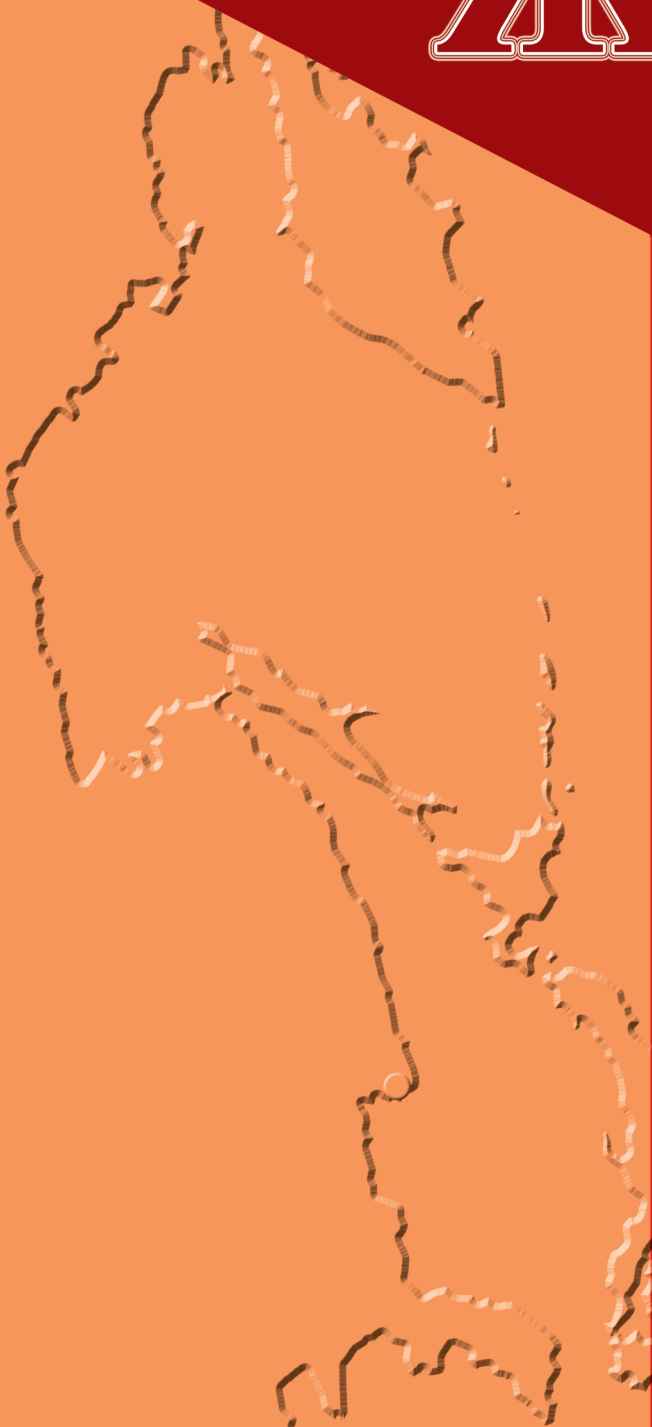


Тихоокеанский Медицинский Журнал

2023, № 1

- 
- ВИРОМ МУМИИ ИСКОПАЕМОГО ВОЛКА (*CANIS LUPUS*) КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИСТОЧНИК ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ФАГОТЕРАПИИ
 - ФЕНОМЕН СИМУЛЬТАННОЙ ВЕГЕТАЦИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ПАРОДОНТИТАХ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ТЕЧЕНИЕМ
 - СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ФЛОКУЛЯЦИИ И АВТОАГРЕГАЦИИ БАКТЕРИЙ, ОСНОВАННАЯ НА МАГНИТНОЙ ЛЕВИТАЦИИ
 - ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНК НА КЕРАМИКЕ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА, ИСПОЛЪЗУЕМОЙ ДЛЯ ОРТОПЕДИЧЕСКОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ
 - ОЦЕНКА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ У ДЕТЕЙ ПРИ ИНФЕКЦИИ МОЧЕВЫВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ
 - АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ И АНТИБИОПЛЕНОЧНОЕ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГОВ В ОТНОШЕНИИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* И *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Тихоокеанский медицинский журнал

2023, № 1 (91)

Январь–март 2023 г.

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Издается с 1997 года. Выходит один раз в три месяца

Главный редактор **Шуматов В.Б.**, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН

Зам. главного редактора: **Елисеева Е.В.**, д-р мед. наук, проф., **Чертков В.М.**, д-р мед. наук, проф.

Научный редактор **Калининченко С.Г.**, д-р мед. наук, доц.

Ответственный секретарь **Кабалык М.А.**, канд. мед. наук, доц.

Редактор номера: **Зайцева Е.А.**, д-р мед. наук, проф.

Редакционная коллегия

Антоненко Ф.Ф., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Беседнова Н.Н., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Гельцер Б.И., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Гринштейн Ю.И., д-р мед. наук, проф. (Красноярск)

Дюйзен И.В., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Ковтун О.П., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Екатеринбург)

Козлов В.К., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Хабаровск)

Козлов Р.С., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Смоленск)

Колосов В.П., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Благовещенск)

Кучма В.Р., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Маринкин И.О., д-р мед. наук, проф. (Новосибирск)

Невзорова В.А., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Обухова Т.М., д-р мед. наук, проф. (Омск)

Павлов В.Н., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Уфа)

Пиголькин Ю.И., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Москва)

Стегний К.В., д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН (Владивосток)

Стоник В.А., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Транковская Л.В., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Чазова И.Е., д-р мед. наук, проф., акад. РАН (Москва)

Черняк Б.А., д-р мед. наук, проф. (Иркутск)

Шуматова Т.А., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Редакционный совет

Адрианов А.В., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Москва)

Белевский А.С., д-р мед. наук, проф. (Москва)

Ботвинкин А.Д., д-р мед. наук, проф. (Иркутск)

Горовой П.Г., д-р биол. наук, проф., акад. РАН (Владивосток)

Давидович И.М., д-р мед. наук, проф. (Хабаровск)

Кожевников В.А., д-р мед. наук, проф. (Барнаул)

Лучанинова В.Н., д-р мед. наук, проф. (С.-Петербург)

Мареев В.Ю., д-р мед. наук, проф. (Москва)

Маркелова Е.В., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Перельман Ю.М., д-р мед. наук, проф. (Благовещенск)

Полевщиков А.В., д-р биол. наук, проф. (С.-Петербург)

Рыжовский Б.Я., д-р мед. наук, проф. (Хабаровск)

Хотимченко Ю.С., д-р мед. наук, проф. (Владивосток)

Чумакова Г.А., д-р мед. наук, проф. (Барнаул)

Международный редакционный совет

Jin Liang Hong, MD, PhD, Prof. (Academy of Military Medical Sciences, China)

Nakamura A., MD, PhD, Prof. (University of Hiroshima, Japan)

Rzhetsky A.Yu., MD, PhD, Prof. (University of Chicago, USA)

Sorokin V.A., MD, PhD (National University Heart Centre, Singapore)

Torchilin V.P., MD, PhD, Prof. (Northeastern University, USA)

Watanabe T., MD, PhD, Prof. (Hokkaido Bunkyo University, Japan)

Zhao Baochang, MD, PhD, Prof. (Chinese Academy of Sciences, China)

Решением президиума ВАК Минобрнауки Российской Федерации включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Входит в систему Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) на базе научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU

Издатель: Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2; тел.: +7 (423) 242-97-78)

Индекс для подписчиков по каталогу агентства «Роспечать» **18410**

Журнал зарегистрирован Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций: ПИ № 77–13584 от 20.09.2002 г.

Учредители:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России). Адрес: 690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2.

Государственное автономное учреждение здравоохранения «Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи» (ГАУЗ «ККЦ СВМП»). Адрес: 690091, г. Владивосток, ул. Уборевича, 30/37.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» (ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора). Адрес: 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Министерство здравоохранения Приморского края. Адрес: 690007, Владивосток, 1-я Морская ул., 2.

Редакция

«Тихоокеанского медицинского журнала» 690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 4. тел.: +7 (423) 245-77-80;

e-mail: medicinadv@mail.ru

Главный редактор **В.Б. Шуматов**

Зав. редакцией **Е.П. Каргалова**

Редактор **Е. Верниковская**

Верстальщик **О.А. Юнина**

Корректор **Л.А. Зелексон**

Подписано в печать 31.03.2023

Отпечатано 06.04.2023. Печать офсетная.

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 13,25.

Заказ № 3201. Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Издательство "Триада"»:

пр-т Чайковского, 9, оф. 514, Тверь, 170034, Российская Федерация.

Цена свободная

Выпуски «Тихоокеанского медицинского журнала» доступны на сайтах <http://tmj-vgtmu.ru>, <http://elibrary.ru> и <http://tgmu.ru>

© Тихоокеанский медицинский журнал, 2023

Pacific Medical Journal

2023, No. 1

January–March, 2023

RUSSIAN SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL

Published since 1997. Issued once in three months

Editor-in-chief *Shumatov V.B.*, MD, PhD, Prof., AM of RAS

Deputy editors-in-chief: *Eliseeva E.V.*, MD, PhD, Prof.; *Chertok V.M.*, MD, PhD, Prof.

Research editor *Kalinichenko S.G.*, MD, PhD, Associate Prof.

Editorial secretary *Kabalyk M.A.*, MD, PhD, Associate Prof.

Publishing editor: *Zaitseva E.A.*, MD, PhD, Prof.

Editorial board

Antonenko F.F., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Besednova N.N., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Chazova I.E., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Moscow, Russia)

Chernyak B.A., MD, PhD, Prof. (Irkutsk, Russia)

Dyuizen I.V., MD, PhD, AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Geltser B.I., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Grinshteyn Yu.I., MD, PhD, Prof. (Krasnoyarsk, Russia)

Kolosov V.P., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Blagoveschensk, Russia)

Kovtun O.P., MD, PhD, Acad. of RAS (Ekaterinburg, Russia)

Kozlov R.S., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Smolensk, Russia)

Kozlov V.K., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Khabarovsk, Russia)

Kuchma V.R., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Marinkin I.O., MD, PhD, Prof. (Novosibirsk, Russia)

Nezvorova V.A., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Obuhova T.M., MD, PhD, Prof. (Omsk, Russia)

Pavlov V.N., MD, PhD, Prof., Acad. of RAS (Ufa, Russia)

Pigolkin Yu.I., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Moscow, Russia)

Shumatova T.A., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Stegny K.V., MD, PhD, Prof., AM of RAS (Vladivostok, Russia)

Stonik V.A., PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Trankovskaya L.V., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Luchaninova V.N., MD, PhD, Prof. (St Petersburg, Russia)

Mareev V.Yu., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)

Markelova E.V., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Perelman Yu.M., MD, PhD, Prof. (Blagoveschensk, Russia)

Polevshchikov A.V., PhD, Prof. (St Petersburg, Russia)

Ryzhavsky B.Ya., MD, PhD, Prof. (Khabarovsk, Russia)

International editorial council

Jin Liang Hong, MD, PhD, Prof. (Academy of Military Medical Sciences, China)

Nakamura A., MD, PhD, Prof. (University of Hiroshima, Japan)

Rzhetsky A.Yu., MD, PhD, Prof. (University of Chicago, USA)

Sorokin V.A., MD, PhD (National University Heart Centre, Singapore)

Torchilin V.P., MD, PhD, Prof. (Northeastern University, USA)

Watanabe T., MD, PhD, Prof. (Hokkaido Bunkyo University, Japan)

Zhao Baochang, MD, PhD, Prof. (Chinese Academy of Sciences, China)

Editorial council

Andrianov A.V., PhD, Prof. Acad. of RAS (Moscow, Russia)

Belevsky A.S., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)

Botvinkin A.D., MD, PhD, Prof. (Irkutsk, Russia)

Chumakova G.A., MD, PhD, Prof. (Barnaul, Russia)

Davidovich I.M., MD, PhD, Prof. (Krasnoyarsk, Russia)

Gorovoy P.G., PhD, Prof., Acad. of RAS (Vladivostok, Russia)

Khotimchenko Yu.S., MD, PhD, Prof. (Vladivostok, Russia)

Kozhevnikov V.A., MD, PhD, Prof. (Barnaul, Russia)

As decreed by the State Commission for Academic Degrees and Titles of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, the Pacific Medical Journal has been included into the List of leading peer-reviewed journals issued in Russia and recommended for publishing the principal data of thesis papers by academic degree applicants.

Publisher: Pacific State Medical University
2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002
Russian Federation;
Phone: +7 (423) 242-97-78)

Founders:

Regional Clinical Center of Specialized Types of Medical Care (30/37 Uborevitcha Str., Vladivostok, 690091, RF)
Pacific State Medical University
(2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, RF)
Somov Institute of Epidemiology and Microbiology (1 Selskaya Str., Vladivostok, 690087, RF)
Ministry of Health of Primorsky Krai
(2, 1st Morskaya Str., Vladivostok, 690007, RF)

Mass media registration certificate dated

Sept. 20, 2002. Series III № 77–13584

Federal service for surveillance over non-violation of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial address:

4 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002
Russian Federation
Phone: +7 (423) 245-56-49
e-mail: medicinadv@mail.ru

Signed to print March 31, 2023
Printed April 6, 2023
Offset printing. Format 60×90/8
13.25 cond. printed sheets. Ord. No. 3201.
Edition 1000 copies

Printed by
Publishing House Triada, Ltd.
9, office 514, Tchaikovsky ave., Tver, 170034,
Russian Federation.

The issues of the Pacific Medical Journal are available at <http://tmj-vgm.ru>, <http://elibrary.ru> and <http://tgmu.ru>

© Pacific Medical Journal, 2023

Обзоры

- Попов А.Ф., Беспрозванных В.В., Суханова Г.И., Иванис В.А., Колпаков С.Л.
Об эволюции паразитологической ситуации по *Paragonimus westermani ichunensis* 5
- Богданов Р.Р., Нуриманишин А.Ф., Хусаенова А.А., Хасанов А.Р.
Анестезиологические аспекты робот-ассистированных оперативных вмешательств 11
- Кольцов И.П., Стрельникова Н.В., Витько Е.В., Витько Л.Г., Савлюк О.Е.
Микробиологические свойства условно-патогенных сахаромикетов рода *Candida* при хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессах (обзор литературы) 19
- Зозуля М.В., Ленкин А.И.
Оценка органной перфузии и волемического статуса с помощью ультразвука 27

Оригинальные исследования

- Гончаров А.Е., Ахременко Я.А., Азаров Д.В., Чепрасов М.Ю., Федоров С.Е., Соломенный А.П., Колодзиева В.В.
Вирус мумии ископаемого волка (*Canis lupus*) как потенциальный источник вирулентных бактериофагов для фаготерапии 35
- Домнин П.А., Захарченко А.Е., Реджепов Д.Т., Ермолаева С.А.
Система для изучения механизмов флокуляции и автоагрегации бактерий, основанная на магнитной левитации 38
- Калинкина Т.В., Ларева Н.В., Чистякова М.В., Серкин М.А.
Ассоциация полиморфизмов генов обмена ангиотензина с диастолической дисфункцией левого желудочка у больных гипертонической болезнью 44
- Скурихина Ю.Е., Папынов Е.К., Зайцева Е.А., Шичалин О.О.
Особенности формирования бактериальных биопленок на керамике различного состава, используемой для ортопедического эндопротезирования 50
- Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Устюгова С.С., Панова С.А., Куцевалова О.Ю.
Ускоренное бактериологическое исследование мочи и диализата при диагностике инфекций мочевыводящих путей у детей 55
- Гордина Е.М., Божкова С.А., Смирнова Л.Н.
Антибактериальное и антибиопленочное действия бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией 59
- Стрельникова Н.В., Царёв В.Н., Антонова А.А., Шаповаленко Е.С., Скоробогатова В.Е.
Феномен симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов полости рта при хронических пародонтитах с рецидивирующим течением 64
- Карташова О.Л., Пашина О.А., Пашкова Т.М., Гриценко В.А., Михайленко С.В.
Биопробы стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом 70

Reviews

- Popov A.F., Besprozvannykh V.V., Sukhanova G.I., Ivanis V.A., Koltakov S.L.
Paragonimus westermani ichunensis: evolution of parasitological situation 5
- Bogdanov R.R., Nurimanshin A.F., Husaenova A.A., Khasanov A.R.
Anesthetic aspects of robot-assisted surgery (a review) 11
- Koltsov I.P., Strelnikova N.V., Vitko E.V., Vitko L.G., Savlyuk O.E.
Microbiological properties of opportunistic saccharomycetes of the genus *Candida* in chronic, recurrent infectious inflammatory processes (literature review) 19
- Zozulya M.V., Lenkin A.I.
Evaluation of organ perfusion and intravascular volume status by ultrasound 27

Original Researches

- Goncharov A.E., Ahremenko Ya.A., Azarov D.V., Cheprasov M.J., Fedorov S.E., Solomenny A.P., Kolodzhieva V.V.
Virome of ancient wolf mummy (*Canis lupus*) as a potential source of virulent bacteriophages for phage therapy 35
- Domnin P.A., Zakharchenko A.E., Rejepov D.T., Ermolaeva S.A.
A magnetic levitation-based system to study the mechanisms of bacterial flocculation and autoaggregation 38
- Kalinkina T.V., Lareva N.V., Chistyakova M.V., Serkin M.A.
Association of gene polymorphisms of angiotensin metabolism with left ventricular diastolic dysfunction in hypertensive patients 44
- Skurikhina Yu.E., Papynov E.K., Zaitseva E.A., Shichalin O.O.
Bacterial biofilm formation on ceramics of various composition used for orthopedic endoprosthetics 51
- Boronina L.G., Samatova E.V., Ustyugova S.S., Panova S.A., Kutsevalova O.Y.
Accelerated bacteriological examination of urine and dialysate in the diagnosis of urinary tract infections in children 55
- Gordina E.M., Bozhkova S.A., Smirnova L.N.
Anti-bacterial and anti-biofilm activity of bacteriophages against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from orthopedic patients 59
- Strelnikova N.V., Tsarev V.N., Antonova A.A., Shapovalenko E.S., Skorobogatova V.E.
Simultaneous vegetation of opportunistic oral microorganisms in chronic periodontitis with recurrent course 64
- Kartashova O.L., Pashina O.A., Pashkova T.M., Gritsenko V.A., Mikhailenko S.V.
Bioprofiles of *Staphylococcus spp.* isolated from prostate secretion in men with chronic bacterial prostatitis 70

Коменкова Т.С., Зайцева Е.А. Оценка этиологической значимости <i>Enterococcus faecalis</i> , выделенных из мочи у детей при инфекции мочевыводящей системы	75
Потапов А.Ф., Шамаева С.Х., Иванова А.А., Семенова С.В. Микрофлора ран и резистентность к антибиотикам у пострадавших с термической травмой	81
Прокопьев В.В., Винникова Ю.В., Передельская Е.А., Сафьянова Т.В. Видовой состав грибов рода <i>Candida</i> у людей с патологией кишечника и здоровых людей	86
Ткачук Е.А., Глобенко Н.Э. Оценка стереотипов питания, физического развития и заболеваемости детей младшего школьного возраста	90
Кузнецов В.В., Крукович Е.В., Шуматов В.Б., Транковская Л.В., Крукович А.А. Анализ показателей качества жизни обучающихся по меди- цинским специальностям в вузах Сахалинской области	94
Сурсякова К.И., Сафьянова Т.В. Совершенствование профилактических мероприятий инфекций мочевыводящих путей, связанных с оказанием медицинской помощи	100

Komenkova T.S., Zaitseva E.A. Evaluating etiological significance of <i>enterococcus faecalis</i> isolated from children with urinary tract infection	75
Potapov A.F., Shamaeva S.H., Ivanova A.A., Semenova S.V. Wound microflora and antibiotic resistance in burn patients	81
Prokopiev V.V., Vinnikova Yu.V., Peredelskaya E.A., Safyanova T.V. Species composition of genus <i>Candida</i> in healthy people and people with intestinal pathology	86
Tkachuk E.A., Globenko N.E. Evaluating nutrition, physical development and morbidity in primary school-aged children	90
Kuznetsov V.V., Krukovich E.V., Shumatov V.B., Trankovskaya L.V., Krukovich A.A. Analysis of quality of life indicators in medical students in the Sakhalin Oblast	94
Sursyakova K.I., Safyanova T.V. Improving prevention measures for healthcare-associated urinary tract infections	100

УДК 616.995.122

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-5-10



Об эволюции паразитологической ситуации по *Paragonimus westermani ichunensis*

А.Ф. Попов^{1,3,4}, В.В. Беспрозванных², Г.И. Суханова¹, В.А. Иванис¹, С.Л. Колпаков¹¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия² Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия³ Дальневосточный филиал Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины, Владивосток, Россия⁴ Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины, Владивосток, Россия

В обзоре представлен анализ паразитологической ситуации в Приморском крае по парагонимозу за последние 30 лет. В начале 90-х годов XX века при плановых медицинских обследованиях парагонимоз выявлялся у 1–6% жителей региона. С 1996 г. ситуация на территории юга Дальнего Востока России претерпела коренные изменения. В течение 1–2 лет популяция речных раков в водотоках от Южного Приморья вплоть до бассейна реки Амур существенно уменьшилась. С 2000 г. наблюдалось сокращение, а в последующем – отсутствие случаев заболевания среди населения региона. С 2014 г. количество речных раков в водотоках Приморского края начало увеличиваться. В 2019 г. зарегистрирован первый пациент с ларвальным парагонимозом. Обобщен опыт сотрудников Краевой клинической больницы Владивостока за период с 1967 по 1996 г. по работе с 368 пациентами с ларвальным парагонимозом. Клиника заболевания проявлялась в среднем через 1–4 недели от момента заражения. Диагноз подтверждался в 97,9% случаев серологическим методом. При лечении празиквантелом пациентов с ларвальным парагонимозом выздоровление наступало в 89% случаев. Продолжительность заболевания составляла от 1–2 до 10 и более лет.

