determinants in clostridium perfringens isolates from chickens. *Microorganisms.* 2020; 8: 1825–1836. doi: 10.3390/microorganisms811825.
106. Mukhtar T. A., Koteva K. P., Hughes D. W., Wright G. D. Vgb from *Staphylococcus aureus* inactivates streptogramin b antibiotics by an elimination mechanism not hydrolysis. *Biochemistry.* 2001; 40: 8877–8886. doi: 10.1021/bi0106787.
107. Delgado G., Neuhauser M. M., Bearden D. T., Danziger L. H. Quinupristin–dalfopristin: an overview. *Pharmacotherapy.* 2000; 20 (12): 1469–1485. doi: 10.1592/phco.20.19.1469.34858.
108. Burch D. G., Goodwin R. F. Use of tiamulin in a herd of pigs seriously affected with *Mycoplasma hyosynoviae* arthritis. *Vet Rec.* 1984; 115 (23): 594–595. doi: 10.1136/vr.115.23.594.
109. Jordan F. T. W., Forrester C. A., Ripley P., Burch D. G. S. *In vitro* and *in vivo* comparisons of valnemulin, tiamulin, tylosin, enrofloxacin, and lincomycin/spectinomycin against *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases.* 1998; 42 (4): 738–45.
110. Killeavy E. E., Jogl G., Gregory S. T. Tiamulin-resistant mutants of the thermophilic bacterium *Thermus thermophilus*. *Antibiotics.* (Basel). 2020; 9: 313. doi: 10.3390/antibiotics9060313.
111. Marchese A., Debbia E. A., Tonoli E., Gualco L., Schito A. M. *In vitro* activity of thiamphenicol against multiresistant *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* Italy. *J Chemother.* 2002; 14 (6): 554–561. doi: 10.1179/joc.2002.14.6.554.
112. Syriopoulou V. P., Harding A. L., Goldmann D. A., Smith A. L. *In vitro* antibacterial activity of fluorinated analogs of chloramphenicol and thiamphenicol. *Antimicrob Agents Chemother.* 1981; 19 (2): 294–297. doi: 10.1128/AAC.19.2.294.
113. Gaunt P. S., Langston C., Wrzesinski C., Gao D., Adams P., Crouch L., Sweeney D., Endris R. Multidose pharmacokinetics of orally administered florfenicol in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J Vet Pharmacol Ther.* 2012; 36 (5): 502–506. doi: 10.1111/j.1365-2885.2012.01426.x.
114. Marchese A., Debbia E. A., Tonoli E., Gualco L., Schito, A. M. *In vitro* activity of thiamphenicol against multiresistant *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Staphylococcus aureus* Italy. *J Chemother.* 2002; 14 (6): 554–561. doi: 10.1179/joc.2002.14.6.554.
115. Rossolini G. M., Arena E., Giani T. Mechanisms of Antibacterial Resistance. Anti-infective Therapy. Section 7. Chapter 138. 2017; 1181–1196.e1. In book: . Eds. Cohen J., Powderly W. G., Opal S. M. Elsevier. doi: 10.1016/b978-0-7020-6285-8.00138-6.
116. Pei L.-L., Yang W.-Z., Fu J.-Y., Liu M.-X., Zhang T.-T., Li D.-B., Huang R.-Y., Zhang L., Peng G.-N., Shu G., Yuan Z.-X., Lin J.-C., Zhang W., Zhong Z.-J., Zhao L., Fu H.-L. Synthesis, characterization, and pharmacodynamics. study of enrofloxacin mesylate. drug design, development and therapy. 2020; 14: 715–730. doi: 10.2147/DDDT.S239307.
117. Schwarz S., Kehrenberg C., Doublet B., Cloeckaert A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol Rev.* 2004; 28 (5): 519–542. doi: 10.1016/j.femsre.2004.04.001.
118. Huang F An Z., Moran M. J., Liu F Recognition of typical antibiotic residues in environmental media related to groundwater in China (2009–2019). *J Hazard Mater.* 2020; 399: 122813. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122813.
119. Ma W., Wang L., Xu X., Huo M., Zhou K., Mi K., Tian X., Cheng G., Huang L. Fate and exposure risk of florfenicol, thiamphenicol and antibiotic resistance genes during composting of swine manure. *Sci Total Environ.* 2022; 839: 156243. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156243.
120. Brown S. A. Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Therap.* 1996; 19 (1): 1–14. doi: 10.1111/J.1365-2885.1996.TB00001.X.
121. Rohlfing S. R., Gerster J. F., Kvam D. C. Bioevaluation of the antibacterial flumequine for urinary tract use. 1976; 10 (1): 20–24. doi: 10.1128/aac.10.1.20.
122. Schena F P., Gesualdo L., Caracciolo G. A multicentre study of flumequine in the treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 1988; 21 (1): 101–106. doi: 10.1093/jac/21.1.101.
123. Потехин А. В., Ковалишин В. Ф. Антинобацциллезная плевропневмония свиней: диагностика, профилактика и меры борьбы. Ветеринария Сегодня. 2014; (10): 9–22. [Potekhin A. V., Kovalishin V. F. Aktinobatsilleznaya plevropnevmoniya sviney: diagnostika, profilaktika i mery bor'by. Veterinariya Segodnya. 2014; (10): 9–22. (in Russian)]
124. Concha C., Miranda C. D., Hurtado L., Romero J. Characterization of mechanisms lowering susceptibility to flumequine among bacteria isolated from chilean salmonid farms. *Microorganisms.* 2019; 7: 698–713. doi: 10.3390/microorganisms7120698.
125. Oppegaard H., Sorum H. Gyra mutations in quinolone-resistant isolates of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994; (10): 2460–2464. doi: 10.1128/aac.38.10.2460.
126. Pourhossein Z., Asadpour L., Habibollahi H., Shafighi S. T. Antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolated from poultry chicks in northern Iran. *Gene Reports.* 2020; 21: 100926. doi: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100926>.
127. Steffensky M., Mühlenweg A., Wang Z.-X., Li S.-M., Heide L. Identification of the novobiocin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces spheeroides* NCIB 11891. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44 (5): 1214–1222. doi: 10.1128/aac.44.5.1214-1222.2000.
128. Rodríguez-Cerrato V., Del Prado G., Huelves L., Naves P., Ruiz V., García E., Ponte C., Soriano F. Comparative efficacy of novobiocin and amoxicillin in experimental sepsis caused by beta-lactam-susceptible and highly resistant pneumococci. 2010; 35 (6): 544–549. doi: 10.1016/j.jantimicag.2010.02.007.
129. Dowling P. M. Miscellaneous antimicrobials: ionophores, nitrofurans, nitroimidazoles, rifamycins, and others. Chapter 19. In Book: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5<sup>th</sup> Ed. VetBooks. Wiley Blackwell. Eds. Prescott J. F., Dowling P. M., Giguère S., P. 328–333.
130. Vickers A. A., Chopra I., O'Neill A. J. Intrinsic novobiocin resistance in *Staphylococcus saprophyticus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51 (12): 4484–4485. doi: 10.1128/AAC.00708-07.
131. Cheng G., Sa W., Cao C., Guo L., Hao H., Liu Z., Wang X., Yuan Z. Quinoxaline 1,4-di-N-oxides: biological activities and mechanisms of actions. *Front. Pharmacol.* 2016; 7: 64–97. doi: 10.3389/fphar.2016.00064.
132. Zhao Y., Cheng G., Hao H., Pan Y., Liu Z., Dai M., Zhao Z. Y. *In vitro* antimicrobial activities of animal used quinoxaline 1,4-di-N-oxides against mycobacteria, mycoplasma and fungi. *BMC Veterinary Res.* 2016; 12: 186–198. doi: 10.1186/s12917-016-0812-7.
133. Li J. S., Zhao R. C., Lu R. H. Quincentone growth promoter in fat chickens. *Ind Vet J.* 2005; 82 (11): 1149–1151. [https://www.vgnki.ru › analitic\\_material\\_2013](https://www.vgnki.ru › analitic_material_2013).
134. <https://www.nationalhogfarmer.com/hog-health/pork-producers-oppose-fda-proposal-to-revoke-carbadox>, Sept. 18, 2020.
135. [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_401832/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_401832/).
136. [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_401832/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_401832/).
137. [https://www.vgnki.ru › analitic\\_material\\_2013](https://www.vgnki.ru › analitic_material_2013).
138. Hwang I. Y., Tan M. H., Koh E., Ho C. L., Poh C. L., Chang M. W. Reprogramming microbes to be pathogen-seeking killers. *ACS Synth Biol.* 2014; 3 (4): 228–237. doi: 10.1021/sb400077j.