Ключевые слова: парагонимоз, ларвный парагонимоз, *Paragonimus westermani ichunensis*, пневмония, эозинофилия

Поступила в редакцию: 30.03.22. Получена после доработки: 30.12.22. Принята к печати: 16.01.23

Для цитирования: Попов А.Ф., Беспрозванных В.В., Суханова Г.И., Иванис В.А., Колпаков С.Л. Об эволюции паразитологической ситуации по *Paragonimus westermani ichunensis*. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:5–10. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-5-10

Для корреспонденции: Попов Александр Федорович – д-р мед. наук, профессор кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-5166-5569; e-mail: doctor.popov@mail.ru

Paragonimus westermani ichunensis: evolution of parasitological situation

A.F. Popov^{1,3,4}, V.V. Besprozvannykh², G.I. Sukhanova¹, V.A. Ivanis¹, S.L. Kolpakov¹

¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ² Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia; ³ Far Eastern Branch of the State Research and Testing Institute of Military Medicine MO RF, Vladivostok, Russia; ⁴ Far Eastern Federal University, School of Medicine, Vladivostok

The paper presents an analysis of parasitological situation with paragonimiasis in Primorsky Krai over the past 30 years. In the early 1990s regular medical checkups detected paragonimiasis in 1–6% of the inhabitants of the region. Since 1996, the situation in the south of the Russian Far East has changed dramatically. Within 1–2 years, the crayfish population decreased significantly in watercourses from southern Primorye up to the Amur basin. Therefore, the incidence of the disease in population of the region has decreased to zero level since 2000. From 2014 the number of crayfish in watercourses of Primorsky Krai started growing. In 2019 the first patient with larval paragonimiasis was reported. The paper reviews the experience of the Regional Clinical Hospital of Vladivostok in treatment of 368 patients with larval paragonimiasis for the period from 1967 to 1996. On average, the disease manifested itself in 1–4 weeks from the moment of infection. The diagnosis was confirmed in 97.9% of cases via serological method. The praziquantel treatment of patients with larval paragonimiasis resulted in a cure rate of 89%. The disease duration ranged from 1–2 to 10 or more years.

Keywords: paragonimiasis, larval paragonimiasis, *Paragonimus westermani ichunensis*, pneumonia, eosinophilia

Received 30 March 2022. Revised 30 December 2022. Accepted 16 January 2023

For citation: Popov A.F., Besprozvannykh V.V., Sukhanova G.I., Ivanis V.A., Kolpakov S.L. *Paragonimus westermani ichunensis*: evolution of parasitological situation. Pacific Medical Journal. 2023;1:5–10. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-5-10

For corresponding: Popov Alexander Fedorovich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Dept. of epidemiology et military epidemiology Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russia); Far Eastern Branch of the State Research and Testing Institute of Military Medicine MO RF; Far Eastern Federal University, School of Medicine, Vladivostok. ORCID: 0000-0002-5166-5569; e-mail: doctor.popov@mail.ru

Парагонимоз – паразитарная болезнь, вызываемая трематодами. Природные очаги формируют животные, являющиеся резервуаром паразита. У человека

поражаются легкие, подкожная клетчатка, скелетные мышцы и реже – головной мозг или другие органы [1, 2].

Паразитические черви класса сосальщики (*Trematoda*), рода *Paragonimus* – возбудители этой болезни. Представители рода обнаружены в Америке, Африке, на юго-востоке Евразии и островах Тихого океана. В составе рода *Paragonimus* насчитывается более 50 видов, большинство которых эндемичны для территории Восточной, Южной и Юго-Восточной Азии. У человека инвазию вызывают от 7 до 12 видов и подвидов паразитов [1, 3, 4].

Окончательные хозяева паразитов в природе – хищные млекопитающие. Существует мнение, что в спектр их питания входят также пресноводные раки. Последние, в свою очередь, служат пищей для плотоядных млекопитающих, таких как грызуны, кабаны, а также большинства обитателей речных бассейнов. Они становятся потенциальными паратеническими или резервуарными хозяевами паразита. В качестве первого промежуточного хозяина в циркуляции паразитов участвует достаточно широкий спектр переднежаберных моллюсков из 5 надсемейств, а также вторых промежуточных – главным образом разнообразных раков и пресноводных крабов. Есть сведения об участии многих видов животных в отдельных стадиях развития паразитов. Однако экспериментально отношение к паразитарной системе подтверждено только у 9 видов [1, 3, 4].

Широта территориального охвата и большое количество стадий цикла развития указывают на архаичность паразитарной системы паразитов. Однако роль человека, как и резервуарных хозяев, остается дискуссионной. На эти вопросы не отвечают и последние публикации [5, 6].

В настоящем обзоре представлен критический анализ особенностей клиники, диагностики, лечения и эпидемиологии паразитоза в Приморском крае.

Возбудитель легочного паразитоза *Paragonimus westermani ichunensis* эндемичен для юга Дальнего Востока (ДВ) России. Первыми наличие данного возбудителя в природном очаге обнаружили участники 60-й гельминтологической экспедиции в 1928 году. Позже, в 1930–1939 гг., у жителей региона были выявлены первые случаи паразитоза [7].

Изучение природных очагов паразитоза, биологии возбудителя и заболеваемости на юге ДВ проводилось во второй половине XX века. В результате были разработаны лечение и профилактика этой болезни. Таксономический статус паразита *Paragonimus westermani ichunensis* установлен в 1982–1983 гг. на основании морфологических и кариологических данных [8, 9]. Жизненный цикл подвита *Paragonimus westermani* изучен с использованием червей, циркулирующих на территории Китая [10].

На юге ДВ России роль первых промежуточных хозяев исполняют моллюски рода *Parajuga*, вторых промежуточных – пресноводные раки *Cambaroides*, окончательных – млекопитающие. Природные очаги паразитоза и биологию паразита в Приамурье исследовали Л.И. Синович, А.С. Довгалева и П.С. Посохов

[11–13]. В Приморском крае – Ю.В. Курочкин, Г.И. Суханова и В.В. Беспрозванных [14–16]. К 1996 году природные очаги паразитоза обнаружены в бассейне реки Раздольной, бассейнах рек, впадающих в озеро Ханка, и бассейне реки Уссури. На большей части Приморского края в местах совместного обитания моллюсков рода *Parajuga* и раков *Cambaroides*.

Инфицированность моллюсков – первых промежуточных хозяев *P. Westermani ichunensis* – в очагах не превышала 0,1–0,4%. Зараженность вторых промежуточных хозяев – раков (источник инфицирования резервуарных и окончательных хозяев) уже достигала 100%, а интенсивность была до 300 метацеркарий на особь и даже выше [17]. По инфицированности первых промежуточных хозяев косвенно можно судить о низкой численности окончательных хозяев, что характеризует паразитологическую ситуацию как благополучную.

На территории от южной части Приморья до Биробиджана половозрелые черви *P. westermani ichunensis* обнаружены в легких домашних и дальневосточных котлов, барсуков, лисиц, волков и тигров [5, 18]. Наибольшая инфицированность отмечена у тигров. Этот факт требует изучения или гипотетического объяснения. Либо тигры – это вершина пищевой пирамиды, либо они используют в пищу объекты, не характерные для других хищников.

В организме хозяина метацеркарии эксцистируются в начальном отделе тонкой кишки. Через ее стенку личинки проникают в брюшную полость, а через 1–3 дня через диафрагму и плевру попадают в легкие. Здесь формируют кисты. Через 3–4 месяца достигают половой зрелости и начинают откладывать яйца. С мокротой и испражнениями они выделяются во внешнюю среду [6]. Пищевой акт у хищников завершается водопоем чистой речной воды, испражнением и личной гигиеной в том же источнике.

В процессе экспериментального инфицирования метацеркариями *P. Westermani ichunensis* различных животных и анализа данных по зараженности населения и течению паразитоза Ю.В. Курочкин и Г.И. Суханова доказали наличие в цикле паразита паратенического хозяина [19, 20]. Ими было установлено, что у нехищных млекопитающих, таких как крысы, трематоды на стадии личинки локализуются в мышцах хозяина, реже – в полости тела и легких. Личинки из мышц получили название «мышечная личинка», а заболевание – ларвальный паразитоз (ЛП). Авторы указывали, что по морфометрии мышечные личинки мало чем отличаются от эксцистированных метацеркарий.

Исходя из наличия легочной и ларвальной форм паразитоза, Ю.В. Курочкин и Г.И. Суханова предположили, что возбудители этих заболеваний принадлежат разным видам. Однако эта гипотеза не подтвердилась. В результате серии экспериментов (В.В. Беспрозванных, 1994, 2002) было установлено, что при скормлении крысам метацеркарий наряду

с мышечной локализацией червей (ларвальный паразитоз) часть особей может проникать в легкие, где достигает половой зрелости (легочный паразитоз). Мышечные личинки также способны мигрировать в легкие хозяина, вызывая легочную форму паразитоза [15–16]. Таким образом, паразитический или резервуарный хозяин паразита может быть окончательным хозяином.

У кошачьих, псовых и кунных при заражении метацеркариями и мышечными личинками вне зависимости от их размеров черви локализуются в легких. Иначе говоря, они являются окончательными хозяевами [2, 5, 6]. У нехищных млекопитающих и человека развитие той или иной формы заболевания зависит от стадии развития паразита на момент инвазирования. Обе формы заболевания – результат заражения хозяев червями *P. westermani ichunensis*. Следовательно, человек и плотоядные животные служат паразитическими или резервуарными хозяевами. Можно предполагать, что паразитические хозяева являются обязательной стадией, поскольку служат основной пищей окончательных хозяев – хищных животных. С другой стороны, если инвазированный резервуарный хозяин длительное время не стал жертвой хищника, он может стать окончательным хозяином. Вероятно, это направление эволюции паразита в меняющихся условиях антропогенной нагрузки на природу.

Ситуация по паразитозу в середине 90-х годов XX века на территории юга ДВ России изменилась. В течение двух лет в водотоках от Южного Приморья (Хасанский район) до бассейна реки Амур отмечалась гибель речных раков. Существуют разные объяснения: от хищнического промысла речных раков жителями сопредельных стран, борьбы с распространением холеры, промышленными сбросами до локальной эпизоотии. И глобальных явлений, как «шестое массовое вымирание в истории Земли», уже отразившееся на моллюсках, которые составляют второй по величине тип беспозвоночных животных [21].

В результате сокращения популяции второго промежуточного хозяина прохождение жизненного цикла у *P. westermani ichunensis* стало затруднительным. В течение 4–5 лет после «исчезновения» раков в реках обнаруживались моллюски, выделяющие церкарий паразитоза. Позднее, на протяжении более 14 лет, инвазированность первых промежуточных хозяев не выявлялась [2, 6]. Отсутствие инвазированности у первых промежуточных хозяев длительные годы свидетельствует о сокращении популяций окончательных хозяев.

Продолжительность жизни наиболее многочисленных окончательных хозяев *P. westermani ichunensis* (енотовидных собак, лисиц, диких котов) составляет в природе от 3 до 10 лет. Их заражение, вероятнее всего, происходит в результате питания грызунами у бассейнов рек. Ввиду небольшой продолжительности жизни грызунов популяция *P. westermani ichunensis* на юге ДВ России оказалась на грани выживания [2].

Стабильным резервуаром сохранения паразита на рассматриваемой территории являются инвазированные дикие кабаны – паразитические хозяева. Они поедают падаль и концентрируют паразитов, при этом входят в спектр питания окончательных хозяев – амурских тигров, ключевого, но немногочисленного звена [22]. Продолжительность жизни тех и других в природе достигает 14–15 лет. В 90-х годах XX века из 16 обследованных тигров 7 были инвазированы паразитами с интенсивностью от 40 до 546 особей [6]. По данным на период 2007–2011 гг., из 21 обследованного тигра только у 3 (два были молодыми, 3 и 6 лет) были обнаружены половозрелые черви паразитоза в количестве 28–50 особей [23–24]. С 2000 года заболевания людей были редкими, а последние 15 лет отсутствовали среди населения региона.

С 2014 года отмечается восстановление популяции речных раков в водотоках Приморского края, в частности в реках Комиссаровка и Нестеровка, бассейна озера Ханка. Наличие инвазированных тигров и паразитических хозяев, моллюсков рода *Parajuga* (первые промежуточные хозяева) и раков *Cambaroides* (вторые промежуточные хозяева) способствует медленному воспроизводству паразита [2, 6].

Пораженность населения в эндемичных зонах прямо пропорциональна степени зараженности ракообразных метацеркариями паразитоза. Она определяется этническими традициями и привычками питания у части населения, употреблением в пищу сырого мяса пресноводных раков и крабов, а также диких и домашних животных [13, 25]. В последние годы на паразитологической ситуации эндемичных территорий сказывается изменение пищевых привычек и предпочтений населения, изменение образа жизни и социальных условий. Поэтому заболеваемость паразитозом в Приморском крае будет сохраняться, но паразитологическая ситуация напряженной, как прежде, быть не может.

Значительный вклад в изучение клинико-функциональных и морфологических изменений при заболевании, вызываемом *P. westermani ichunensis*, был сделан Г.И. Сухановой [26–28]. Доказано, что патологическая анатомия паразитоза мало зависит от подвида возбудителя и обусловлена стадиями жизненного цикла паразита: миграция личинок, кистозная стадия, организация. Клеточные реакции также относительно специфичны и отражают последовательные стадии воспаления со сменой альтеративно-экссудативных процессов на пролиферативно-склеротические при наличии высокой эозинофилии, характерной для большинства паразитарных инвазий [28].

Типичный паразитоз диагностируется, когда трематода проникает в легкие, где формирует кисты, достигает половой зрелости. Яйца паразита выделяются с мокротой и испражнениями, обнаруживаются в содержимом желудка и кишечника. В этом случае человек становится дефинитивным и окончательным хозяином. При ЛП человек для паразита представляет

биологический тупик. Но теоретически может стать и резервуарным хозяином. Именно ЛП наиболее часто регистрировался в Приморском крае. Гельминт паразитирует в личиночной стадии и не достигает половой зрелости, локализуясь в мышцах, серозных полостях, легких и других органах. Для клиники характерна острая стадия с рецидивами поражений бронхолегочного аппарата, токсико-аллергическими явлениями, эозинофилией [28].

При плановых медицинских осмотрах в начале 90-х годов XX века в Приморье парагонимоз выявлялся у 1–6% обследованных лиц. С 1967 по 1996 год авторы наблюдали 368 больных с ЛП, находившихся на лечении в Краевой клинической больнице Владивостока. Продолжительность заболевания была от 1–2 до 10 и более лет. Острый парагонимоз выявлялся у 248 человек с длительностью заболевания до 1 года. Подострая форма (продолжительность болезни свыше 1 года) обнаруживалась у 20 пациентов, а хроническая форма (болезнь протекала свыше 2 лет) у 100 человек. Возраст больных колебался от 16 до 65 лет, среди них мужчин – 220, женщин – 148. Все пациенты заразились при употреблении в пищу сырых раков. Клиника заболевания регистрировалась в среднем через 1–4 недели от момента заражения [28, 29].

Клиника ЛП характеризуется выраженным полиморфизмом. Симптоматику можно объединить в четыре основных клинических синдрома, отражающих патогенетическую последовательность развития инвазии: абдоминальный, токсико-аллергический, легочный, неврологический [27, 28].

Абдоминальный синдром проявляется болями в животе, тошнотой, рвотой, расстройством стула. Эти симптомы обусловлены миграцией личинок парагонимусов через кишечную стенку в брюшную полость.

Токсико-аллергический синдром формируется реакцией организма на антигены паразита и поврежденные по пути его миграции ткани, проявляется общей слабостью, лихорадкой, потливостью, похуданием, артралгией, уртикарной сыпью.

Легочный синдром – основной в клинической картине болезни, начинается с проникновения личинок в плевральную полость и манифестируется острыми сильными болями в грудной клетке, надсадным сухим кашлем, умеренной одышкой, повышением температуры. У редких больных в мокроте отмечаются единичные прожилки крови.

Неврологический синдром проявлялся головной болью, головокружением, проходящими нарушениями зрения, признаками раздражения мозговых оболочек, симптомами вестибулопатии.

У одного пациента с острой формой парагонимоза в возрасте 21 года наблюдался летальный исход. Это позволило досконально изучить морфологические изменения. Смерть наступила через 5 месяцев после заражения от черепно-мозговой травмы. На вскрытии в легких обнаруживались личинки парагонимуса без признаков половой зрелости. Основные изменения,

регистрируемые при рентгенографическом исследовании органов грудной клетки, были следующими [28].

1. Очаговые и инфильтративные затемнения в легких – наиболее характерный признак ларвального парагонимоза.

2. Мелкие кистовидные просветления (вакуоли) на месте инфильтратов – появляются на месте очаговых и инфильтративных затемнений 0,3–0,5 см в диаметре.

3. Экссудативный плеврит – обязательный патоморфологический и частый рентгенологический признак ЛП – запаянность синусов, уплощение диафрагмы, утолщение костальной плевры.

4. Спонтанный пневмоторакс.

5. Усиление и деформация легочного рисунка.

6. Плевральные наложения и сращения.

Дифференциальную диагностику ЛП проводят с бронхолегочными заболеваниями, имеющими сходную клиническую картину: пневмонией, острым и хроническим обструктивным бронхитом, бронхиальной астмой, туберкулезом.

При установленном диагнозе ЛП и нелеченой инвазии характерно длительное торпидное рецидивирующее течение бронхолегочного поражения с клиникой плеврита, спонтанного пневмоторакса, хронической эозинофильной пневмонии, бронхита. Пациенты безуспешно лечатся у врачей различных специальностей. Личинки парагонимов остаются живыми более 10 лет, и наибольшие диагностические трудности представляет ЛП в латентной и хронической фазе болезни. Лишь в 5% подобных случаев до установления диагноза возникает подозрение на парагонимоз.

Диагноз типичного парагонимоза подтверждают обнаружением яиц паразита в мокроте (до 72%), в желудочном, дуоденальном содержимом и кале (до 65% случаев), а также результатами серологических реакций – непрямой гемагглютинации, латекс-агглютинации, иммуноферментным анализом. Диагностика ЛП проводится только с использованием серологических реакций. При микроскопическом исследовании яиц парагонимуса в экскретах не выявляются. При ЛП наибольшей чувствительностью отличается метод иммуноферментного анализа, позволяющий получить серологическое подтверждение диагноза в 97,9% случаев [30, 31].

Для лечения парагонимоза вначале использовали тетрахлордифенилсульфид. Однако при ларвальной форме его терапевтическая эффективность была низкой. Появление празиквантела для лечения ЛП изменило прогноз и исход заболевания. Доза празиквантела составляет 40–60 мг на 1 кг массы тела пациента. Препарат применяют в течение одного дня, суточную дозу делили на 2 или 3 приема после еды. Эффективность лечения при типичном парагонимозе составляла 95–97%, при ЛП – 89%. Повторный курс лечения проводили через 3–4 месяца после первого [28].

После длительного перерыва в Приморском крае стали выявляться новые случаи заражения инвазией

у человека [2]. Так, ЛП выявлен в августе 2019 года у 54-летнего пациента, употреблявшего сырых раков из озера Ханка. У пациента наблюдалась лихорадка в течение трех недель, интоксикация, экзантема, одышка, боли в грудной клетке, мелкопузырчатые хрипы с инфильтративными изменениями на рентгенограмме легких, лейкоцитозом до 21 000 и эозинофилией до 35%. Проведенная терапия антибиотиками в течение двух недель в условиях терапевтического стационара эффекта не дала. И только после консультации инфекциониста и назначения альбендозола по 800 мг/сутки в течение 7 дней (празиквантел отсутствовал в РФ) произошло обратное развитие заболевания: нормализация температуры, исчезновение сыпи и инфильтративных затенений в легких, снижение лейкоцитоза до 10 000 и эозинофилов до 20%. Диагноз установлен клинически. Через 1,5 месяца после перенесенного заболевания все анализы были в норме. Однако подтвердить диагноз не представлялось возможным из-за отсутствия в России специфического диагностикума.

Заключение

Отсутствие эпидемиологической настороженности врачей Приморского края диктует необходимость напоминания о парагонимозе как эндемичном заболевании.

При отсутствии информированности населения и медицинских специалистов о заболевании, сложности дифференциации парагонимоза от заболеваний иной этиологии произойдет рост числа инфицированных. Поэтому медицинским работникам предстоит подготовить реактивы для ИФА, изучить особенности современного течения болезни, рассмотреть варианты этиотропного лечения с учетом наличия противопаразитарных средств, обосновать продолжительность диспансерного наблюдения.

Для профилактики роста заболеваемости парагонимозом среди населения юга ДВ в регионе необходим ежегодный мониторинг экологических систем на выявление формирующихся и имеющих очагов заболевания. Следует возобновить подготовку специалистов с изучением биологии паразита, его распространения, симптоматики и патологии заболевания, методов диагностики, а также развернуть санитарно-просветительную работу с населением о возможности и путях заражения паразитом.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – АФП, ГИС, ВВБ
Сбор и обработка материала – АФП, ГИС, ВВБ, ВАИ
Написание текста – АФП, ВАИ, СЛК
Редактирование – АФП, СЛК

Литература / References

1. Курочкин Ю.В. Трематоды фауны СССР. Парагонимиды. М.: Наука, 1987. 148 с. [Kurochkin Yu.V. *Trematodes of USSR fauna. Paragonimiasis*. Moscow: Nauka; 1987; 148 p. (In Russ.)].
2. Попов А.Ф., Суханова Г.И., Беспрозванных В.В., Иванис В.А., Довгалева А.С., Деделькина К.С. Парагонимоз в Приморском крае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2020;4:17–23. [Popov AF, Suhanova GI, Besprozvanny VV, Ivanis VA, Dovgalev AS, Dedelkina KS. Paragonimiasis in Primorsky Krai. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2020;4:17–23 (In Russ.)]. doi: 10.33092/0025-8326mp2020.4.17-23
3. Singh TS, Sugiyama H, Rangsiruji A. Paragonimus and paragonimiasis in India. *Indian J Med Res*. 2012;136:192–204.
4. Kong Y, Doanh PN, Nawa Y. Paragonimus. In: Xiao L, Ryan U, Feng YY. (eds) *Biology of foodborne parasites*. CRC Boca Raton, FL. 2015; 445–462 p.
5. Беспрозванных В.В., Ермоленко А.В. Природно-очаговые гельминтозы человека в Приморском крае. *Владивосток: Дальнаука*, 2005. 119 с. [Besprozvannykh VV, Ermolenko AV. *Natural focal helminthiasis of human in Primorsky Krai*. Vladivostok: Dalnauka; 2005; 119 p. (In Russ.)].
6. Белов Ю.А., Воронова А.Н., Любченко Е.Н., Табакаева Т.В., Короткова И.П., Беспрозванных В.В., Щелканов М.Ю. Paragonimus westermani ichunensis и парагонимоз на юге Дальнего Востока России: вчера, сегодня и завтра. *Российский паразитологический журнал*. 2021;15(1):42–9. [Belov YA, Voronova AN, Lyubchenko E.N, Tabakaeva TV, Korotkova IP, Besprozvannykh VV, Shchelkanov MYu. Paragonimus westermani ichunensis and paragonimosis in the south of the Russian Far East: yesterday, today and tomorrow. *Russian Journal of Parasitology*. 2021;15(1):42–9 (In Russ.)]. doi: 10.31016/1998-8435-2021-15-1-42-49
7. Даниленко М.В. Парагонимоз. М.: Медгиз, 1963. 168 с. [Danilenko MV Paragonimiasis. Moscow: Medgiz; 1963. 168 p. (In Russ.)].
8. Oshima TV, Amano H, Kurochkin Ju. Karyotype analysis of Paragonimus sp. of coastal Siberia. *Jap. J. Parasitol*. 1982;31(1):14.
9. Shimazu T, Oshima T. Morphology and development of a lung fluke of the genus Paragonimus (Trematoda: Paragonimidae) from Primor'e, USSR, in snails, Semisulcospiralibertina, in the laboratory. *Journal of Nagano-ken Junior College*. 1983;38:7–15.
10. Chung HL., Hsu CP, Kao PC. Preliminary studies on paragonimiasis in Ichun, Hokaing and Mutankiang areas of Heilungkiang province with observations on a new subspecies of Paragonimus westermani – Paragonimus westermani ichunensis. *Ibid*. 1978;4(5):349–67.
11. Синович Л.И. Парагонимоз на советском Дальнем Востоке. *Кишечные инфекции и борьба с ними в областях и краях Дальнего Востока*. Хабаровск, 1967. 111–112 с. [Sinovich LI. Paragonimiasis in the Soviet Far East. In: *Intestinal infections and fight against them in Far East regions and territories*. Khabarovsk, 1967. 111–112 p. (In Russ.)].
12. Довгалева А.С., Посохов П.С., Юдин В.Г. Зоонозные трематоды енотовидной собаки и лисицы южной части Дальнего Востока. *Гельминтозы Дальнего Востока. Вып. 2*. Под ред. Барашникова А.И. Хабаровск, 1973. 55–57 с. [Dovgalev AS, Posokhov PS, Yudin VG. Zoonotic trematodes of raccoon dog and fox in the Southern part of Far East. In: Barashnikov A.I., editor. *Helminthiasis of Far East. Issue 2*. Khabarovsk; 1973. 55–57 p. (In Russ.)].
13. Посохов П.С., Шабанов Л.В. Изучение биологии дальневосточных трематод и эпидемиологии вызываемых ими заболеваний. *Сообщ. I. Видовой состав дальневосточных парагонимусов. Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1977;46(5):599–602. [Posokhov PS, Shabanov LV. Study of biology of Far Eastern trematodes and epidemiology of diseases caused by them. Communication I. Species composition of Far Eastern paragonimus. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 1977;46(5):599–602 (In Russ.)].

14. Курочкин Ю.В., Суханова Г.И. Ларвальный парагонимоз человека и животных. *Труды Азиатского конгресса паразитологов*. Бомбей, 1978. 118 с. [Kurochkin YuV, Sukhanova GI. Larval paragonimiasis of humans and animals. In: Works of Asian Congress of Parasitologists. Bombay, 1978. 118 p. (In Russ.)].
15. Беспрозванных В.В. Биология *Paragonimus westermani ichunensis* в условиях Приморского края. Экспериментальные исследования. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1994;4:28–32. [Besprozvannykh VV. Biology of *Paragonimus westermani ichunensis* in Primorsky Krai. Experimental studies. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 1994;4:28–32 (In Russ.)].
16. Беспрозванных В.В. Развитие *Paragonimus westermani ichunensis* в резервуарном хозяине. *Паразитология*. 2002;36(5):427–30. [Besprozvannykh VV. Development of *Paragonimus westermani ichunensis* in a reservoir host. *Parasitology*. 2002;36(5):427–30 (In Russ.)].
17. Нивин Е.А. Парагонимоз и его медико-ветеринарные аспекты. *Взаимоотношения паразита и хозяина*. М., 1998. 45 с. [Nivin EA. Paragonimiasis and its medical and veterinary aspects. In: Relationship of parasite and host. Moscow, 1998. 45 p. (In Russ.)].
18. Дворядкин В.А., Юдин В.Г. Трематоды диких плотоядных (сем. Canidae) юга Дальнего Востока СССР, пути их распространения и формирования фауны. *Экология и зоогеография некоторых позвоночных суши Дальнего Востока*. Под ред. Бромлей Г.Ф., Юдин В.Г. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1978. 102–110 с. [Dvoryadkin VA, Yudin VG. Trematodes of wild carnivores (Canidae genus) of USSR Far East South, distribution routes and fauna formation. In: Bromley G.F., Yudin V.G, editors. *Ecology and Zoogeography of Some Vertebrate Animals of Far East*. Vladivostok: DVNTS AN SSSR, 1978. 102–110 p. (In Russ.)].
19. Курочкин Ю.В., Суханова Г.И. Новое в проблеме парагонимоза животных и человека. *Паразитология*. 1980;13(4):295–8. [Kurochkin YuV, Sukhanova GI. New information in the problem of paragonimiasis of animals and humans. *Parasitology*. 1980;13(4):295–8 (In Russ.)].
20. Курочкин Ю.В., Суханова Г.И., Киэу Тунг Лам. Парагонимоз. *Гельминтозы человека*. М.: Медицина, 1985. 128–132 с. [Kurochkin YuV, Sukhanova GI, Kieu Tung Lam. Paragonimiasis. In: *Human Helminthiasis*. Moscow: Medicine, 1985. 128–132 pp. (In Russ.)].
21. Cowie RH, Bouchet P, Fontaine B. The Sixth Mass Extinction: fact, fiction or speculation? *Biol Rev*. 2022;97:640–63. doi: 10.1111/brv.12816
22. Юдин В.Г. Глистные инвазии хищных млекопитающих Приморья и Приамурья. *Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства*. Под ред. Ширяева В.В. Киров: ГНУ ВНИИОЗ им. проф. Б.М. Житкова, 2012. 314–316 с. [Yudin VG. Helminthic invasions of predatory mammals in Primorye and Priamurye. In: Shiryayev VV, editor. *Modern Problems of Nature Management, Hunting, Animal Farming*. Kirov: GNU VNIIOZ im. prof. BM. Zhitkova, 2012. 314–316 p. (In Russ.)].
23. Любченко Е.Н., Короткова И.П., Иванчук Г.В. Болезни незаразной этиологии амурского тигра. *Болезни и паразиты диких животных Сибири и Дальнего Востока России*. Под ред. Середкин И.В., Микелл Д.Г. Владивосток: Дальнаука, 2012. 75–81 с. [Lyubchenko EN, Korotkova IP, Ivanchuk GV. Amur tiger diseases of non-contagious etiology. In: Seredkin IV, Mikell DG, editors. *Wild Animal Diseases and Parasites in Siberia and Far East of Russia*. Vladivostok: Dalnauka, 2012. 75–81 p. (In Russ.)].
24. Середкин И.В., Есаулова Н.В., Мухачева А.С., Путриненко Ю.К., Микелл Д.Г. Эндопаразитофауна крупных хищных млекопитающих в Приморском крае. *Болезни и паразиты диких животных Сибири и Дальнего Востока России*. Под ред. Середкин И.В., Микелл Д.Г. Владивосток: Дальнаука, 2012. 127–136 с. [Seredkin IV, Esaulova NV, Mukhacheva AS, Putrinenko YuK, Mikell DG. Parasitic fauna of large predatory mammals in Primorsky Krai. In: Seredkin IV, Mikell DG, editors. *Wild Animal Diseases and Parasites in Siberia and Far East of Russia*. Vladivostok: Dalnauka, 2012. 127–136 p. (In Russ.)].
25. Беспрозванных В.В. Некоторые особенности биологии *Paragonimus westermani ichunensis*. *История развития и современные проблемы гельминтологии в России*. Москва, 1999. 7 с. [Besprozvannykh VV. Some biological features of *Paragonimus westermani ichunensis*. In: *Development History and Modern Problems of Helminthology in Russia*. Moscow, 1999. 7 p. (In Russ.)].
26. Попов А.Ф., Суханова Г.И., Невзорова В.А. Паразитарные поражения легких. Респираторная медицина: руководство в 3 т. Под ред. Чучалина А.Г. М.: ГЭОТАР, 2017. Т. 2. 157–163 с. [Popov AF, Sukhanova GI, Nevzorova VA. Parasitic lesions of lungs. In: Chuchalin A.G. editor. *Book Respiratory Medicine: 3-volume manual*. Moscow: GEOTAR, 2017. V. 2. 157–163 p. (In Russ.)].
27. Суханова Г.И. Ларвальный парагонимоз человека в Приморском крае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1984;53(5):20–3. [Sukhanova GI. Larval paragonimiasis of humans in Primorsky Krai. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 1984;53(5):20–3 (In Russ.)].
28. Суханова Г.И., Каминский Ю.В. *Парагонимоз: типичная и ларвальная формы, клиника, патологическая анатомия, диагностика, лечение*. Владивосток: Медицина ДВ, 1998. 136 с. [Sukhanova GI, Kaminsky YuV. Paragonimiasis: typical and larval forms, clinic, pathological anatomy, diagnosis, treatment. Vladivostok: Medicina DV, 1998. 136 p. (In Russ.)].
29. Наумова И.В., Суханова Г.И., Шитер С.В. О некоторых особенностях клиники, диагностики, лечения ларвального парагонимоза. *Юбилейный сборник научных трудов ученых медиков*. Владивосток, 1994. 46–52 с. [Naumova IV, Suxanova GI, Shiter SV. About some specifics of the clinics, diagnostics and treatment of larval paragonimiasis. In: *Jubilee Collection of Scientific Works of Medical Scientists*. Vladivostok, 1994. 46–52 p. (In Russ.)].
30. Суханова Г.И., Шитер С.В. О первичном иммунном ответе при ларвальном парагонимозе. *Медицинские проблемы Южного Приморья*. Под ред. Татаркина Н.Д. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 1987. 30–33 с. [Suxanova GI, Shiter SV. On the primary immune response in larval paragonimiasis In: ND Tatarkin, editor. *Medical Problems of South Primorye*. Vladivostok: Izd-vo Dal'nevost. un-ta, 1987. 30–33 p. (In Russ.)].
31. Шитер С.В. Диагностика заболеваний легких паразитарной этиологии у жителей, проживающих в районе рек на западе Приморского края. *Медико-социальные аспекты проблемы «Человек–Океан»*. Под ред. Каминский Ю.В., Черток В.М. Владивосток: изд. ВГМИ, 1988. 171–172 с. [Shiter SV. Diagnosis of lung diseases of parasitic etiology in residents living in the river area in the west of Primorsky Krai. In: Kaminskiy YuV, Chertok VM, editors. *Medical and Social Aspects of the Problem "Human–Ocean"*. Vladivostok: izd. VGMI, 1988. 171–172 p. (In Russ.)].

УДК 616.381-089-072.1:[617-7:681.5]

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-11-18



Анестезиологические аспекты робот-ассистированных оперативных вмешательств

Р.Р. Богданов¹, А.Ф. Нуриманшин¹, А.А. Хусаенова¹, А.Р. Хасанов²¹ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Уфа, Россия² Городская клиническая больница №21, г. Уфа, Россия

Внедрение новых методов робот-ассистированных и лапароскопических оперативных вмешательств позволяет расширить показания к операциям, а с другой – породило ряд специфических проблем, связанных с техническими особенностями малоинвазивного лечения. Последнее заставляет по-новому рассмотреть влияние хирургической агрессии на пациента. Детального анализа требует влияние пневмоперитонеума и положения пациента на венозный возврат, изменения регионального кровотока и сопутствующие сдвиги некоторых гомеокинетических систем. В обзоре описаны особенности анестезиологического обеспечения робот-ассистированных оперативных вмешательств. Антифизиологическое положение на операционном столе, напряженный карбоксиперитонеум и карбокситоракс оказывают влияние на сердечно-сосудистую и дыхательную системы, функцию почек, печени, кишечника, систему свертывания крови, иммунную систему и механизмы терморегуляции, особенно у пациентов с сопутствующими заболеваниями, а время операции и анестезии требует от врача кроме знаний патофизиологии умение прогнозировать ход событий и принимать действия, направленные на предотвращение развития осложнений. Робот-ассистированные оперативные вмешательства, несмотря на малотравматичность, обладают рядом особенностей, которые необходимо учитывать во время подготовки пациента к операции, выбора способа оперативного вмешательства и ведения в периоперационном периоде.

Ключевые слова: лапароскопия, робот-ассистированная хирургия, карбоксиперитонеум, карбокситоракс, положение пациента

Поступила в редакцию: 16.01.23. Получена после доработки: 20.01.23, 21.01.23. Принята к публикации: 14.03.23

Для цитирования: Богданов Р.Р., Нуриманшин А.Ф., Хусаенова А.А., Хасанов А.Р. Анестезиологические аспекты робот-ассистированных оперативных вмешательств. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:11–18. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-11-18

Для корреспонденции: Нуриманшин Алмаз Флюсович – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии-реанимации Клиники БГМУ (450083, Уфа, ул. Шафиева, 2); ORCID: 0000-0003-0481-5023; e-mail: almaz.nurimanshin@mail.ru

Anesthetic aspects of robot-assisted surgery (a review)

R.R. Bogdanov¹, A.F. Nurimanshin¹, A.A. Husaenova¹, A.R. Khasanov²¹ Bashkir State Medical University, Ufa, Russia; ² City Clinical Hospital No. 21, Ufa, Russia

The introduction of modern robot-assisted and laparoscopic methods of surgical interventions have extended the range of surgical indications, at the same time as raising a number of specific problems related to the technical features of minimally invasive treatment. This fact makes us consider the effect of surgical aggression on the patient from a new perspective. In particular, the influence of pneumoperitoneum and the patient's position on venous return, regional blood flow changes, and concomitant shifts of some homeokinetic systems require elucidation. This article reviews the available literature to describe the main features of anesthesia during robot-assisted surgical interventions. Recommendations from systematic reviews and meta-analyses were used. The search depth comprised the period of 12 years (2011–2022). Such factors as antiphysiological position on the operating table, tense carboxyoperitoneum, and carboxythora affect almost all organs and many regulatory mechanisms, thus having a pathological effect on the cardiovascular and respiratory systems, kidney, liver, intestines, blood coagulation system, immune system, and thermoregulation mechanisms. These effects are particularly pronounced in patients with concomitant diseases. In addition to knowledge in the field of pathophysiology, surgeons should be capable of predicting the course of events to take actions aimed at preventing the development of complications. Robot-assisted surgical interventions, although being less traumatic, are characterized by specific features that should be taken into account when preparing a patient to undergo surgery, selecting an optimal method of surgical intervention, and managing the patient in the intra- and postoperative period with rehabilitation.

Keywords: laparoscopy, robot-assisted surgery, carboxyoperitoneum, carboxythora, patient position

Received 16 January 2023. Revised 20, 21 January 2023. Accepted 14 March 2023

For citation: Bogdanov R.R., Nurimanshin A.F., Husaenova A.A., Khasanov A.R. Anesthetic aspects of robot-assisted surgery (a review). *Pacific Medical Journal*. 2023;1:11–18. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-11-18

Corresponding author: Almaz F. Nurimanshin, anesthesiologist of Department of Anesthesiology and Intensive Care, Clinic of BSMU (2 Shafieva str., Ufa, 450083, Russia); ORCID: 0000-0003-0481-5023; e-mail: almaz.nurimanshin@mail.ru

Качество и эффективность медицинской помощи хирургического профиля определяют новые методы диагностики, хирургической тактики, анестезиологического обеспечения и усиление роли реабилитации

© Богданов Р.Р., Нуриманшин А.Ф., Хусаенова А.А., Хасанов А.Р., 2023

в комплексном лечении пациентов [1–3]. С появлением эндоскопической хирургии выявлены неоспоримые положительные стороны малоинвазивных методов лечения [4, 5]. Основной проблемой в анестезиологии и реаниматологии во время данных оперативных вмешательств является коррекция изменений гомеостаза, возникающих с наложением карбоксиперитонеума (КП), карбокситоракса (КТ), изменением интраоперационного положения пациента. КП и положение пациента вызывают гемодинамические изменения: снижаются сердечный выброс и ударный объем, повышается общее периферическое сосудистое сопротивление [6, 7]. Вследствие КТ увеличивается давление в дыхательных путях, содержание углекислого газа (CO_2) в конце выдоха, а также возрастание парциального давления CO_2 артериальной крови. Все эти изменения способствуют созданию высокой нагрузки на адаптационные системы организма [6, 7, 8].

Лапароскопические оперативные вмешательства прочно вошли в клиническую практику и активно продолжают развиваться. Так, лапароскопическая холецистэктомия считается предпочтительной для лечения неосложненного холецистита [9]. Довольно продолжительное время выполняют иссечение паховой грыжи с пластикой лапароскопическим методом. Частота рецидивов после таких операций составляет всего 1,1–2,0%. С помощью лапароскопической хирургии можно также оперировать любые формы острого аппендицита [10]. Одним из этапов развития лапароскопии является робот-ассистированная хирургия (РАХ) [11]. Робот-ассистированные оперативные вмешательства (РАОВ) получили широкое распространение и прочно вошли в практику стационаров с возможностью дальнейшего развития и внедрения в различные области хирургии [12, 13].

Преимущества РАОВ заключаются в минимальной травматизации при выполнении радикальных операций, снижении времени стационарного лечения и реабилитации пациента, формировании минимальных косметических дефектов после операции. Методы РАХ активно применяются в урологии, онкологии, проктологии, торакальной и абдоминальной, сердечно-сосудистой хирургии, гинекологии [14, 15].

Нефизиологическое положение пациента во время РАОВ, КП и КТ меняют компенсаторные и адаптивные процессы. Отмечается, в частности, негативное воздействие на дыхательную и сердечно-сосудистую системы, желудочно-кишечный тракт, гомеостаз, иммунологический статус и терморегуляцию [16–19].

В настоящей работе проведен анализ состояния функциональных систем организма и специфики анестезиологического обеспечения при проведении РАОВ.

Основные технические аспекты и методы анестезиологического обеспечения РАОВ

В абдоминальной хирургии РАОВ используют для восстановления кишечной непрерывности, удаления опухолей, гемиколэктомии; в онкоуроло-

гии – для резекции почки, нефрэктомии, простатэктомии, цистэктомии, эвисцерации; в гинекологии – для экстирпации и ампутации матки, миомэктомии; в торакальной хирургии – для фундопликации, лобэктомии, декорткации, тиреоидэктомии и тимэктомии; в лор-операциях – для радикальной тонзиллэктомии, резекции основания языка, надгортанной ларингэктомии; в кардио- и сосудистой хирургии – для аортокоронарного шунтирования, маммарокоронарного шунтирования, хирургии митрального и аортального клапанов, хирургии аритмий, аортобедренного шунтирования и протезирования.

Любое успешное хирургическое оперативное вмешательство складывается из основных компонентов: техническое выполнение, предоперационная подготовка и послеоперационное ведение пациента, адекватное анестезиологическое пособие, немаловажной является командная работа хирургической и анестезиологической бригад. Важным на этапе освоения техники и методики РАОВ является значительное удлинение времени выполнения операций. Поэтому в первое время необходимо проводить отбор пациентов с I–II степенью риска по классификации Американского общества анестезиологов (ASA). После того как уровень владения техникой роботической хирургии будет повышаться, длительность операций снизится до 1,5–2,5 часа, что даст возможность расширить критерии отбора пациентов с более высоким риском (ASA III). Также необходимо отметить, что по длительности РАОВ выполняют в любом случае дольше в сравнении с традиционными открытыми вмешательствами, что может стать причиной «тяжелых» отклонений гомеостаза [4, 19, 20, 21].

Одним из главных критериев успешности всего оперативного вмешательства является положение пациента во время операции, обеспечивающее правильный доступ и правильную ориентацию инструментов. В зависимости от типа операции роботизированная хирургия может потребовать хирургического позиционирования, которое является относительно экстремальным с применением большего угла отклонения операционного стола, чем при других традиционных или лапароскопических операциях. Это положение увеличивает риск соскальзывания пациентов с операционного стола, что делает неизбежным использование средств фиксации [19]. Другой проблемой РАОВ являются пространственные ограничения, связанные с размещением громоздкого оборудования. Они требуют правильного расположения анестезиологической аппаратуры, а также разработки и обучения хирургической бригады для быстрого отсоединения роботизированной системы в экстренных жизнеугрожающих пациенту ситуациях [16, 19].

Считается, что при РАОВ выбор комбинированной анестезии с интубацией трахеи является оптимальным. Только так возможно поддерживать оптимальные показатели гемодинамики, биомеханики дыхания, контролировать оксигенацию, устранить риск интраоперационной регургитации с последующей аспирацией,

добиться необходимого уровня миорелаксации и нейровегетативной защиты, чтобы создать приемлемые условия для хирургических манипуляций [13].