140. Tang R., Tan H., Dai Y., Li L., Huang Y., Yao H., Cai Y., Yu G. Application of antimicrobial peptides in plant protection: making use of the overlooked merits. *Front Plant Sci.* 2023; 14: 1139539. doi: 10.3389/fpls.2023.1139539.
141. Morel C., Stermitz F. R., Tegos G., Lewis K. Isoflavones as potentiators of antibacterial activity. *J Agric Food Chem.* 2003; 51 (19): 5677–5679. doi: 10.1021/jf0302714.
142. Loponte R., Pagnini U., Iovane G., Pisanelli G. Phage therapy in veterinary medicine. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10: 421–441. doi: 10.3390/antibiotics10040421.
143. <https://roste.ru/news/bakteriofagi-medsina-budushchego/>.
144. Van Dijk A., Hedegaard C. J., Haagsman H. P., Heegaard P. M. H. The potential for immunoglobulins and host defense peptides (HDPs) to reduce the use of antibiotics in animal production. *Vet Res.* 2018; 49: 68–83. doi: 10.1186/s13567-018-0558-2.
145. Hoelzer K., Bielke L., Blake D. P., Cox E., Cutting S. M., Devriendt B., Erbacher-Vindel E., Goossens E., Karaca K., Lemiére S., Metzner M., Raicek M., Suricach M. C., Wong N. M., Gay C., Van Immerseel F. Vaccines as alternatives to antibiotics for food producing animals. Part 1: challenges and needs. *Vet Res.* 2018; 49: 64–73. doi: 10.1186/s13567-018-0560-8.
146. Simjee S., Ippolito G. European regulations on prevention use of antimicrobials from January 2022. *Braz J Vet Med.* 2022; 44: e000822. doi: 10.29374/2527-2179.bjvm000822.
147. <https://www.accessscience.com/content/briefing/aBR0125171>.
148. <https://www.fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/37-2010.pdf>
149. <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202211300044?index=1>.
150. <https://kodeks.ru/news/read/v-korma-dlya-jivotnyh-zapreshcheno-dobavlyat-antibiotiki-bez-oformleniya-recepta-ili-trebovaniya>.
151. <https://direct.farm/post/zapret-na-dobavleniye-v-korma-antibiotikov-bez-retsepta-otlozhili-na-2-goda-19481>.
152. Dunchenko N. I., Voloshina E. S., Kuptsova S. V., Yankovskaya V. S., Mikhaylova K. V. A design of the quality control and safety mechanism for convenience meat products. *IOP Conf. Ser. Earth Environ Sci.* 2021; 640: 032008. doi: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032008>.
153. Dunchenko N. I., Yankovskaya V. S., Voloshina E. S., Ginzburg M. A., Kupriy A. S. Quality designing and food safety provisioning based on qualimetric forecasting. *Food Science and Technology (Brazil).* 2022; 42: e112021. doi: <https://doi.org/10.1590/fst.112021>.