Анестезиологическое обеспечение при РАОВ мало отличается от пособия при классических оперативных вмешательствах. В качестве препаратов выбора для ингаляционной анестезии являются севофлуран или десфлуран, так как они более управляемы за счет быстрой элиминации после окончания подачи газа, что способствует быстрому пробуждению с минимизацией побочных эффектов [21]. Безопасность и эффективность севофлурана подтверждена при одновременном применении с различными лекарственными средствами, которые часто используются в хирургической практике. К ним также относятся препараты, влияющие на функции центральной и вегетативной нервной системы, миорелаксанты, антибиотики, гормоны, включая эпинефрин, и препараты крови и кровезаменители [22].

В литературе отдельно отмечается метод тотальной внутривенной анестезии (ТВВА) с использованием комбинации «пропофол + фентанил», что вызывает уменьшение частоты послеоперационной тошноты и рвоты (ПОТР) по сравнению с ингаляционной анестезией [23]. Используются также сочетанные виды анестезии с применением регионарных методик, при которых отмечается более быстрое восстановление и ранняя активизация пациентов, уменьшение необходимости использования опиоидных анальгетиков и снижение частоты ПОТР.

Существует ряд исследований, описывающих достижение необходимого блока чувствительности с помощью так называемого ESP блока (Erector Spinae Plane block). Эта методика применяется с 2016 года для лечения некупируемой нейропатической боли (первый случай – вследствие поражения ребер метастазами, а второй – при множественных переломах ребер). Имеются данные о 10 случаях, когда данный метод применялся при торакоскопических операциях с использованием видеоассистированных технологий [24]. Это безопасный и относительно простой метод, суть которого заключается во введении анестетика за мышцу, выпрямляющую позвоночник. В этом случае блокируется больше кожное распространение чувствительности, чем при паравертебральной блокаде. С целью послеоперационного обезболивания возможна установка катетера для продленной ESP-аналгезии [25].

Особое значение при РАОВ имеет адекватная миорелаксация. Недостаточная релаксация затрудняет выполнение хирургических манипуляций в брюшной полости, что приводит к ухудшению видимости и к удлинению продолжительности операции, увеличивает давление в брюшной полости и усугубляет нежелательные эффекты КП. Согласно современной стратегии быстрой и ранней реабилитации пациентов (Fast-track хирургия) в научных источниках описано широкое применение миорелаксантов средней продолжительности действия до 20–50 мин (эсмерон, нимбекс) [21].

Во многих клиниках при ТВВА с ИВЛ миорелаксацию поддерживают болюсным ведением рокурония бромида в пределах 0,3–0,6 мг/кг/ч, а в случае применения ингаляционной анестезии на основе севофлурана – в дозе 0,3–0,4 мг/кг/ч.

Анестезиологическое обеспечение должно происходить по принципу мультимодальной аналгезии, то есть комбинации наркотического анальгетика (в частности, фентанил) с нестероидными противовоспалительными препаратами и внутривенным введением парацетамола. Это сочетание потенцирует эффект аналгезии и показывает наилучшую эффективность во время премедикации и в конце оперативного вмешательства.

Большую роль играет проведение нейровегетативной блокады как компонента, направленного на предупреждение чрезмерных нейроэндокринных и вегетативных реакций на комплекс стрессорных операционных факторов: боль, кровопотеря, перераспределение массы крови, спазм сосудов и снижение температуры тела. Основным средством профилактики чрезмерных патологических реакций на указанные раздражители (при условии устранения дефицита объема циркулирующей крови и нарушений газообмена) являются выключение сознания и достаточная гипорефлексия [24].

Совершенствование торакоскопических технологий привело к развитию новых направлений РАХ: робот-ассистированная торакальная и робот-ассистированная кардиохирургия, которые поставили новые задачи перед анестезиологами. К ним относятся коррекция изменений гомеостаза, связанных с длительным временем операций, однологочной вентиляцией и наложением карбокситорака при наличии ишемической болезни сердца, а также особенности подключения искусственного кровообращения. Для создания условий операции на органах грудной полости используется однологочная вентиляция. С этой целью применяют бронхоблокаторы и двухпросветные интубационные трубки типа Карленса, Робертшоу, Bronco-Cath, Мэрфи и реже – трубки Уайта [26].

Интраоперационный мониторинг пациента во время РАОВ не имеет существенных особенностей. Требуется неукоснительное выполнение рекомендации так называемого Гарвардского стандарта мониторинга при анестезии, который предусматривает следующее: мониторинг функций сердечно-сосудистой системы (неинвазивное АД, ЧСС, пульсоксиметрия и ЭКГ), параметры дыхания (ЧД, МОД, Ppeak, капнография), контроль газообмена и кислотно-основного состояния [4].

В зависимости от специфики лапароскопических операций имеет большое значение контроль внутрибрюшного давления (ВБД), скорости нагнетания и удаления инсуффлируемого газа, аэродинамического сопротивления дыхательных путей, регистрации петель поток-давление, поток-объем и кривых давление/поток/объем-время [27].

Установка катетеров в просвет артерий (лучевая, плечевая, бедренная) с целью мониторингирования

инвазивного артериального давления должна быть прерогативой «больших» сосудистых и кардиохирургических вмешательств. Учитывая инвазивность метода, увеличивается риск развития неблагоприятных последствий, поэтому рутинное использование при других РАОВ считается неоправданным [28].

Изменение центральной гемодинамики и органного кровотока при РАОВ

Основными моментами для анестезиолога-реаниматолога во время РАОВ являются нефизиологическое положение пациента во время операции, напряженный КП [6, 7, 20]. Основными механизмами воздействия КП на сердечно-сосудистую систему является непосредственное сдавление кровеносных сосудов брюшной полости (компрессия нижней полой вены вызывает снижение возврата венозной крови в правый желудочек); повышенное ВБД оказывает стимулирующее влияние на симпатическую нервную систему, что может вызвать повышение АД; каскад процессов, запускающий абсорбцию CO_2 из брюшной полости [9, 17, 20]. На фоне этих механизмов клиническая картина зависит от исходного соматического состояния, возможности компенсаторного регулирования, продолжительности КП, значения ВБД.

При робот-ассистированных кардиохирургических и торакальных оперативных вмешательствах КП приводит к увеличению давления в дыхательных путях и увеличению поглощения CO_2 , что обуславливает рост значений PaCO_2 (парциальное давление углекислого газа) и PetCO_2 (давление углекислого газа в конце выдоха). Сатурация может оставаться на прежних значениях. Использование ПДКВ (положительное давление в конце выдоха) в значительной степени исправляет эти респираторные изменения [28]. Выполнено исследование, доказывающее, что сдавление нижней полой и подвздошных вен увеличивает уровень давления в венозной системе нижних конечности до 80% при уровне ВБД, равной 14 мм рт. ст. Измерение кровотока в нижней полой вене методом электронной флоуметрии определило уменьшение кровотока до 30% от исходных значений. Эти изменения имеют прямую зависимость от уровня ВБД. Венозный возврат при этом может снижаться до 20% [29]. В положении Тренделенбурга можно отметить увеличение венозного возврата, ограничение экскурсии диафрагмы, а при положении Фовлера венозный возврат будет только уменьшаться [18, 30].

Необходимо отметить, что при оперативных вмешательствах, когда необходимо применение валика (под нижний отдел грудной клетки), наблюдаются небольшие гемодинамические сдвиги по сравнению с исходными показателями. При этом достоверно значительно снижались ударный объем и сердечный индекс, а общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС) повышалось. В меньшей степени повышалось диастолическое АД, а остальные параметры существенно не изменялись. После удаления валика

в конце операции показатели гемодинамики приходят в норму [7, 9, 31].

Изменения в артериальной сосудистой сети характеризуются ростом системного сосудистого сопротивления до 50%, что в итоге повышает показатели АД. Существует несколько теорий механизма увеличения ОПСС. Во-первых, это явление может возникать в ответ на механическую компрессию артерий в брюшной полости или на стимуляцию ренин-ангиотензиновой системы в результате резкого уменьшения кровообращения в почках [32]. В других случаях ОПСС увеличивается рефлекторно на фоне сниженного венозного возврата и сердечного выброса. Не исключается и прямое раздражение CO_2 на париетальную брюшину [18].

Не последнюю роль в гемодинамических изменениях играют поструральные реакции при создании оптимальных условий для работы хирургов – это приподнятый ножной конец под углом 45° (Тренделенбург), например в гинекологии, онкоурологии, и приподнятый головной конец под $45-60^\circ$ (положение Фовлера) при торакальных оперативных вмешательствах.

Относительно изменения органного кровотока имеется достаточно публикаций о влиянии КП на функционирование желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и мочевыделительной системы. Опубликованы работы с результатами экспериментов о влиянии высоких показателей ВБД (до 20 мм рт. ст.) на почечный кровоток и скорости фильтрации в канальцах почек [29, 32].

При повышении ВБД до 20 мм рт. ст. кровообращение в почках снижалось на 80% от исходных значений, в то же время сердечный выброс – на 21%. При увеличении ВБД до 40 мм рт. ст. фильтрующая способность почечных канальцев снижалась до 6–7% от исходных значений и даже спустя 30 мин после десуффляции не восстанавливалась до нормальных значений. Стоит отметить, что в практической медицине КП до указанных предельных цифр ВБД не применяется. Но обычный рабочий уровень ВБД, тем более при оперативных вмешательствах более 2 часов, может отрицательно влиять на почечную экскрецию. При изучении перфузии тканей почек с использованием доплеровской флоуметрии (ВБД = 15 мм рт. ст.) отмечается ее снижение с 50 до 20 мл/мин/100 г [32]. При ВБД до 15 мм рт. ст. клинически значимых отклонений не отмечалось, после возвращения ВБД до физиологических значений функционирование почек нормализовалось в кратчайшие сроки даже у пациентов с исходной скомпрометированной патологией со стороны мочевыделительной системы [14].

Высокий уровень ВБД может вызвать снижение печеночного кровотока посредством влияния на венозную и артериальную сосудистую сеть. Это явление отрицательно влияет на функции ЖКТ, поджелудочной железы и селезенки посредством снижения кровообращения в мезентериальных сосудах. Увеличение парциального давления CO_2 на фоне адсорбции из париетальной брюшины и аккумуляции в сосудах брыжейки обладает угнетающим действием на печеночной

кровоток. Вышеописанные последствия КП отмечают-ся уже при ВБД от 8 мм рт. ст., и при увеличении ВБД неминуемо повышаются риски развития нежелательных эффектов. Предиктором нарушения кровоснабжения в печени и тяжести нарушения функции считается повышение показателей алкогольдегидрогеназы и глутатионтрансферазы [33].

Изменения со стороны системы дыхания при робот-ассистированных оперативных вмешательствах

При РАОВ основными факторами, влияющими на дыхательную функцию, являются уровень ВБД, продолжительность КП, КТ [6, 7, 9]. Высокий показатель ВБД ограничивает экскурсию диафрагмы, уменьшая при этом объем грудной полости и снижая дыхательный объем, следовательно, повышается давление в дыхательных путях [4, 6].

Увеличение внутригрудного давления ограничивает диафрагму в своей подвижности, уменьшает эластичность легких, может привести к гиповентиляции и увеличению CO_2 , создающих риски развития дыхательного ацидоза. Знание этих особенностей позволяет современной анестезиологии применять соответствующие меры профилактики ателектазирования и снижения функционального объема легких (ФОВ). Ряд авторов указывает на целесообразность применения инверсии фаз дыхательного цикла для предотвращения снижения ФОВ и оксигенации крови, особенно в случае рестриктивного синдрома у пациентов с ожирением, когда применение ПДКВ ограничено из-за критичного влияния на гемодинамику. Эти изменения усиливает положение Тренделенбурга, которое может привести к повышению значений Ppeak (> 40 см вод. ст.). Указанные изменения можно до определенного момента корректировать настройкой режимов и параметров ИВЛ [7, 26]. Так, в положении Фовлера целесообразно увеличить дыхательный объем на 15–20%, время вдоха и FiO_2 ; в положении Тренделенбурга, наоборот, необходимо уменьшить дыхательный объем, увеличить частоту дыхания и FiO_2 . Своевременный подбор режимов вентиляции при КП снижает риск развития ятрогенной волюмо- и баротравмы [17].

Изменение температурного гомеостаза и факторов гемокоагуляции при РАОВ

В интраоперационном периоде термогенез нарушается вследствие снижения метаболизма и усиления физических процессов потери тепла: неправильное соблюдение температурного режима в операционной, отсутствие на дыхательно-наркозных аппаратах увлажнителей с обогревателями газовой смеси, внутривенное введение и обработка операционного поля растворами комнатной температуры. Экспериментально доказано, что изменение температуры тела уже на один и более градусов ведет к осложнениям от гипотермии. Не последнюю роль играет интраабдоминальное введение холодного неувлажненного CO_2 , так называемая

лапароскопическая гипотермия. Увеличивается потеря тепла также непосредственно из брюшины и раневой поверхности [34].

Патофизиологические эффекты интраоперационной гипотермии включают нарастание нагрузки на сердце и увеличение потребления кислорода, ишемию миокарда, подавление иммунных реакций и угнетение свертывающей системы за счет нарушения функции тромбоцитов, усиление фибринолиза, риска послеоперационного кровотечения и воспалительных осложнений [35]. Снижение температуры тела приводит к централизации кровотока, вызывая спазм периферических сосудов, что, в конечном счете, может вызвать гипоксию тканей, нарушение клеточных мембран, повреждение эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов [36].

При гипотермии значительно снижается устойчивость организма к инфекциям на фоне нарушения продукции антител и факторов неспецифической защиты, что провоцирует развитие бактериальной флоры и тормозит заживление ран [37].

Важно отметить, что при гипотермии длительное время ранней послеоперационной реабилитации, который часто сопровождается мышечной дрожью. У таких пациентов сильнее выражен болевой синдром в раннем послеоперационном периоде. Периоперационная гипотермия может увеличивать сроки госпитализации [35].

К профилактическим мероприятиям по поддержанию температурного гомеостаза относится строгое соблюдение правил регуляции микроклимата в операционной, обкладывание открытых участков тела пациента операционным бельем, использование только теплых (согретых до 37°C) растворов для инфузионной терапии и растворов, применяемых для обработки кожи, применение специальных «одеял» с возможностью терморегулирования, увлажнение и согревание дыхательной смеси в контуре наркозного аппарата [35].

Циркуляторные и гемокоагуляционные изменения непосредственно связаны с увеличением ВБД, физическим сдавлением нижней полой вены и дефицитом венозного возврата от нижних конечностей. В экспериментальных работах показано, что КП снижает на 35% ток крови на уровне бедренной вены, а при повышении КП до 14 мм рт. ст. – уже на 80% [17]. Застой в венозной системе ведет к флэбэктазии, гиперкоагуляции и риску тромбообразования [38, 39].

Ранняя гиперкоагуляция отмечается у большинства пациентов после РАОВ по поводу простатэктомии, что также наблюдается при проведении операции классическим открытым способом [40]. В среднем у пациентов старше 50 лет послеоперационный венозный тромбоз нижних конечностей встречается в 15% случаев. У 5% обследованных тромбоз развивается выше колена. В 1,6% случаев это осложнение может привести к нелетальной тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА), а в 0,65% случаев – к летальному исходу. Статистический анализ по частоте развития ТЭЛА

во время или после РАОВ не проводился. Однако известно, что при холецистэктомии лапароскопическим способом у 12 397 пациентов происходит 10 летальных исходов, среди которых 3 случая – от ТЭЛА [37].

Для антикоагулянтной профилактики гепарином необходимо определять количество тромбоцитов в динамике: в начале терапии, через 7 дней и через 2 недели после начала терапии. Тромбоцитопении ниже $50 \times 10^9/\text{л}$ является противопоказанием для использования гепаринов (нефракционированного, низкомолекулярных). Если уровень тромбоцитов снизится после начала гепаринопрофилактики в два раза, то гепарин следует отменить, так как резко возрастает риск образования тромбоза – так называемая гепарин-индуцированная тромбоцитопения 2-го типа.

Пациентам, перенесшим ТЭЛА, необходимо получать антикоагулянтную терапию в течение не менее трех месяцев. Переход на пероральные антикоагулянты может уменьшить риск повторных тромбозов на $\leq 90\%$, однако вместе с этим увеличивается и возможный риск кровотечений. Поэтому летальность из-за повторных тромбозов в два раза выше у пациентов с ТЭЛА по сравнению с пациентами после тромбозов вен нижних конечностей [40].

Активизация и реабилитация пациентов после роботических операций

Эффективная активизация и начало реабилитации являются залогом успешного послеоперационного восстановления пациентов и возвращения их к обычной жизни. Зачастую в раннем послеоперационном периоде мероприятия лечебной физкультуры и упражнений по реабилитации приостанавливаются по нескольким причинам. Это могут быть болевой синдром при адекватной контролируемой анальгезии и наличие катетеров, канюль, дренажей у оперированных пациентов.

Ранняя мобилизация пациента ограничивает развитие осложнений, в первую очередь со стороны дыхательной системы, ЖКТ, и обменных процессов в качестве профилактики инсулинорезистентности. Существует множество разных многоступенчатых программ и протоколов по ранней активизации пациента. Порядок организации реабилитации пациентов после оперативных вмешательств представлен в Приказе Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 788н «Об утверждении Порядка организации медицинской реабилитации взрослых» [41].

Предоперационное и послеоперационное голодание с целью профилактики пареза кишечника при неабдоминальных операциях должно сводиться к минимуму. Согласно клиническим рекомендациям Федерации анестезиологов России до операции рекомендовано прекратить прием твердой пищи за 6–8 часов, употребление непрозрачных жидкостей за 4 часа, чистая вода эвакуируется из желудка в течение 2 часов. Энтеральный прием пищи необходимо начать в течение 24 часов после оперативного вмешательства с целью раннего восстановления функции кишечника.

ПОТР является одной из частых нежелательных реакций после анестезии, которая может увеличить и продолжительность стационарного лечения. В целях профилактики ПОТР в практике часто отмечают тенденцию отказа (по возможности) от опиоидных обезболивающих в пользу мультимодальной анальгезии, а также применение продленных регионарных методов анальгезии. Из препаратов для лекарственной профилактики ПОТР применяют дексаметазон с доказанным противорвотным действием, но сахарный диабет является относительным противопоказанием. Из группы антагонистов 5НТЗ наиболее эффективным считается ондансетрон.

Относительно новым классом антиэметиков являются антагонисты рецепторов NK-1 (апрепитант, касопитант). Одним из наиболее эффективных методов профилактики ПОТР считается тотальная внутривенная анестезия (ТВВА) на основе пропофола, которая намного уменьшает риск ПОТР по сравнению с ингаляционной анестезией с применением галогенсодержащих анестетиков. Некоторые авторы рекомендуют ТВВА на основе пропофола с фентанилом как анестезию выбора для пациентов с высоким риском ПОТР. В то же время механизм антиэметического действия пропофола до конца не ясен [42].

Необходимо учитывать, что стоимость функциональной реабилитации редко берется в расчет при оценке экономической эффективности роботической хирургии, что заставляет пересмотреть финансовый критерий для выбора хирургического доступа с учетом возраста пациентов [11].

Таким образом, применение РАОВ, несмотря на их малотравматичность, обладает рядом особенностей, которые необходимо учитывать при подготовке пациента к операции, выбора способа оперативного вмешательства, ведения в интра- и послеоперационном периоде с реабилитацией. Внедрение малоинвазивных технологий требует от анестезиолога-реаниматолога не только знаний о патофизиологических факторах, которые влияют на гомеостаз, но также умения прогнозировать развитие осложнений и определять способ их эффективной коррекции.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БРР, НАФ

Сбор и обработка материала – ХАР, НАФ

Написание текста – ХАА, ХАР

Редактирование – БРР, НАФ

Литература / References

1. Тимербулатов В.М., Федоров С.В., Тимербулатов Ш.В., Тимербулатов М.В., Гафарова А.Р. Медицинские и экономические последствия хирургических осложнений.

- Медицинский вестник Башкортостана. 2019;14(5):72–80. [Timerbulatov VM, Fedorov SV, Timerbulatov ShV, Timerbulatov MV, Gafarova AR. Medical and economic consequences of surgical complications. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2019;14(5):72–80 (In Russ.)].
2. Панин С.И., Бебуришвили А.Г., Прудков М.И., Тимербулатов В.М. Лапаротомные и лапароскопические ассистированные операции из мини-доступа в лечении прободной язвы. *Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова* 2021;(2):94–100. [Panin SI, Beburishvili AG, Prudkov MI, Timerbulatov VM. Laparotomic and laparoscopic assisted mini-access operations in the treatment of perforated ulcers. *Surgery. Journal named after N.I. Pirogov* 2021;(2): 94–100 (In Russ.)]. doi: 10.17116/hirurgia202102194
 3. Тимербулатов М.В., Тимербулатов Ш.В., Низамутдинов Т.Р., Тимербулатов В.М. Контрольный список ВОЗ предупреждения хирургических осложнений: сравнительный анализ двух клиник. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2021;14(1):33–41. [WHO checklist for the prevention of surgical complications: a comparative analysis of two clinics. Timerbulatov MV, Timerbulatov ShV, Nizamutdinov TR, Timerbulatov VM. *Bulletin of Experimental and Clinical Surgery*. 2021;14(1):33–41 (In Russ.)]. doi: 10.18499/2070-478X-2021-14-1-33-41
 4. Sohn K.S., Kim J.H. Anesthetic management for laparoscopic surgery and robotic surgery. *J Korean Med. Assoc.* 2012;55(7):641. doi: 10.5124/jkma.2012.55.7.641
 5. Заболотских И.Б., Трэмбач Н.В. Пациенты высокого периоперационного риска: два подхода к стратификации. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2019;4:34. [Zabolotskikh IB, Trembach NV. Patients at high perioperative risk: two approaches to stratification. *Bulletin of Intensive Care*. A.I. Saltanov. 2019;4:34 (In Russ.)]. doi: 10.21320/1818-474X-2019-4-34-46
 6. Maracaj-Neto LF, Verzosa N, Roncally AC, Giannella A, Bozza FA, Lessa MA. Beneficial effects of high positive end-expiratory pressure in lung respiratory mechanics during laparoscopic surgery. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2009;53:210–7. doi: 10.1111/j.1399-6576.2008.01826.x
 7. Gutt CN, Oniu T, Mehrabi A, Schemmer P, Kashfi A, Kraus T. Circulatory and respiratory complications of carbon dioxide insufflation. *Dig Surg.* 2004;21(2):95–105. doi: 10.1159/000077038
 8. Applegate RL II, Dorotta IL, Wells B, Juma D, Applegate PM. The relationship between oxygen reserve index and arterial partial pressure of oxygen during surgery. *Anesth Analg.* 2016;123(3):626–33. doi: 10.1213/A NE.0000000000001262
 9. Goodale RL, Beebe DS, McNevin MP, Michael Boyle, Janis GL, Jerome HA, Frank BC. Hemodynamic, respiratory, and metabolic effects of laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg.* 2016;166(5):533–7. doi: 10.1016/s0002-9610(05)81148-1
 10. Тимербулатов В.М., Тимербулатов Ш.В., Алиев Э.З., Нурғалиев А.А. Диагностика острого аппендицита на современном этапе: видеолaparоскопия. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2019;14(3):72–7. [Timerbulatov VM, Timerbulatov ShV, Aliev EZ, Nurgalieva AA. Diagnosis of acute appendicitis at the present stage: Video laparoscopy. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2019;14(3):72–7 (In Russ.)].
 11. Зайкина Г.А. Роботизированные системы в медицине: каким им быть? *Вестник Российской академии наук*. 2018;88(9):785–92. [Zaykina GA. Robotic systems in medicine: what should they be? *Bulletin of the Russian Academy of Sciences*. 2018;88(9):785–92 (In Russ.)]. doi: 10.31857/S086958730001691-8
 12. Fuji Lai, Deon Louw Surg Innov. Surgical robotics for patient safety in the perioperative environment: realizing the promise. *Surgical Innovation*. 2007 Jun;14(2):77–82. doi: 10.1177/1553350607303880
 13. Ashrafi H, Clancy O, Grover V, Darzi A. The evolution of robotic surgery: surgical and anesthetic aspects. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 2017;13:72–84. doi: 10.1093/bja/aex383
 14. Oksar M, Akbulut Z, Ocal H, Balbay MD, Kanbak O. Robotic Prostatectomy: The Anesthetist's View for Robotic Urological Surgeries, a Prospective Study. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)*. 2014;64(5):307–13. doi: 10.1016/j.bjan.2013.10.009
 15. Lu D, Wang X, Shi G. Perioperative enhanced recovery programmes for gynaecological cancer patients. *Perioperative Medicine*. 2015;(3):30–9. doi: 10.1002/14651858.CD008239.pub4
 16. Baltayan S. A brief review: anesthesia for robotic surgery. *J Robotic Surg.* 2008;2(2):59–66. doi: 10.1007/s11701-008-0088-4
 17. Лутфаррахманов И.И., Сырчин Е.Ю., Галеев И.Р., Миронов П.И., Павлов В.Н. Изменения центральной гемодинамики при робот-ассистированной радикальной простатэктомии в зависимости от вида анестезии. *Анестезиология и реаниматология*. 2020;6:69–76. [Lutfarakhmanov II, Syrchin EYu, Galeev IR, Mironov PI, Pavlov VN. Changes in central hemodynamics in robot-assisted radical prostatectomy depending on the type of anesthesia. *Anesthesiology and Resuscitation*. 2020;6:69–76 (In Russ.)]. doi: 10.17116/anaesthesiology202006169
 18. Mazzinari G, Diaz-Cambronero O, Alonso-Inigo JM, Garcia-Gregorio N, Ayas-Montero B, Ibanez JL, et al. Intraabdominal pressure targeted positive endexpiratory pressure during laparoscopic surgery: an open-label, nonrandomized, crossover, clinical trial. *Anesthesiology*. 2020;132(4):667–77. doi: 10.1097/ALN.0000000000003146
 19. Jeong Rim Lee. Anesthetic considerations for robotic surgery. *Korean J Anesthesiol.* 2014;66(1):3–11. doi: 10.4097/kjae.2014.66.1.3
 20. Lee DW, Kim MJ, Lee YK, Lee HN. Does intraabdominal pressure affect development of subcutaneous emphysema at gynecologic laparoscopy? *J Min Inv Gyn.* 2011;18:761–5. doi: 10.1016/j.jmig.2011.08.006
 21. Лутфаррахманов И.И., Миронов П.И., Галеев И.Р., Павлов В.Н. Влияние положения Тренделенбурга и пневмоперитонеума на сердечно-сосудистую систему при робот-ассистированной радикальной простатэктомии. *Экспериментальная и клиническая урология*, 2020(4):10–7. [Lutfarakhmanov II, Mironov PI, Galeev IR, Pavlov VN. Influence of the Trendelenburg position and pneumoperitoneum on the cardiovascular system in robot-assisted radical prostatectomy. *Experimental and Clinical Urology*, 2020(4):10–7 (In Russ.)]. doi: 10.29188/2222-8543-2020-13-4-10-17
 22. Araki R, Hayashi K, Sawa T. Dopamine D2-receptor antagonist droperidol deepens sevoflurane anesthesia. *Anesthesiology*. 2018;128(4):754–63. doi: 10.1097/ALN.0000000000002046
 23. Tomoko Ogawa, Shinju Obara, Mitsue Akino, Chie Hanayama, Hidemi Ishido, Masahiro Murakawa. The predictive performance of propofol target-controlled infusion during robotic-assisted laparoscopic prostatectomy with CO₂ pneumoperitoneum in the head-down position. *J Anesth.* 2020 Jun;34(3):397–403. doi: 10.1007/s00540-020-02765-z
 24. Базаров Д.В., Тонеев Е.А., Выжигина М.А., Никода В.В. Мультидисциплинарный подход к терапии послеоперационной боли в современной торакальной хирургии. *Российский журнал боли*. 2019;17 (2):14–9. [Bazarov DV, Toneev EA, Vyzhigina MA, Nikoda VV. Multidisciplinary approach to the treatment of postoperative pain in modern thoracic surgery. *Russian Journal of Pain*. 2019;17(2):14–9 (In Russ)] doi: 10.25731/RASP.2019.02.15
 25. Кавочкин А.А., Выжигина М.А., Кабаков Д.Г., Базаров Д.В. Анестезиологическое обеспечение торакоскопических операций на легких и органах средостения. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2020;17(4):113–22. [Kavochkin AA, Vyzhigina MA, Kabakov DG, Bazarov DV. Operations on the lungs and mediastinal organs. *Bulletin of Anesthesiology and Resuscitation*. 2020;17(4):113–22 (In Russ.)]. doi: 10.21292/2078-5658-2020-17-4-113-122

26. Caso R, Kelly CH, Marshall MB. Single lumen endotracheal intubation with carbon dioxide insufflation for lung isolation in thoracic surgery. *Surg Endosc.* 2019;33(10):3287–90. doi: 10.1007/s00464-018-06614-9
27. Матвеева О.Б., Мизиков В.М. Анестезиологическое обеспечение внутрисветовых эндоскопических вмешательств. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2014;5:40–5. [Matveeva OB, Mizikov VM. Anesthetic support of intraluminal endoscopic interventions. *Bulletin of Anesthesiology and Resuscitation.* 2014;5:40–5 (In Russ.).] doi: 10.22141/2224-0586.8.95.2018.155162
28. Onur S, Burak O, Unal A, Ersin K, Zeynep K, Serdar B. Robotic-assisted cardiac surgery without lung isolation utilizing single-lumen endotracheal tube intubation. *Surg.* 2020;35(6):1267–74. doi: 10.1111/jocs.14575
29. Hashimoto S, Hashikura Y, Munakata Y, Kawasaki S, Makuuchi M, Hayashi K. Changes in cardiovascular and respiratory systems during laparoscopic cholecystectomy. *J. Laparoendosc. Surg.* 2011;3(6):535–9. doi: 10.1089/lps.1993.3.535
30. Chin JH, Lee EH, Hwang GS, Hwang JH, Choi WJ. Prediction of Fluid Responsiveness Using Dynamic Preload Indices in Patients Undergoing Robot Assisted Surgery with Pneumoperitoneum in the Trendelenburg Position. *Anaesth Intensive Care* 2013;41(4):515–22. doi: 10.1177/0310057X1304100413
31. Богданов Р.Р., Базыкина Х.Н., Галеев Ф.С., Плакс И.А. Гемодинамика, дыхание и транспорт кислорода при различных видах эндоскопических холецистэктомий. *Эндоскопическая хирургия.* 2002;3:3. [Bogdanov RR, Bazykina KhN, Galeev FS, Plaks IA. Hemodynamics, respiration and oxygen transport in various types of endoscopic cholecystectomy. *Endoscopic Surgery.* 2002;3:3 (In Russ.).]
32. Sidse H, Frank H, Peter E, Jorgen B, Jensen N, Jesper B. Hemodynamic, renal and hormonal effects of lung protective ventilation during robot-assisted radical prostatectomy, analysis of secondary outcomes from a randomized controlled trial. *BMC Anesthesiology.* 2021;21:200. doi: 10.1186/s12871-021-01401-x
33. Kotake Y, Takeda J, Matsumoto M, Tagawa M, Kikuchi H. Sub-clinical hepatic dysfunction in laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic colectomy. *Br. J. Anaesth.* 2001;87(5):774–7. doi: 10.2169/internalmedicine.46.0059
34. Mason SE, Kinross JM, Hendricks J., Arulampalam TH. Postoperative hypothermia and surgical site infection following peritoneal insufflation with warm, humidified carbon dioxide during laparoscopic colorectal surgery. *Surg. Endosc.* 2017;31:1923–9. doi: 10.1007/s00464-016-5195-0
35. Tsuchida T, Takesue Y, Ichiki K, Uede T, Nakajima K, Ikeuchi H. Influence of perioperative hypothermia on surgical site infection in prolonged gastroenterological surgery. *Surg. Infect.* 2016;17:570–6. doi: 10.1089/sur.2015.182
36. Sessler D.I. Complications and treatment of mild hypothermia. *Anesthesiology* 2016;95:531–43. doi: 10.1097/00000542-200108000-00040
37. Агеева М. В., Постнов В.Г., Князькова Л.Г., Могутнова Т.А., Сидельников С.Г. Влияние умеренной гипотермии на сывороточный уровень нейронспецифических белков, кислородное обеспечение и нейрокогнитивный статус пациентов при операциях реваскуляризации миокарда. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2017;1:35–40. [Ageeva MV, Postnov VG, Knjazkova LG, Mogutnova TA, Sidelnikov SG. Influence of moderate hypothermia on the serum level of neuron-specific proteins, oxygen supply and neurocognitive status of patients during myocardial revascularization. *Pathology of Blood Circulation and Cardiac Surgery.* 2017;1:35–40 (In Russ.).] doi: 10.1161/01.str.0000103320.90706.35
38. Kearon C, Gent M, Hirsh J, Weitz J, Kovacs J, Anderson R, Turpie G, Green D, Ginsberg S, Wells P, MacKinnon B. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *J. Med.* 2006;340(12):901–7. doi: 10.1056/NEJM199903253401201
39. Национальный стандарт Российской Федерации Профилактика тромбоэмболических синдромов от 01.03.2012. [National standard of the Russian Federation “Prevention of thromboembolic syndromes” from 01.03.2012 (In Russ.).]
40. Keeling D, Tait RC, Watson H. Peri-operative management of anticoagulation and antiplatelet therapy. *Br. J. Haematol.* 2016;175:602–13. doi: 10.1111/bjh.14344
41. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. № 788н «Об утверждении Порядка организации медицинской реабилитации взрослых». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of July 31, 2020 No. 788n “On Approval of the Procedure for Organization of Medical Rehabilitation of Adults” (In Russ.).]
42. Cao X, White PF, Ma H. An update on the management of postoperative nausea and vomiting. *J. Anesth.* 2017;31(4):617–26. doi: 10.1007/s00540-017-2363-x

УДК 616-002.828

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-19-26



Микробиологические свойства условно-патогенных сахаромикетов рода *Candida* при хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессах (обзор литературы)

И.П. Кольцов¹, Н.В. Стрельникова^{1,2}, Е.В. Витько¹, Л.Г. Витько³, О.Е. Савлюк¹¹ Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия² Туберкулезная больница, Хабаровск, Россия³ Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения, Хабаровск, Россия

Обзор литературы представлен проблемным анализом содержания современных научных публикаций о дрожжеподобных грибах рода *Candida* семейства *Saccharomycetaceae*. В 90% случаев этиологическим фактором хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессов становятся резидентные обитатели микробиома полости рта, кишечника, урогенитального тракта и кожи человека, представители условно-патогенных грибов вида *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, 1923. Статья посвящена актуальной медико-социальной проблеме эндогенных оппортунистических инфекций на примере кандидоза (кандидамикоза). В обзоре приводится концептуальный анализ изменений микробиологических свойств клинически значимых в медицинской микробиологии видов кандид с ubicuitарным распространением: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida auris*. Представлен современный взгляд на проблемы риска развития поверхностного и инвазивного кандидамикоза как оппортунистической, нециклической инфекции. Признаки однотипного патологического процесса развиваются при участии разных видов условно-патогенных грибов в монокультуре и ассоциациях на фоне иммунодефицита.

Ключевые слова: *Candida albicans*, *Candida auris*, кандидозы, кандидамикозы, условно-патогенные микроорганизмы, полимикробные биопленки, оппортунистические инфекции

Поступила в редакцию: 08.01.23. Получена после доработки: 15.01.23, 23.01.23. Принята к печати: 26.01.23

Для цитирования: Кольцов И.П., Стрельникова Н.В., Витько Е.В., Витько Л.Г., Савлюк О.Е. Микробиологические свойства условно-патогенных сахаромикетов рода *Candida* при хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессах (обзор литературы). *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:19–26. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-19-26

Для корреспонденции: Стрельникова Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Дальневосточного государственного медицинского университета, заведующий бактериологической лабораторией Туберкулезной больницы (680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35); ORCID: 0000-0002-1749-1323; тел. +7 (924) 925-89-85; e-mail: jpdome@mail.ru

Microbiological properties of opportunistic saccharomycetes of the genus *Candida* in chronic, recurrent infectious inflammatory processes (literature review)

I.P. Koltsov¹, N.V. Strelnikova^{1,2}, E.V. Vitko¹, L.G. Vitko³, O.E. Savlyuk¹¹ Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia; ² Tuberculosis Hospital, Khabarovsk, Russia; ³ Postgraduate Institute for Public Health Workers, Khabarovsk, Russia

Literature review involves a problem analysis of current scientific publications on yeast-like fungi of the genus *Candida* of the family *Saccharomycetaceae*. In 90% of cases, the etiological factor of chronic, recurrent infectious and inflammatory processes is represented by residents of oral, intestinal, urogenital and skin microbiome, opportunistic *Candida albicans* fungi. The paper considers the relevant medical and social problem of endogenous opportunistic infections on the example of candidiasis (candidamycosis). The review presents a conceptual analysis of changes in the microbiological properties of clinically significant candida species with ubiquitous distribution: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida auris*. The authors provide a current perspective on the risk of superficial and invasive candidomycosis as an opportunistic, non-cyclic infection. Signs of the same type of pathological process develop with the participation of different species of opportunistic fungi in monoculture and associations against the background of immunodeficiency.

Keywords: *Candida albicans*, *Candida auris*, candidiasis, candidamycosis, opportunistic microorganisms, polymicrobial biofilms, opportunistic infections

Received 8 January 2023. Revised 15, 23 January 2023. Accepted 26 January 2023

For citation: Koltsov I.P., Strelnikova N.V., Vitko E.V., Vitko L.G., Savlyuk O.E. Microbiological properties of opportunistic saccharomycetes of the genus *Candida* in chronic, recurrent infectious inflammatory processes (literature review). *Pacific Medical Journal*. 2023;1:19–26. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-19-26

For corresponding: Natalia V. Strelnikova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology FESMU, Head of the Bacteriology Laboratory of Tuberculosis Hospital (35 Muravyova-Amurskogo str., Khabarovsk, 680000, Russia); ORCID: 0000-0002-1749-1323; phone: +7 (924) 925-89-85; e-mail: jpdome@mail.ru

Кандидамикоз (кандидоз) – известное инфекционно-воспалительное заболевание кожи и слизистых оболочек полости рта, урогенитального тракта, редко ногтей, имеет локальный характер; при особых условиях ослабления иммунитета принимает генерализованный характер, когда развиваются опасные для жизни системные инфекции кровотока и/или инвазивный кандидоз внутренних органов [1–9].

Целью литературного обзора является анализ проблемной ситуации в практическом здравоохранении по диагностике, лечению и профилактике кандидомикозов.

Анализ эпидемиологических особенностей заболевания, характера инфекционного процесса, видового состава и микробиологических свойств сахаромикетов рода *Candida* при локальных и системных кандидомикозах позволит улучшить диагностику и профилактику заболевания, что является актуальной задачей современной медицины.

Кандиды встречаются повсеместно во внешней среде, воздухе и почве, морской воде, на цветах, растениях и плодах, содержащих сахара, в организме человека и животных, эндосимбионты насекомых. Широко применяются в пищевой промышленности для производства этанола, ферментов, липаз, в технологии приготовления какао, сыра, молока; для утилизации отходов [1]. В Древнем Риме кандидаты (*candidatus*) в консулы надевали выбеленную меловым раствором тогу. *Candida* (лат.) использовалось как мужское и женское имя: Кандид и Кандида, с основным значением «белый», «чистый», дополнительной семантикой – «искренний, простодушный».

В 1839 году Лангенбек впервые описал *Candida* в значении *candidus* «блестяще белый»; *albicare*

«белить», «отбеливать», «светлеть» [1]. Резюмируя истонное значение, увеличение качества повторяемым признаком белизны, трактовать название вида *Candida albicans* можно как ослепительно белая, сияющая белая, белоснежная, кристально чистая. Классификация дрожжеподобных грибов рода *Candida* представлена следующим образом. Это надцарство/домен эукариоты (*Eukaryota*), царство: *Fungi*, тип: *Ascomycota*, подтип *Saccharomycotina*, класс: *Hemiascomycetes*, порядок: *Saccharomycetales*, семейство: *Saccharomycetaceae*.

Представители сахаромикетов рода *Candida* имеют убиквитарное распространение, широкий круг хозяев, легко переносят высушивание и замораживание, пластичны в генетическом и фенотипическом отношении, метаболически гибкие, образуют биопленки на любых органических и неорганических поверхностях, обеспечивая выживаемость вида как во внешней среде, так и в качестве симбионтов (мутуалистов, комменсалов, паразитов) макроорганизма [1–22]. В 90% случаев поверхностного и инвазивного кандидомикоза выявляется типовой вид *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, 1923. Прежние наименования: *Monilia albicans*, *Oidium albicans*, *Candida claussenii*, *Candida langezoni*.

На рис. 1 показана фотография мазка для микроскопии чистой культуры кандид, окрашенного м. Грама, из мочи пациента, получающего противотуберкулезные препараты в течение 4 месяцев, выросшей на среде Канди-селект 5 (Хаймедиа, Индия). На рис. 1 видны дрожжевые клетки кандид округлой формы, диаметром 3–5 мкм. Псевдогифы до 10–12 мкм суживаются на концах, истинные гифы с параллельными стенками, до 40–50 мкм. Почкование без отделения клеток, с формированием ложного мицелия с бластоспорами и бластоконидиями [1–5].

В пораженных тканях кандиды представлены дрожжевыми клетками и ростовыми трубками как псевдомицелия, так и истинного мицелия. Диморфные грибы *C. albicans* существуют в форме преимущественно диплоидных клеток, хотя среди них имеются гаплоидные и тетраплоидные формы [1, 23].

Известно более 200 видов грибов рода *Candida* [1]. Однако большинство таких видов, как *Candida antarctica*, *Candida kefyr*, *Candida mogii*, *Candida oleophila*, *Candida utilis*, *Candida rugosa*, не имеют отношения к патологии человека, за редчайшим исключением, при условии уменьшения количества лимфоцитов CD4: иммунодефицит, ВИЧ-инфекция. *Candida albicans* включена в естественную микробиоту вагины у 30% здоровых женщин [5]. У 70–80% здоровых людей кандиды присутствуют в толстом кишечнике в высоких титрах [10], грибы часто вегетируют на коже рук, в межпальцевых промежутках, локализуются в биотопах кожи промежности, ушей, носа [2].

В развитии кандидоза клиническое значение имеют некоторые виды дрожжеподобных оппортунистических грибов рода *Candida*, прежде всего доминирует вид *Candida albicans* (Robin) Berkhout, 1923. Реже встречаются виды *Candida tropicalis*, *Candida*

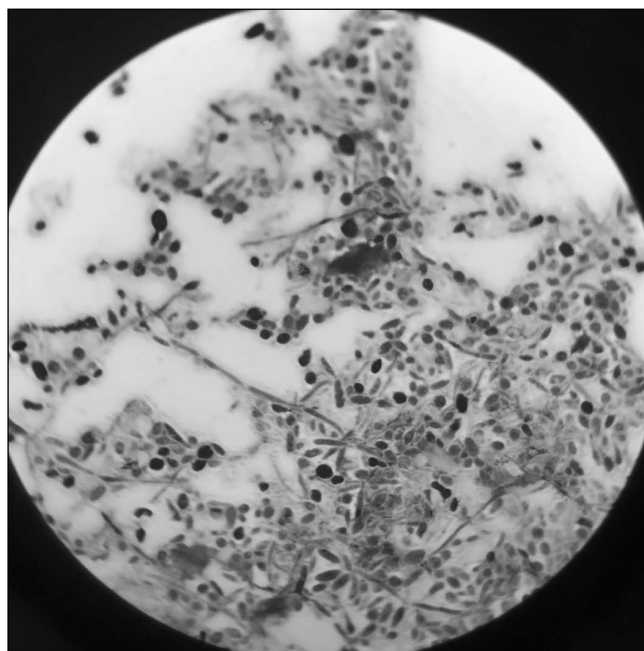


Рис. 1. Морфология эукариот *Candida albicans*, м. Грама. Микроскопия мазка из уринокультуры с иммерсией $\times 1000$, Zeiss Primo Star. Фото Н.В. Стрельникова.

glabrata, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*. Последние годы в качестве возбудителя внутрибольничных инфекций выступает вид *Candida auris* с риском развития генерализованных инфекций и вероятностью летального исхода до 50% [23–46].