Поступила / Received 05.06.2024

Принята в печать / Accepted 10.07.2024

## Информация об авторах

Олсуфьева Евгения Николаевна — д. х. н., профессор, главный научный сотрудник Лаборатории химической трансформации антибиотиков Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-2598-913X. Scopus Author ID: 35595443300. WOS Research ID: B-1230-2017. РИНЦ Ausr ID: 57864

Янковская Валентина Сергеевна — д. т. н., доцент кафедры управления качеством и товароведения продукции ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева (РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева)», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-2801-380X. ResearcherID: AAR-2725-2021. eLIBRARY SPIN-код: 2926-6979. AuthorID: 562520. ScopusAuthor ID: 57195148578

## About the authors

Evgenia N. Olsufyeva — D. Sc. in Chemistry, Professor, Chief Researcher at the Laboratory of Chemical Transformation of Antibiotics, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-2598-913X. Scopus Author ID: 35595443300. WOS Research ID: B-1230-2017. RSCI Ausr ID: 57864

Valentina S. Yankovskaya — D. Sc. in Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Quality Management and Commodity Science, Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-2801-380X. ResearcherID: AAR-2725-2021. eLIBRARY SPIN: 2926-6979. AuthorID: 562520 ScopusAuthor ID: 57195148578



# Ремаксол®

для печени –  
время для жизни



 Полисан

## Дает такое ценное время ●

Инфузионный гепатотропный препарат для терапии  
нарушений функций печени различного генеза

Ремаксол:

01. Способствует купированию синдромов цитолиза и холестаза<sup>1</sup>
02. Уменьшает выраженность воспалительного синдрома<sup>1</sup>
03. Включен в ЖНВЛП
04. Способствует сохранению детоксикационной и белково-синтетической функций печени<sup>1</sup>

Реклама. Информация для специалистов здравоохранения. Рег. номер ЛП-№(002562)-(PF-RU)  
1. В.В. Стельмах, И.Г. Бакулин, А.Л. Коваленко, В.К. Козлов. Эффективность Ремаксоло у пациентов с алкогольной болезнью печени. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2022 6(85): 25-31. doi: 10.52420/2071-5943-2022-85-6-25-31



Ремаксол  
Инструкция