Грибы рода *Candida* – это условно-патогенные, индигенные представители микробиома полости рта, пищевода, толстого кишечника, генитального тракта и кожи человека. По многочисленным данным, кандиды – это безвредные комменсалы, которые приобретают инвазивность и вместе с ней патогенность в условиях, способствующих проявлению патогенного потенциала дрожжеподобных грибов [1, 2]. Антагонистами кандид в микробиоме тела человека выступают прокариоты, прежде всего лактобациллы и бифидобактерии [2, 4]. Патогенность кандид как оппортунистов имеет существенную зависимость от состояния клеточного звена иммунитета организма хозяина [1–5; 13–21]. Нарушение целостности кожных покровов и слизистых оболочек в результате травмы и/или операции, радиационное поражение, смещение рН в кислую сторону, снижение насыщенности тканей O_2 , отягощенный коморбидный фон, заболевания красного ростка костного мозга, кроветворных органов – тимуса и селезенки, эндокринопатии, нередко ожирение и сахарный диабет, новообразования [13–21, 32–47], особенности питания с предпочтением углеводистой пищи, нерациональное и частое применение кортикостероидов, цитостатиков, антибиотиков широкого спектра действия, иммунодепрессантов, катеризация сосудов могут способствовать чрезмерному размножению *Candida spp.*, их инвазии в эпителий, дальнейшей гематогенной диссеминации, что приводит к возникновению локального или системного инфекционно-воспалительного процесса, гнойному воспалению [24–27; 32–47]. Кандидоз (*Candida albicans*) является маркерной оппортунистической инфекцией при поражении ВИЧ в стадии СПИДа. У пациентов со СПИД, после химиотерапии онкологического заболевания или трансплантации органов существует высокая вероятность развития генерализованного кандидамикоза до септицемии (кандидемии) [1–2].

Поверхностные кандидозы относятся к менее тяжело протекающим инфекциям, но при неблагоприятных условиях приобретают хронический, рецидивирующий характер с упорным (рефрактерным) течением. У четверти женщин, получивших лечение от хронического вульвовагинального кандидоза, через 2–3 месяца наблюдаются рецидивы, у 5% молочница рецидивирует [20, 22, 24, 27, 45]. Оральный хронический кандидоз, кандидоз языка, ангулярный хейлит у 6–8% пациентов имеет рецидивирующий характер [4, 10, 16, 44].

Поверхностные кандидамикозы могут осложняться и переходить в инвазивные формы, характеризующиеся тяжелым клиническим течением, с риском высокой летальности, требуют специализированной терапии [2, 24, 25]. При постановке венозных катетеров могут развиться инвазивные кандидозы как внутрибольничная

инфекция. Через катетер грибы попадают непосредственно в кровоток, разносятся с током крови, возникает риск необратимого поражения внутренних органов [2]. Кандидемия и острый диссеминированный кандидоз составляют 75–90% всех случаев инвазивных кандидозов, чаще развиваются в отделениях ОРИТ, гематологии, онкологии после получения распространенных ожогов 2–3-й степени [25–27].

Известен факт, что индигенные представители микробиома тела человека никогда не покидают макроорганизм, полной элиминации/эрадикации условного патогена не происходит, в период ремиссии грибы уменьшают свое представительство в органах и тканях, на поверхности слизистых оболочек, переходя в так называемую неактивную фазу. Эти существенные признаки, как практически 100% инфицирование населения кандидами, отсутствие эрадикации/элиминации патогена в течении всей жизни человека, наличие смены периодов ремиссии и рецидивов в течении хронического инфекционного процесса, эндогенный характер инфицирования (аутоинфекция); причисление кандид к условно-патогенным, то есть оппортунистическим, микроорганизмам человека, способным проявлять свой патогенный потенциал только при ослаблении функций общего и/или местного иммунитета, свидетельствуют о нециклическом характере кандидоза (кандидомикоза) как антропонозного, оппортунистического инфекционного процесса [13–14, 47].

Наиболее изученным возбудителем кандидамикоза является типовой вид *Candida albicans*. На агаре Сабуро грибы растут в виде пышных, белых или кремообразных колоний. Характерным признаком вида *Candida albicans* является образование «ростковой трубки» из бластоспоры (почки) при помещении культуры в сыворотку кролика [2, 6, 33].

Candida tropicalis – второй по частоте выявляемости этиологический фактор кандидамикозов. Вид *Candida tropicalis* встречается у 5% здоровых женщин на слизистой оболочке урогенитального тракта, 2–3% мужчин и женщин в толстом кишечнике [5, 10], клинически значим при инвазивных микозах. *Candida tropicalis* является транзитным видом микробиома кожи рук, обнаруживается на коже около естественных отверстий [2].

Candida glabrata находится на третьем месте по распространенности среди возбудителей кандидозов. Данный сахаромикет не формирует псевдомицелий. Заражение этим возбудителем играет большую роль в развитии глубоких микозов [2]. Инфицирование видами *Candida glabrata* и *Candida krusei* реализуется через эндогенный путь передачи.

Морфологической особенностью сахаромикета *Candida krusei* является наличие в цикле его размножения половой стадии – телеоморфы. Поверхностные поражения вид *Candida krusei* вызывает редко, роль в патогенезе инвазивных микозов дискуссионна, доминирует среди возбудителей вагинального кандидоза [2]. На рис. 2 представлены колонии сахаромикетов вида

Candida krusei, выросшие на среде № 2 ГРМ Сабуро-агар (Оболensk, Россия), из генитального тракта пациентки с кандидозным вульвовагинитом. На рис. 2 видны около 50 типичных мучнистых колоний кандид S и R формы, кремового цвета, диаметром от 2 до 7 мм, титр 4lgKOE/мл.

В настоящее время серьезным вызовом является надзор за распространением внутрибольничной инфекции, вызванной *Candida auris*, в связи с мультирезистентностью кандид [2, 23, 27–29, 36]. Сахаромицет не образует гифов и хламидоспор, однако формирует псевдогифы [28, 35]. Пациенты, инфицированные *Candida auris*, всегда имеют отягощенный коморбидный фон, получают иммуносупрессоры, антигрибковую и антибактериальную терапию [28, 37]. *Candida auris* характеризуются выраженной устойчивостью к антифунгальным препаратам и к факторам внешней среды, сохраняется до 2 недель на поверхностях [38–40]. Грибы *Candida auris* обнаруживают на коже подмышечных впадин, паховой области, в ноздрях, прямой кишке [38, 40]. *Candida auris* – высокотрансмиссивный вид, контаминация предметов окружающей среды или колонизация пациента происходит за 4 часа, инвазивная инфекция при поступлении в ОРИТ развивается в течение 48 часов [38, 41].

Самостоятельный вид *Candida auris* был впервые изолирован в Японии в 2009 г. К 2022 году обнаружен на всех континентах, кроме Антарктиды. В коллекции штаммов *Candida spp.* имеются изоляты, выделенные до 2009 г.: гемокультура от пациента из Южной Кореи, 1996 г. [11, 41–43]. В РФ первый случай *Candida auris* кандидемии был зафиксирован в 2018 г. [9, 28].

Виды сахаромицетов *Candida* наряду с другими условно-патогенными грибами способны к организации микст-инфекций. В 2019 году впервые описан случай острого диссеминированного кандидоза у пациентки с лимфогранулематозом, ассоциацией двух видов грибов *Candida albicans* и *Candida glabrata* [26]. Грибы

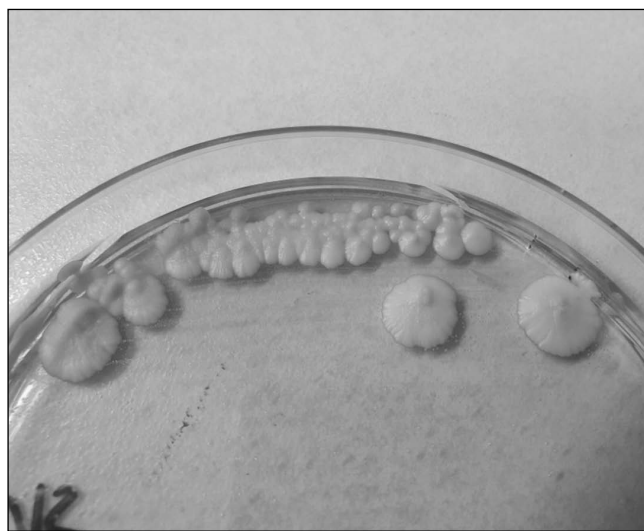


Рис. 2. Рост колоний *Candida krusei*, 4lgKOE/мл, на питательном агаре Сабуро, через 72 часа, из биотопа заднего свода влагалища. Фото Н.В. Стрельникова.

рода *Candida* являются высокоадаптированными к организму человека, пролиферативная активность кандид соответствует циркадным ритмам макроорганизма с наибольшей скоростью роста в ночное время [46]. Таким образом, сахаромицет приспособился к условиям существования «по режиму» хозяина. В кислой среде гифы *Candida albicans* проявляют гемолитическую активность, лизируя стенки эритроцитов и поглощая железо гема и ферритин путем эндоцитоза. Грибам рода *Candida* присуща и детоксикационная функция – они выживают в среде с токсичными микроэлементами [28, 48]. Обладают фенотипической пластичностью – способностью одного генотипа генерировать различные фенотипы [1]. На коже вегетируют непрозрачные клетки *Candida albicans*, при системном кандидозе активны белые клетки, обладающие большей вирулентностью, серые клетки колонизируют язык и кожу [28]. Способность продуцировать клетки с различной плоидностью при смене экологических условий в различных биологических нишах позволяет грибам рода *Candida* изменять вирулентность и устойчивость к антимикотикам, выживать под воздействием иммунитета макроорганизма [1, 23].

Приоритетными факторами патогенности сахаромицетов *Candida spp.* являются: 1) способность к специфической и неспецифической адгезии; 2) образование «биопленок» на слизистых оболочках, в тканях, на поверхностях медицинского оборудования; 3) трансформация в псевдомицелий, обеспечивающая инвазию тканей; 4) микогенная сенсibilизация за счет алкогольдегидрогеназы и кислого Р2-протеина; 5) ферменты агрессии аспартил-протеиназа и фосфолипаза, повышающие проницаемость клеточных мембран и облегчающие внутриклеточное проникновение; 6) эндотоксины; 7) токсин гемолизин; 8) конкурентное подавление индигенных прокариот слизистых оболочек; 9) способность вступать в ассоциации, формируя микст-инфекции.

Адгезию к эпителиальным тканям человека, эндопротезам, внутренней поверхности катетера и др. обеспечивают гликопротеиновые фибриллы клеточной стенки с гидрофобными центрами. Специфическая адгезия к эпителиоцитам определяется адгезинами (рецепторы адгезии), которые способны к мимикрии (англ. *mimicry* – подражание, маскирование) рецепторных белков макроорганизма, при этом снижается эффективность иммунного ответа. Высокой чувствительностью к распознаванию лигандов, адгезией обладают виды *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis*. Низкий уровень адгезии – у видов *Candida glabrata* и *Candida krusei*. Степень адгезии коррелирует с патогенностью *Candida spp.* для человека и животных и связана с диморфизмом. Степень адгезии оральных штаммов *Candida spp.*, выделенных от больных в период обострения хронического заболевания, выше, чем в период ремиссии. Адгезивные свойства сахаромицетов усиливаются под действием глюкокортикоидных гормонов, антибиотиков, цитостатиков, они зависят

от срока и условий культивирования. Так, свежeweделенные изоляты грибов характеризуются увеличением адгезивной способности в 1,5–3 раза [2–7].

Известна способность грибов рода *Candida* к образованию биопленок. Национальный институт здравоохранения (NIH) оценивает, что биопленки являются причиной ~ 80% микробных инфекций людей [17, 19]. На процесс формирования биопленок и их свойства влияют физико-химические свойства (рН, осмолярность и т. д.), наличие питательных веществ, межклеточная коммуникация посредством специфических ауторегуляторов и др. [28]. Биопленки могут быть как моновидовыми, так и межвидовыми ассоциациями с другими микробами [28]. Полимикробные биопленки обеспечивают преимущества для каждого вида [15, 31].

Формирование биопленок *Candida spp.* можно разделить на четыре основных этапа: первый состоит в адгезии отдельных грибковых дрожжевых клеток к субстрату, образующему основу слоя базальных клеток дрожжей (*этап адгезии*). За этим следует фаза пролиферации клеток по всей поверхности и филаментация, когда клетки образуют удлинённые выступы, которые продолжают расти в нитевидные гифальные формы (*этап инициации*). Производство гиф является отличительным признаком начала образования биопленки у кандид с последующим накоплением внеклеточного полисахаридного матрикса по мере созревания биопленки (*этап созревания*). На последнем этапе неприлипающие (планктонные) дрожжевые клетки высвобождаются из биопленки в окружающую среду, где они могут колонизировать другие поверхности (*стадия рассеивания*). Дисперсия связанных с биопленкой эукариотических клеток имеет большое клиническое значение. Высвобождаемые клетки могут распространяться в тканях и инициировать образование новых биопленок, что связано с кандидемией и распространённым инвазивным кандидозом [17, 18].

Наличие биопленки обеспечивает структурную неоднородность, уменьшает восприимчивость к противомикробным препаратам и биоцидам, препятствует проникновению противомикробных агентов, защищает гриб от факторов иммунитета, способствует приобретению сессильными (оседлыми) формами микроорганизмов в составе биопленки, новых признаков через горизонтальный перенос генов [16, 21, 44, 45]. Противогрибковые средства, действующие на *Candida spp.*, становятся неэффективными через 72 часа, при этом развитие лекарственной устойчивости по времени совпадает с созреванием биопленки» [20, 22, 45]. Биопленка *Candida albicans* высокоструктурирована: содержит клетки дрожжевой формы, псевдогифальные клетки, клетки гифов, окруженные внеклеточным матриксом; она является наиболее распространённой грибковой биопленкой у пациентов стационара [17–18]. Установлено, что виды *Candida albicans* и *Candida auris* имеют более выраженную способность к биопленкообразованию, чем виды *Candida glabrata* и *Candida krusei* [34].

Поскольку биопленка представлена полисахаридной матрицей, *Candida spp.* нуждается в сахарах не только для роста и размножения, но и для образования биопленок, а хроническая гипергликемия является одной из причин, по которой у пациентов с сахарным диабетом различные формы кандидозов встречаются чаще, чем у людей, не имеющих нарушений углеводного обмена. [49]. Для препятствия образованию биопленок и для их разрушения, для эффективного лечения кандидоза используют не только противогрибковые средства и пробиотики, но и низкоуглеводную диету, а также такие ферменты, как люмброкиназа [20].

Взаимоотношения сахаромикетов рода *Candida* и человека являются мутуалистическими, если гриб находится в конкурентных отношениях за ресурсы с прокариотами. Колонизируя влагалище здоровых женщин, гриб ингибирует миграцию патогенов из прямой кишки в уретру. В случае ослабления клеточного иммунитета происходит смена характера симбиотических отношений от комменсализма до оппортунистического паразитизма. Так, при иммунодефиците CD4 человек выступает в роли аменсала и кандидоз может predisполагать к летальному исходу [2, 50].

Выводы

Таким образом, проблемная аналитическая информация открывает широкую дискуссию относительно особенностей эпидемиологии кандидоза как эндогенной аутоинфекции, имеющей нециклический характер инфекционного процесса. Грибы рода *Candida* генетически и фенотипически пластичны, высокоадаптированы к ритму макроорганизма, пролиферация клеток кандид происходит с 0 до 4 часов утра. Аспартил-протеиназа и фосфолипаза облегчают внутриклеточное проникновение, псевдомицелий дрожжей обеспечивает инвазию тканей; эндотоксины и гемолизин способствуют интоксикации и сенсибилизации. Понимание природы оппортунистического инфекционного заболевания – кандидамикоза может влиять на избранные способы лечения и профилактики. Углубленный подход к микробиологическим и молекулярно-генетическим методам диагностики кандидоза позволит провести дифференциацию между рефрактерным заболеванием и здоровым носительством. Стоит отметить увеличение адгезивной способности кандид и активности образования биопленок у штаммов *Candida albicans* в период рецидива заболевания, созревание биопленки *Candida spp.* по времени совпадает с развитием устойчивости грибов к антимикотикам. Степень адгезии сахаромикетов увеличивается под действием глюкокортикоидных гормонов, антибиотиков, цитостатиков, зависит от условий культивирования. Высокая способность штаммов *Candida albicans* и *Candida auris* быстро образовывать моновидовые и межвидовые биологические пленки увеличивает их патогенный потенциал для риска развития инвазивных кандидозов и кандидемии, микст-инфекций. Существенное влияние на развитие инвазивного

кандидоза оказывает CD4-иммунодефицит. Пациенты с хроническим рецидивирующим кандидозом должны быть обследованы для исключения нарушений углеводного обмена, заболеваний крови, онкологических и других состояний, для которых характерно снижение антифунгальной резистентности организма. В перспективе имеется потребность усовершенствования тест-систем для видовой идентификации сахаромицетов рода *Candida*, поиск эффективных антимикотических препаратов и микробиологических маркеров для персонализированной профилактики инвазивных кандидозов у пациентов ОРВИ, онкологических, гематологических, ожоговых отделений, профилактики рисков развития рецидивов и утяжеления течения хронических форм кандидоза. Перспективным направлением для профилактики рецидивов при хроническом кандидозе может стать исследование антагонистов сахаромицетов рода *Candida* из состава микробиома человека, например лактобактерий и/или бифидобактерий.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – СНВ

Сбор и обработка материала – КИП, СНВ, ВЕВ, ВЛГ, СОЕ

Написание текста – СНВ, СОЕ

Редактирование – СНВ, ВЛГ, СОЕ

Литература / References

1. Neil AR Gow, Bhawna Yadav. Microbe Profile: *Candida albicans*: a shape-changing, opportunistic pathogenic fungus of humans. *Microbiology*. 2017;(8)163:1145–7. doi: 10.1099/mic.0.000499
2. Антонова Е.А., Косякова К.Г. Грибы рода *Candida* – возбудители инфекционных состояний. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2019;(1):457–8 [Antonova EA, Kosyakova KG. Fungi of the genus *Candida* – pathogens of infectious conditions. *Health is the basis of human potential: problems and ways to solve them (Human Potential-2019)*. 2019;(1):457–8 (In Russ.)].
3. Николаева Е.Н. Частота встречаемости в полости рта дрожжеподобных грибов рода *Candida* при остром респираторном заболевании. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2013;12(5):69–70 [Nikolaeva EN. Incidence of yeast-like fungi of the genus *Candida* in the oral cavity in acute respiratory disease. *International Research Journal*. 2013;12(5):70 (In Russ.)].
4. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика. Санкт-Петербург: Коста, 2010 [Yelinov NP, Vasilyeva NV, Stepanova AA, Chilina GA. *Candidiasis*. Laboratory diagnostics. St. Petersburg: Costa, 2010 (In Russ.)].
5. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.Б. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. М.: Триада, 2001 [Sergeev AYU, Sergeev YUB. *Candidiasis*. Nature of infection, mechanisms of aggression and protection, laboratory diagnosis, clinic and treatment. Moscow: Triada, 2001 (In Russ.)].
6. Peters BM, Palmer GE, Nash AK, Lilly EA, Fidel JrPL, Noverr MC. Fungal morphogenetic pathways are required for the hallmark inflammatory response during *Candida albicans* vaginitis. *Infection Immunity*. 2014;82(2): 532–43. doi: 10.1128/IAI.01417-13
7. Zanni PCMD, Bonfim-Mendonça PS, Negri M, Nakamura SS, Donatti L, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Virulence factors and genetic variability of vaginal *Candida albicans* isolates from HIV-infected women in the post-highly active antiretroviral era. *Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo*. 2017;59:44. doi: 10.1590/S1678-9946201759044
8. Sabino R, Verissimo C, Pereira AA, Antunes F. *Candida auris*, an agent of hospital-associated outbreaks: which challenging issues do we need to have in mind? *Microorganisms*. 2020;8(2):181. doi: 10.3390/microorganisms8020181
9. Капустина О.А., Карташова О.Л., Потехина Л.П., Уткина Т.М. Биопленкообразование *Candida sp.*, выделенных из разных биотопов тела человека. *Проблемы медицинской микологии*. 2011;13(2):81–2 [Kapustina OA, Kartashova OL, Potekhina LP, Utkina TM. Biofilm formation of *Candida sp.* isolated from different biotopes of the human body. *Problems in medical mycology*. 2011;13(2):81–2 (In Russ.)].
10. Шевяков М.А., Авалуева Е.Б., Барышникова Н.В. Грибы рода *Candida* в кишечнике: клинические аспекты (обзор). *Проблемы медицинской микологии*. 2007; 9(4):4–11 [Shevyakov MA, Avalueva EB, Baryshnikova NV. Fungi of the genus *Candida* in the intestine: clinical aspects (review). *Problems in medical mycology*. 2007; 9(4):4–11 (In Russ.)].
11. Васильева Н.В., Круглов А.Н., Степанова А.А., Чилина Г.А., Босак И.А., Богомолова Т.С. Цитологические особенности дрожжевых клеток мультирезистентного патогена *Candida auris*. *Проблемы медицинской микологии*. 2018.20(3):3–7 [Vasilyeva NV, Kruglov AN, Stepanova AA, Chilina GA, Bosak IA, Bogomolova TS. Cytological features of yeast cells of the multi-resistant pathogen *Candida auris*. *Problems in medical mycology*. 2018;20(3):3–7 (In Russ.)].
12. Волосач О.В. Лечение кандидоза: возможности и перспективы (обзор литературы). *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2014;(2):19–23 [Volosach OV. Treatment of candidiasis: opportunities and prospects (literature review). *Journal of the Grodno State Medical University*. 2014;(2):19–23 (In Russ.)].
13. Богадельников И.В., Мужецкая Н.И., Смирнов Г.И. Современное представление об инфекционных процессах. *Новости медицины и фармации*. 2014;4(488):10–3 [Bogadelnikov IV, Muzhetskaya NI, Smirnov GI. Modern understanding of infectious processes. *News of medicine and pharmacy*. 2014;4(488):10–3 (In Russ.)].
14. Богадельников И.В., Крюгер Е.А., Бобрышева А.В., Мужецкая Н.И. Возможные перспективы развития современной инфектологии. *Детские инфекции*. 2015;(14)2:69–72 [Bogadelnikov IV, Kruger EA, Bobrysheva AV, Muzhetskaya NI. Possible prospects for the development of modern infectiology. *Children infections*. 2015;(14)2:69–72 (In Russ.)].
15. Sztajer H, Szafranski SP, Tomasz J, Reck M, Nimtz M, Rohde M, Wagner-Döbler I. Cross-feeding and interkingdom communication in dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *The ISME journal*. 2014;8(11):2256–71. doi: org/10.1038/ismej.2014.73
16. Кириллова В.П., Ткач Т.М., Лямин А.В., Трунин Д.А., Серазетдинова А.Р. Пленкообразующая способность грибов рода *Candida*, выделенных со слизистой оболочки полости рта больных хроническим миелолейкозом. *Российский стоматологический журнал*. 2015;19(5):15–8 [Kirillova VP, Tkach TM, Lyamin AV, Trunin DA, Sirazetdinova AR. Film-forming ability of *Candida* fungi isolated from the oral mucosa of patients with chronic myeloid leukemia. *Russian Journal of Dentistry*. 2015;19(5):15–8 (In Russ.)].
17. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans*

- biofilms. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(1):19–31. doi: 10.1038/nrmicro.2017.107
18. Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathog Dis*. 2016;74(4). doi: 10.1093/femspd/ftw018
 19. Cavalheiro M, Teixeira MC. *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. *FrontMed (Lausanne)*. 2018;5:28. doi: 10.3389/fmed.2018.00028
 20. Чеботарь И.В., Паршиков В.В. Исследование действия антимикотических препаратов на биопленки, сформированные грибами рода *Candida*. *Акушерство и гинекология*. 2013;(5):98–102. [Chebotar IV, Parshikov VV Study of the effect of antimycotic drugs on biofilms formed by fungi of the *Candida* genus. *Obstetrics and gynecology*. 2013;(5):98–102 (In Russ.)].
 21. Sahal G, Bilkay IS. Distribution of clinical isolates of *Candida spp.* and antifungal susceptibility of high biofilm-forming *Candida* isolates. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2018;51(5):644–50. doi: 10.1590/0037-8682-0136-2018
 22. Хашукоева А.З., Сафониная М.С., Андреасян Г.О., Мясоутова А.И., Оверко А.В. Терапевтические подходы в лечении вульвовагинального кандидоза. *Медицинский совет*. 2020;13:138–46 [Khashukoeva AZ, Afonina MS, Andrea-syan GO, Myasoutova AI, Overko AV. Therapeutic approaches in the treatment of vulvovaginal candidiasis. *Medical Council*. 2020;(13):138–46 (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-13-138-146
 23. Rhodes J, Fisher MC. Global epidemiology of emerging *Candida auris*. *Current opinion in microbiology*. 2019;52:84–9. doi: org/10.1016/j.mib.2019.05.008
 24. Попова Н.В., Куперт А.Ф., Киборт Р.В., Платонова Т.А., Филатова Л.С. Вагинальный кандидоз у пациенток гинекологического отделения. *Acta Biomedica Scientifica*. 2005;1(39):85–7 [Popova NV, Kupert AF, Kibort RV, Platonova TA, Filatova LS. Vaginal candidiasis in gynecological patients. *Acta Biomedica Scientifica*. 2005;1(39):85–7 (In Russ.)].
 25. Ostrosky-Zeichner L, Al-Obaidi M. Invasive fungal infections in the intensive care. *Unit. Infect. Dis. Clin. North Am*. 2017;31(3):475–87. doi: 10.1016/j.idc.2017.05.005
 26. Шагдильева Е.В., Шадривова О.В., Чудиновских Ю.А., Моталкина М.С., Зюзгин И.С., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Хохлова А.В., Артемьева А.С., Клишко Н.Н. Первый случай острого диссеминированного кандидоза, обусловленного двумя возбудителями *Candida albicans* и *Candida glabrata*, у пациентки с лимфогранулематозом. *Проблемы медицинской микологии*. 2019;(2):15–21 [Shagdileeva EV, Shadrivova OV, Chudinovskikh YuA, Motalkina MS, Zyuzgin IS, Bogomolova TS, Vybornova IV, Khokhlova AV, Artemyeva AS, Klimko NN. The first case of acute disseminated candidiasis caused by two pathogens *Candida albicans* and *Candida glabrata* in a patient with lymphogranulomatosis. *Problems in medical mycology*. 2019;(2):15–21 (In Russ.)].
 27. Клишко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. 3-е изд. перераб. и доп. М.: Фармтек, 2017 [Klimko NN. Mycoses: diagnosis and treatment. A Guide for Physicians. 3rd ed. reprint. and add. Moscow: Farmtek, 2017 (In Russ.)].
 28. Еноктаева О.В., Николенко М.В., Трушников Д.Ю. Механизмы адаптации грибов рода *Candida* (обзор литературы). *Проблемы медицинской микологии*. 2022;(3):5–6 [Enoktayeva OV, Nikolenko MV, Trushnikov DYU. Adaptation mechanisms of *Candida* fungi (literature review). *Problems in medical mycology*. 2022;(3):5–6 (In Russ.)].
 29. Баранцевич Н.Е., Леванова В.В., Баранцевич Е.П. Региональные особенности распространения *Candida auris*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021;23(2):117–25 [Barantsevich NE, Levanova VV, Barantsevich EP. Regional features of the spread of *Candida auris*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2021;23(2):117–25 (In Russ.)].
 30. Иванов А.А., Куличенко Т.В. *Candida auris*: проблемы диагностики и лечения. *Вопросы современной педиатрии*. 2020;19(1):20–5 [Ivanov AA, Kulichenko TV. *Candida auris*: problems of diagnosis and treatment. *Current Pediatrics*. 2020;19(1):20–5 (In Russ.)]. doi: 10.15690/vsp.v19i1.2081
 31. Вальшев А.В., Вальшева И.В., Гейде И.В. Образование биопленок фекальными штаммами энтеробактерий и дрожжевых грибов рода *Candida*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2009;(4):44–6 [Valyshev AV, Valysheva IV, Geide IV. Formation of biofilms by fecal strains of Enterobacteria and yeast fungi of the *Candida* genus. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2009;(4):44–6 (In Russ.)].
 32. Сергеев А.Ю. Иммуитет при кандидозе. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 1999;(1):81–6 [Sergeev AYU. Immunity in candidiasis. *Immunopathology, allergology, infectology*. 1999;(1):81–6 (In Russ.)].
 33. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология, 1998 [Pokrovsky VI, Pozdeev OK. Medical Microbiology; 1998 (In Russ.)].
 34. Александрова Н.А., Заславская М.И., Ипатова А.О., Махрова Т.В., Игнатова Н.И. Анализ биопленкообразования *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. krusei*. *Проблемы медицинской микологии*. 2022;(3):48–50 [Alexandrova NA, Zaslavskaya MI, Ipatova AO, Makhrova TV, Ignatova NI. Analysis of biofilm formation of *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. krusei*. *Problems in medical mycology*. 2022;(3):48–50 (In Russ.)].
 35. Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KH, Jang HC. First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9):3139–42. doi: 10.1128/JCM.00319-11
 36. Kumar A, Sachu A, Mohan K, Vinod V, Dinesh K, Karim S. Simple low cost differentiation of *Candida auris* from *Candida haemulonii* complex using CHROMagar *Candida* medium supplemented with Pal's medium. *Revista Ibero americana de Micologia*. 2017;34(2):109–11. doi: 10.1016/j.riam.2016.11.004
 37. Cortegiani A, Misseri G, Fasciana T, Giammanco A, Giaratano A, Chowdhary A. Epidemiology, clinical characteristics, resistance, and treatment of infections by *Candida auris*. *J Intensive Care*. 2018;6(69). doi: 10.1186/s40560-018-0342-4
 38. Schelenz S, Hagen F, Rhodes JL, Abdolrasouli A, Chowdhary A, Hall A, Ryan L, Shackleton J, Trimlett R, Meis JF, Armstrong-James D, Fisher MC. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016;5(35). doi: 10.1186/s13756-016-0132-5
 39. Welsh RM, Bentz ML, Shams A, Houston H, Lyons A, Rose LJ, Livintseva AP. Survival, persistence, and isolation of the emerging multidrug-resistant pathogenic yeast *Candida auris* on a plastic health care surface. *J Clin Microbiol*. 2017;55(10):2996–3005. doi: 10.1128/JCM.00921-17
 40. Vallabhaneni S, Kallen A, Tsay S, Chow N, Welsh R, Kerins J, Kemble SK, Pacilli M, Black SR, Landon E, Ridgway J, Palmore TN, Zelzany A, Adams EH, Quinn M, Chaturvedi S, Greenko J, Fernandez R, Southwick K, Furuya EY, Calfee DP, Hamula C, Patel G, Barrett P, Lafaro P, Berkow EL, Moulton-Meissner H, Noble-Wang J, Fagan RP, Jackson BR, Lockhart SR, Litvintseva AP, Chiller TM. Investigation of the first seven reported cases of *Candida auris*, a globally emerging invasive, multidrug-resistant fungus. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(44):1234–7. doi: 10.15585/mmwr.mm6544e1
 41. Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunol*. 2009;53(1):41–4. doi: 10.1111/j.1348-0421.2008.00083
 42. Морозов А.М., Морозова А.Д., Беляк М.А., Замана Ю.А., Жуков С.В. Инфекции, связанные с оказанием медицинской

- помощи. Современный взгляд на проблему (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*. Электронное издание. Тула, 2022; 16(4):107–16 [Morozov AM, Morozova AD, Belyak MA, Zamana YuA, Zhukov SV. Infections associated with the provision of medical care. Modern view on the problem (literature review). *Journal of New Medical Technologies*, electronic edition. Tula, 2022;16(4):107–16 (In Russ.)].
43. Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S, Farooqi J, Chowdhary A, Govender NP, Colombo AL, Calvo B, Cuomo CA, Desjardins CA, Berkow EL, Castanheira M, Magobo RE, Jabeen K, Asghar RJ, Meis JF, Jackson B, Chiller T, Litvintseva AP. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clin Infect Dis*. 2017;64(2):134–40. doi: 10.1093/cid/ciw691
44. Пастухов Д.М. Особенности влияния *Candida spp.* на бактерии полости рта. *Международный студенческий научный вестник*. 2018;(1):8–9 [Pastukhov DM. Features of the influence of *Candida spp.* on oral bacteria. *International Student Scientific Bulletin*. 2018;(1): 8–9 (In Russ.)].
45. Tulasidas S, Rao P, Bhat S, Manipura R. A study on biofilm production and antifungal drug resistance among *Candida* species from vulvovaginal and bloodstream infections. *Infect Drug Resist*. 2018;11:2443–8.
46. Барышникова Н.В., Николенко М.В. Суточная пролиферативная активность *Candida albicans*. *Проблемы медицинской микологии*. 2020;22(3):48 [Baryshnikova NV, Nikolenko MV. Daily proliferative activity of *Candida albicans*. *Problems in medical mycology*. 2020;22(3):48 (In Russ.)].
47. Богадельников И.В., Мужецкая Н.И., Крюгер Е.А. Дифференциальная диагностика циклического и нециклического инфекционных процессов. *Новости медицины и фармации*. 2012;4(402):16–9 [Bogadelnikov IV, Muzhetskaya NI, Kruger EA. Differential diagnosis of cyclic and non-cyclic infectious processes. *News of medicine and pharmacy*. 2012;4(402):16–9 (In Russ.)].
48. Crawford A, Wilson D. Essential metals at the host–pathogen interface: nutritional immunity and micronutrient assimilation by human fungal pathogens. *FEMS yeast research*. 2015;15(7). doi: org/10.1093/femsyr/fov071
49. Бурова С.А. Системный и локализованный кандидоз у больных сахарным диабетом. *РМЖ*. 2003;17:969 [Burova SA. Systemic and localized candidiasis in diabetic patients. *RMJ*. 2003;17:969 (In Russ.)].
50. Hall RA, Noverr MC. Fungal interactions with the human host: exploring the spectrum of symbiosis. *Current opinion in microbiology*. 2017;40:58–64. doi: 10.1016/j.mib.2017.10.020

УДК 612.13:616-073.43

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-27-34



Оценка органной перфузии и волемического статуса с помощью ультразвука

М.В. Зозуля, А.И. Ленкин

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Представлен обзор литературы, посвященный ультразвуковому мониторингу волемического статуса и органной перфузии у пациентов в критическом состоянии, определению чувствительности к инфузионной нагрузке с помощью доплерометрических показателей кровотока в периферических артериях. Обосновывается надежность и точность этих параметров, их соответствие показателям, полученным методами препульмональной и транспульмональной термодилуции. Рассматриваются технические аспекты ультразвукового исследования данных параметров.

Ключевые слова: волемический статус, чувствительность к инфузионной нагрузке, гиперволемия, венозный застой, ультразвук

Поступила в редакцию: 02.12.22. Получена после доработки: 08.12.22. Принята к публикации: 14.02.23

Для цитирования: Зозуля М.В., Ленкин А.И. Оценка органной перфузии и волемического статуса с помощью ультразвука. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:27–34. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-27-34

Для корреспонденции: Зозуля Мария Васильевна – врач – анестезиолог-реаниматолог клиник СЗГМУ им. И.И. Мечникова (191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41); ORCID: 0000-0002-3498-4023; e-mail: ya.zqwt@yandex.ru

Evaluation of organ perfusion and intravascular volume status by ultrasound

M.V. Zozulya, A.I. Lenkin

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

This review article is devoted to ultrasound monitoring of intravascular volume status and organ perfusion in critically ill patients. In particular, approaches to determination of fluid responsiveness using Doppler-estimated blood flow in peripheral arteries are discussed. The reliability and accuracy of these parameters are substantiated by their comparison with the parameters obtained by prepulmonary and transpulmonary thermodilution methods. The technicalities of ultrasound examination of the abovementioned parameters are considered.

Keywords: intravascular volume status, fluid responsiveness, hypervolemia, venous congestion, ultrasound.

Received 2 December 2022. Revised 8 December 2022. Accepted 14 February 2023

For citation: Zozulya M.V., Lenkin A.I. Evaluation of organ perfusion and intravascular volume status by ultrasound. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:27–34. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-27-34

Corresponding author: Maria V. Zozulya, anesthesiologist of the clinics of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (41 Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russia); ORCID: 0000-0002-3498-4023; e-mail: ya.zqwt@yandex.ru

У пациентов в критическом состоянии с артериальной гипотензией и шоком первой линией терапии является инфузионная терапия, цель которой – восполнение дефицита объема циркулирующей крови и увеличение ударного объема левого желудочка. Однако только половина гемодинамически нестабильных пациентов отвечает на инфузионную терапию значимым (более чем на 10–15%) увеличением сердечного выброса (СВ) [1]. Этот и другие функциональные параметры (ударный объем, общее периферическое сосудистое сопротивление, индекс внесосудистой воды легких и др.) определяются при проведении препульмональной и транспульмональной термодилуции с помощью катетера Сван-Ганца или системы PiCCO соответственно. Их проведение не всегда возможно технически и, кроме того, неоправданно повышает инвазивность и стоимость лечения.

В последнее время инвазивный мониторинг часто заменяется неинвазивным (биоимпеданс/биореактивность, USCOM – ultrasonic cardiac output monitors)

или малоинвазивным (анализ пульсовой волны), хотя данные об их объективности и достоверности неоднозначны [2]. Ультразвуковые исследования применяются в анестезиологической практике и интенсивной терапии практически повсеместно. Для оценки волемического статуса чаще всего оценивается диаметр нижней полой вены и его изменения при дыхании, хотя последние данные говорят о ненадежности этого показателя [3]. Трансторакальная фокусная эхокардиография является методом выбора для оценки сократимости миокарда, функции клапанов сердца и степени наполнения его камер, однако часто исследователю трудно визуализировать все камеры сердца и провести соответствующие измерения. У 40% пациентов, находящихся в отделении реанимации, невозможно обнаружить удовлетворительное акустическое окно, а у 69% невозможно рассчитать фракцию выброса левого желудочка [4, 5]. Более того, эхокардиография требует от исследователя определенной теоретической

подготовки и мануальных навыков. В связи с этим продолжают поиски более простых и чувствительных ультразвуковых параметров для оценки волемического статуса.

У пациентов в критическом состоянии определенным интересом представляет оценка регионарной перфузии. Перфузия отдельных органов более объективно отражает состояние системы кровообращения, чем СВ. Нарушения периферического кровообращения выявляются раньше, чем снижение артериального давления (АД) или СВ. После нормализации этих показателей восстановление адекватного кровообращения в органах и тканях происходит медленно. Интенсивность движения крови через магистральные, поверхностно расположенные артерии (плечевая, общая сонная) коррелирует с кровотоком через выводной тракт левого желудочка [6, 7]. При этом доплерометрическая оценка спланхического артериального и венозного кровотока служит критерием адекватности органной перфузии [8].

К уникальным свойствам ультразвукового исследования можно отнести способность выявлять не только гиповолемию, но и гиперволемию, которая нередко встречается у реанимационных пациентов. Патологическая перфузия через воротную вену, внутрипочечные вены и печеночные вены является индикатором перегрузки жидкостью. Выявление таких паттернов кровотока может помочь врачу контролировать дегидратационную терапию, которая включает ограничение объема инфузии и назначение диуретиков, а в отдельных случаях и проведение заместительной почечной терапии.

Почечный и селезеночный резистивный индекс (renal/splenic doppler resistive index, RDRI, SDRI)

Резистивный индекс отображает сопротивление артерий потоку крови. Внутрипочечные междольевые и сегментарные артерии имеют низкое сосудистое сопротивление, кровоток в них происходит постоянно в систолу и диастолу. Это обусловлено высоким минутным почечным кровотоком (до 20% от СВ), поскольку почки являются ключевым органом, регулирующим гомеостаз. Резистивный индекс измеряется по формуле:

$$(PSV - EDV)/PSV,$$

где PSV – пиковая систолическая скорость, EDV – конечно-диастолическая скорость.

При развитии гиповолемии, например при острой кровопотере, происходит централизация кровообращения за счет вазоконстрикции, в том числе почечных артерий. На значение резистивного индекса оказывает влияние в основном комплексное воздействие системной гемодинамики, жесткости аорты и податливости почечных артерий, а также почечной микроциркуляции [9]. У пациентов в критическом состоянии дополнительными факторами, которые будут влиять на RDRI, являются искусственная вентиляция легких с положительным давлением, использование вазопрессоров и повышенное внутрибрюшное давление.

У многих пациентов, находящихся в критическом состоянии, развивается острое почечное повреждение (ОПП). Это осложнение существенно увеличивает риск неблагоприятного исхода, в связи с этим ранняя диагностика ОПП является одной из приоритетных и до сих пор нерешенных клинических проблем [10]. Традиционно измеряемые показатели (сывороточный креатинин, мочевины, скорость клубочковой фильтрации, протеинурия) достигают критических значений, когда выделительная функция почек уже значительно нарушена. Биомаркеры острого почечного повреждения позволяют прогнозировать развитие ОПП еще до повышения креатинина сыворотки крови (за 12–24 часа) [11]. Их широкое использование в клинической практике ограничено, а значение в улучшении выживаемости пациентов окончательно не доказано [12]. Ведущим механизмом развития ОПП у пациентов в критическом состоянии считается гипоперфузия, и потому оценка перфузии почек может помочь в ранней диагностике и мониторинге эффективности проводимого лечения.

Из методов оценки перфузии почек наиболее доступным и приемлемым является ультразвуковое исследование. Допплерометрические показатели почечного кровотока могут быть использованы для прогнозирования развития и обратимости ОПП у пациентов в критическом состоянии, что нашло подтверждение в нескольких обсервационных исследованиях [13–15]. К примеру, S. Rozemeijer и соавт. [13] выявили, что у пациентов с шоком любой этиологии значения RDRI были достоверно выше, чем у пациентов без шока, а значения этого показателя коррелировали с частотой развития ОПП (0,751 [0,692–0,788] против 0,654 [0,610–0,686], $p < 0,001$). Данный показатель коррелировал со значением среднего АД и потребностью в вазопрессорной поддержке (более высокий RDRI у пациентов с лактатом более 3 ммоль/л и вазопрессорной поддержкой, чем без нее). Авторы пришли к выводу, что значения RDRI в большей степени обусловлены изменениями АД, индекса пульсового давления, применением вазопрессорной поддержки, чем влиянием СВ и параметров микроциркуляции.

Более надежным предиктором развития ОПП является комбинация высокого центрального венозного давления (ЦВД) ($\geq 9,5$ – $11,5$ мм рт. ст.) и RDRI ($\geq 0,695$), что было доказано в нескольких исследованиях [15, 16]. В то время как ЦВД традиционно считается маркером преднагрузки правого желудочка, оно также влияет на венозный кровоток в органах брюшной полости, в особенности в почках, так как они находятся в замкнутом пространстве, ограниченном капсулой. Соответственно, высокие значения ЦВД снижают почечное перфузионное давление (среднее АД минус ЦВД), препятствуя оттоку крови из почек. Высокое ЦВД повышает риск развития ОПП у пациентов с сепсисом и септическим шоком [15, 16], а также у пациентов с острой сердечной недостаточностью вне зависимости от значений сердечного индекса [17].

Методологически правильно измерять почечный резистивный индекс на уровне сегментарных или междолевых артерий в разных участках почек с определением среднего значения. Из всех доплерометрических показателей RDRI наиболее сложен технически. Пациенту необходимо задержать дыхание, чтобы изображение на экране аппарата стало неподвижным, а перемещение крови по междолевой артерии и вене фиксируется импульсно-волновой доплерометрией. Пациенты в критическом состоянии не всегда могут выполнить задержку дыхания, иногда контакт с ними затруднен, что еще больше осложняет проведение исследования.

Кровоток по селезеночной артерии составляет до 10% от СВ. При резком снижении объема циркулирующей крови при кровопотере в системную циркуляцию одномоментно может быть перемещен значимый объем крови из селезенки [18]. Отмечается повышение тонуса селезеночной артерии на фоне выраженной симпатической стимуляции, что проявляется увеличением значений селезеночного резистивного индекса (SDRI), в норме составляющего 0,6–0,65. Так, у пациентов с тяжелой сочетанной травмой, которые при поступлении в стационар не имели признаков шока, но при этом доплерометрическое исследование селезеночной артерии демонстрировало высокие значения SDRI, в последующие сутки развивался гиповолемический шок, а у пациентов с нормальными значениями SDRI состояние оставалось стабильным [19].

С. Brusasco и соавт. [20] показали, что значения SDRI меняются при проведении инфузионной терапии. В их исследование были включены кардиохирургические пациенты на искусственной вентиляции легких в раннем послеоперационном периоде. Снижение SDRI менее чем на 4% после болюсного внутривенного введения жидкости исключало восприимчивость к инфузионной нагрузке. При этом снижение значений SDRI более чем на 10% после инфузии свидетельствовало о том, что пациент восприимчив к инфузионной нагрузке [20]. В этой работе абсолютные значения SDRI между группами пациентов, восприимчивых и невосприимчивых к инфузионной нагрузке, статистически не отличались как до инфузии ($0,68 \pm 0,09$ и $0,64 \pm 0,09$; $p = 0,106$ соответственно), так и после ($0,63 \pm 0,09$ и $0,62 \pm 0,09$; $p = 0,928$ соответственно) [20]. Это свидетельствует о том, что значение SDRI важно оценивать в динамике. Лишь крайние значения (более 0,75–0,8) служат признаком гиповолемии.

Селезеночный резистивный индекс оценивается в трех локализациях (верхнем, среднем и нижнем участках селезенки) и определяется среднее значение показателя. Для расчета SDRI также не требуется коррекция доплеровского угла.

Оценка кровотока через общую сонную артерию

От 15 до 26% СВ приходится на церебральный кровоток, большая часть которого осуществляется через сонные артерии. Ультразвуковое исследование

кровотока через сонную артерию может использоваться как инструмент гемодинамического мониторинга, поскольку имеется соответствие показателей каротидного кровотока и СВ [6, 7]. Определение статических индексов и/или динамических показателей каротидной доплерометрии позволяет выявить восприимчивость к инфузионной нагрузке [21].

Скорректированное время потока (ccFT, corrected carotid flow time) рассчитывается по формуле:

$$\text{ccFT} = \text{flow time} / \sqrt{\text{cycle time}},$$

где flow time – систолическое время, определяемое на кривой импульсно-волновой доплерометрии от начала подъема скорости потока до диастолической выемки (в мс), cycle time – время сердечного цикла от зубца R до зубца R либо время между двумя пиками систолической скорости (в секундах).

Формула аналогична формуле Базетта для расчета скорректированной продолжительности интервала QT. То есть можно измерить время систолического потока в режиме импульсно-волновой доплерометрии, частоту сердечных сокращений (ЧСС) и эти показатели подставить в соответствующую формулу на медицинском электронном калькуляторе (рис. 1).

При оценке волемического статуса с помощью каротидной доплерометрии параметр ccFT рассматривается как весьма объективный показатель [22]. При этом учитываются абсолютные значения и их изменения в процентах при проведении теста с быстрой инфузионной нагрузкой или теста с подъемом нижних конечностей. Значение в 300–350 мс выступает в качестве порогового, при меньших показателях с высокой долей вероятности пациент положительно ответит на инфузионную нагрузку. Авторы одной из первых работ, посвященной оценке ccFT в качестве волюметрического показателя, установили, что у пациентов с явной гиповолемией средние значения ccFT были 299 мс, а прирост после инфузии 1100 мл кристаллоидного раствора в среднем составлял 15% [21]. Изменения абсолютных значений ΔccFT от 7 до 30 мс, а также прирост показателя на 15–25% после выполнения теста с подъемом нижних конечностей считаются пороговыми для выявления гиповолемии. Показатель ccFT не зависит от фаз дыхания (что характерно для скоростных параметров), а также менее зависим от правильности коррекции угла сканирования доплеровского луча.

Динамика изменений скорости церебрального кровотока (ΔCBF) при проведении пробной инфузионной нагрузки имеет наиболее высокую диагностическую ценность при выявлении пациентов восприимчивых к инфузионной нагрузке (респондеров) [22]. При этом пороговым считается прирост значений в пределах 9–14%. Расчет церебрального кровотока проводится по формуле:

$$\text{CBF} = \pi \times D^2 / 4 \times \text{VTI} \times \text{ЧСС} \text{ или } 0,875 \times D^2 \times \text{VTI} \times \text{ЧСС}.$$

Во многих ультразвуковых аппаратах объемная скорость кровотока рассчитывается автоматически,

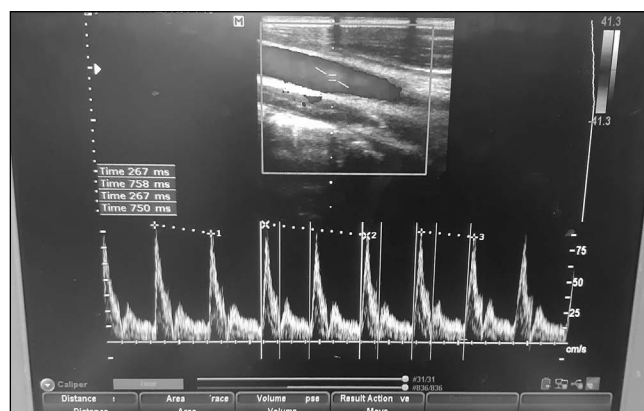


Рис. 1. Измерение доплерометрических показателей каротидного кровотока (скорректированное время систолического потока). Для расчета $ccFT$ необходимо измерить время систолического потока (Time 267 мс в данном примере), затем общее время кровотока за один сердечный цикл (Time 758 мс). Применяя формулу Базетта, получим $ccFT=307$ мс. Также отмечена респираторная вариабельность пиковой систолической скорости кровотока (ΔV_{peak}).

необходимо только вручную определить диаметр общей сонной артерии (ОСА) и получить адекватную кривую кровотока в импульсно-волновом режиме.

Каротидный кровоток имеет свои особенности. В отличие от кровотока через выводной тракт левого желудочка (ВТЛЖ), диаметр ОСА меняется на протяжении сердечного цикла [23]. Широко распространенный метод оценки волемического статуса с помощью определения VTI (интеграла скорости по времени) через ВТЛЖ основан на том, что диаметр ВТЛЖ постоянен. Изменения значений VTI отражают изменение ударного объема и волемического статуса в целом. Нормальные значения VTI ВТЛЖ находятся в диапазоне 18–22 см. В связи с меняющимся диаметром ОСА показатель VTI не может использоваться в качестве эквивалента кровотока [24]. С другой стороны, при оценке кровотока учитываются и диаметр сосуда, и VTI. Поэтому среднее значение каротидного кровотока после серии измерений (обычно достаточно трех) может с достаточной точностью отражать ударный объем. Увеличение церебрального кровотока после теста с подъемом нижних конечностей у гемодинамически нестабильных септических пациентов более значительно при гиповолемии [25]. При этом изменение индекса ударного объема, оцененного с помощью биоимпеданса, коррелирует с процентным изменением церебрального кровотока [25]. Авторы установили пограничное значение прироста церебрального кровотока в 20% для выявления пациентов, восприимчивых к инфузионной нагрузке с чувствительностью и специфичностью 94 и 86% соответственно.

Третьим показателем каротидного кровотока, который может отражать волемический статус, является респираторная вариабельность пиковой систолической скорости кровотока (ΔV_{peak}) (рис. 1). Она рассчитывается следующим образом:

$$\Delta V_{peak} = 100 \times (\text{maximum peak velocity} - \text{minimum peak velocity}) / [(\text{maximum peak velocity} + \text{minimum peak velocity}) / 2],$$

где maximum peak velocity – максимальная пиковая систолическая скорость за один дыхательный цикл, minimum peak velocity – минимальная пиковая систолическая скорость за один дыхательный цикл.

В исследовании D.H. Kim D.H. и соавт. [26] показано, что вариабельность пиковой систолической скорости кровотока обычно значительно выше перед инфузионной нагрузкой у респондеров, чем у нереспондеров: оптимальным пограничным значением для ΔV_{peak} было 9,1%, с чувствительностью 72,7% и специфичностью 87,1%. В эту работу были включены гемодинамически стабильные пациенты на спонтанном дыхании перед плановыми нейрохирургическими вмешательствами. У пациентов с нестабильной гемодинамикой, находящихся на искусственной вентиляции легких, вариабельность пиковой систолической скорости кровотока в ОСА выше из-за более выраженных кардиореспираторных взаимодействий. Это приводит к вариабельности ударного объема левого желудочка за время одного дыхательного цикла. При гиповолемии эта разница более выражена, что отображается на показателе ΔV_{peak} .

М.А. Ibarra-Estrada и соавт. [4] оценивали чувствительность показателя вариабельности пиковой систолической скорости кровотока, определенной в ОСА как предиктора восприимчивости к инфузионной нагрузке (7 мл/кг изотонического раствора в течение 30 минут) у септических пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких. При оценке других предикторов ответа на волемическую нагрузку (ЦВД, абсолютные значения и изменения диаметра нижней полой вены, вариации ударного объема и пульсового давления, индекс глобального конечно-диастолического объема при проведении теста с подъемом нижних конечностей) ΔV_{peak} , определенная в ОСА, имела наибольшую чувствительность и специфичность (86 и 86% соответственно), а также положительную и отрицательную прогностическую значимость (86 и 85% соответственно) при пороговом значении 14% [4]. У остальных показателей чувствительность и специфичность не превышали 70%.

Резистивный индекс кровотока в лучевой артерии в месте анатомической табакерки (Snuffbox resistive index, SBRI)

Общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС) рассчитывается по формуле:

$$\text{ОПСС} (\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5} \times \text{м}^2) = 80 \times (\text{АДср} - \text{ЦВД}) / \text{СВ}$$

Для расчета ОПСС необходимо вычислить сердечный выброс и определить (ЦВД), что требует инвазивного мониторинга. Поэтому поиск неинвазивного, надежного и быстрого способа расчета ОПСС видится одним из приоритетных направлений в гемодинамическом мониторинге.

В 2005 году К. Ван и К. Кочи [27] впервые предложили вычислять резистивный индекс (РИ) в лучевой артерии в месте анатомической табакерки с целью оценки ОПСС. Они установили прочную взаимосвязь между этими двумя показателями у пациентов после кардиохирургических операций ($r = 0,582$, $p < 0,0001$). Авторы сравнивали ОПСС с РИ в плечевой артерии в локтевом сгибе и в лучевой артерии в области запястья: РИ и ОПСС не коррелировали между собой (плечевая артерия: $r = 0,074$, $p = 0,12$; лучевая артерия: $r = 0,081$, $p = 0,09$). Это объясняется тем, что в месте анатомической табакерки ход кровотока в лучевой артерии и ультразвукового луча практически совпадают: требуемый доплеровский угол составлял всего $11,5 \pm 10,8^\circ$ против более 60° в двух других местах измерения (рис. 2). Значение угла критично для измерения РИ: при показателях более 60° ошибка в измерении скоростей составляет более 30%, что обусловлено резким возрастанием значения косинуса. Авторы не предложили диапазон нормальных значений РИ, который соответствовал бы нормальным значениям ОПСС. Взамен этого они отметили, что выявление на кривой кровотока в импульсно-волновом режиме диастолического реверса потока с высокой вероятностью говорит о значении индекса ОПСС более 2000 $\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5} \times \text{м}^2$ (норма 1970–2390 $\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5} \times \text{м}^2$), что свидетельствует о вазоконстрикции [27].

В другом исследовании также оценивали взаимосвязь между ОПСС, измеренным методом транспульмональной термодилуции, и РИ, но у пациентов с септическим шоком, в результате была выявлена сильная корреляция между этими показателями ($r = 0,87$, $p < 0,001$) [28]. При этом РИ 0,97 соответствовал нижней границе нормального индекса ОПСС (1700 $\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5} \times \text{м}^2$), а РИ 1,1 – верхней границе нормального индекса ОПСС (2400 $\text{дин} \times \text{с} \times \text{см}^{-5} \times \text{м}^2$). Чем глубже проводится измерение РИ в лучевой артерии, тем меньший угол коррекции требуется, тем выше корреляция между РИ и истинным ОПСС [27]. Идеально РИ измерять на глубине 1,5 см, хотя технически это более сложно.

Помимо приемлемого отображения ОПСС резистивный индекс может использоваться в качестве предиктора клиренса лактата в первые часы развития септического шока. При адекватной инфузионной терапии значение РИ более 1,09 с чувствительностью 64,3% и специфичностью 81,2% предсказывает 6-часовой клиренс лактата менее 20%, что ассоциировано с худшей выживаемостью [29]. Примечательно, что в представленном исследовании сердечный индекс, значения ОПСС и лабораторные показатели (сатурация смешанной венозной крови, артериовенозная разница по CO_2) не обладали способностью предсказывать 6-часовой клиренс лактата. При этом значения РИ были достоверно ниже ($0,88 \pm 0,14$ против $1,15 \pm 0,09$), а периферический перфузионный индекс был достоверно выше ($2,50 \pm 1,66$ против $0,75 \pm 0,69$) в подгруппе пациентов с 6-часовым клиренсом лактата более

20% [29]. Поэтому РИ в большей степени отображает периферическую тканевую перфузию, но не глобальный гемодинамический статус. Авторы ссылаются на австралийское обсервационное исследование ARISE (Australian Resuscitation in Sepsis Evaluation), в котором было показано, что септические пациенты с изолированной гиперлактатемией имели более высокие показатели 90-дневной летальности и меньшие шансы перевода из отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), чем септические пациенты с изолированной гипотензией [30]. Этот факт говорит о том, что недостаточно поддерживать только гемодинамические параметры, важно также обеспечить адекватную тканевую перфузию у пациентов с септическим шоком. При этом определение резистивных индексов и анализ доплерометрической кривой в спланхических (селезенки, почек) и периферических артериях (лучевая артерия в области анатомической табакерки) являются надежными, воспроизводимыми и доступными методами оценки тканевой перфузии.

Паттерн кровотока во внутриворотных венах и пульсационный индекс в воротной вене в оценке гиперволемии

Несмотря на то что выявление пациентов с гиповолемией, нуждающихся в дополнительной инфузии, является одним из основных компонентов целенаправленной терапии, у реанимационных пациентов часто встречается гиперволемия и гипергидратация [31]. В первую очередь это касается септических пациентов, массивная инфузия кристаллоидных растворов, у которых не прекращается в первые часы интенсивной терапии, а в некоторых случаях продолжается и в последующие дни [31]. Помимо сепсиса, высокая частота ятрогенной гипергидратации встречается у пациентов с гиповолемическим шоком (массивная кровопотеря, ожоговая болезнь), а также у пациентов, находящихся в ОРИТ длительное время. Клинические проявления гипергидратации (периферические отеки, отек легких, накопление жидкости в полостях тела – асцит, гидроторакс) свидетельствуют о крайне тяжелой степени гипергидратации. При этом даже незначительный

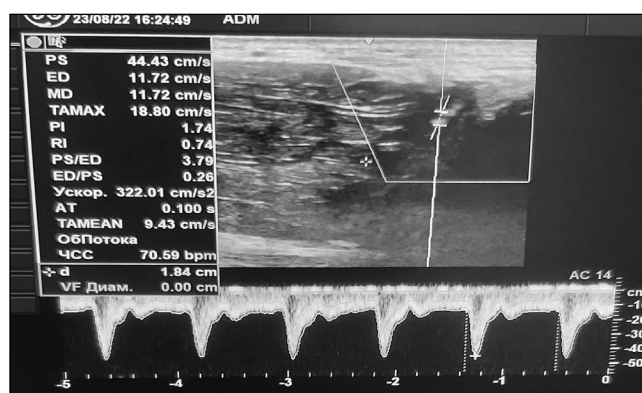


Рис. 2. Измерение резистивного индекса в лучевой артерии в области анатомической табакерки (рассчитанное автоматически значение SBRI отмечено овалом). Угол коррекции доплерометрического луча 14° (angle correction, AC).

(5–10%) прирост массы тела в первые двое суток пребывания в ОРИТ (так называемый fluid overload) и положительный кумулятивный гидробаланс являются независимым фактором риска развития множественной органной дисфункции и неблагоприятного исхода [32]. Перегрузка жидкостью приводит к нарушению венозного оттока от органов и тканей, что проявляется нарушением их функции. В первую очередь это состояние касается головного мозга, печени и почек.

В норме венозный кровоток через внутривенные вены (чаще всего исследуют междолевые вены) низкоскоростной и постоянный, то есть отток крови происходит как в систолу, так и в диастолу. При ухудшении венозного оттока (высокое давление в правом предсердии, перитубулярный интерстициальный отек или венозный застой на фоне гиперволемии) паттерн кровотока меняется: сначала он становится бифазным в систолу и диастолу отдельными потоками, затем – монофазным только в диастолу (рис. 3) [33].

При визуализации почки в продольном сканировании в коронарной или сагиттальной плоскости при импульсно-волновой доплерографии венозный кровоток визуализируется ниже базовой линии, а артериальный кровоток – выше базовой линии. Как отмечалось ранее, междолевые почечные сосуды имеют небольшой диаметр, поэтому одновременно можно визуализировать внутривенную артерию и вену, что помогает в идентификации периодов сердечного цикла (систола и диастолы).

Главной технической сложностью при импульсно-волновой доплерографии почечных вен является неизбежное движение почек при дыхании и исчезновение кривой кровотока на дисплее УЗИ-аппарата. Для улучшения визуализации при возможности необходимо просить пациента задержать дыхание, хотя это не всегда возможно у пациентов в критическом состоянии.

При прогрессировании венозного застоя характерно меняется венозный кровоток в воротной вене, который в норме постоянен и имеет скорость около 20–40 см/с. Кривая кровотока в воротной вене

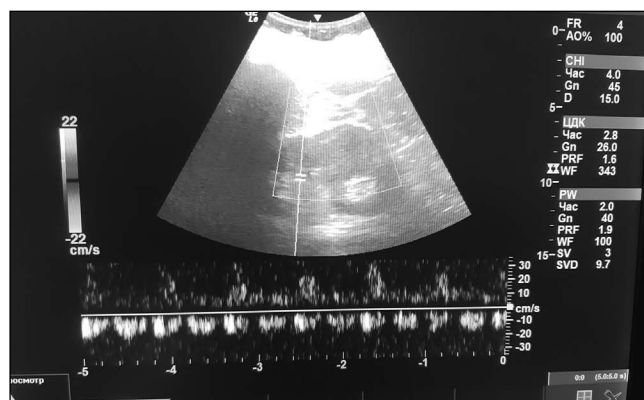


Рис. 3. Кровоток через внутривенные сосуды в импульсно-волновом режиме. Выше базовой линии отображается кровоток через междолевую почечную артерию, ниже – междолевую почечную вену. Кровоток через вену бифазный.

при импульсно-волновой доплерографии располагается выше базовой линии, имеет маловыраженный волнистый характер (пульсационный индекс меньше 30%), а изменения скорости кровотока обусловлены сокращением правого предсердия [34]. При увеличении давления в правом предсердии растет давление в системе воротной вены, кровоток становится пульсирующим. При выраженном венозном застое систолический компонент реверсирует, и кровоток меняет направление. Технически вывести кривую кровотока в воротной вене достаточно просто, подвижность печени при дыхании менее выражена, чем у почек, диаметр воротной вены довольно велик (13–15 мм), поэтому при импульсно-волновой доплерографии она «не теряется из виду».

Показатели кровотока в почках и воротной вене могут быть использованы как надежные, легко воспроизводимые, прикроватные параметры оценки венозного застоя. К примеру, W. Beaubien-Souligny и соавт. [35] проводили оценку венозного кровотока в почках и воротной вене у 145 пациентов после кардиохирургических операций, выполненных в условиях искусственного кровообращения. Пульсационный индекс в воротной вене более 50%, а также изменения характера венозного кровотока во внутривенных венах (бифазный или монофазный тип кровотока) ассоциировались с увеличением риска развития ОПП. Прикроватное доплерографическое исследование является одним из немногих доступных методов оценки венозного застоя. Выявление патологических паттернов кровотока позволяет проводить целенаправленную диуретическую терапию, тем самым снижая риски развития тяжелого ОПП. У пациентов с декомпенсированной сердечной недостаточностью оценка кровотока через нижнюю полую вену (НПВ) (степень коллабироваия) и воротную вену (пульсационный индекс) позволяет безопасно и эффективно проводить диуретическую или заместительную почечную терапию [36]. В серии наблюдений 12 пациентов с лево- или правожелудочковой СН пульсационный индекс через воротную вену снижался с $81,75 \pm 13\%$ при поступлении до $17,43 \pm 2,2\%$ после проведения комплекса диуретической терапии и достижения отрицательного кумулятивного гидробаланса ($-8,2 \pm 4$ л) и клинического улучшения. При этом у пациентов с левожелудочковой недостаточностью отмечалось улучшение как в показателях кровотока через нижнюю полую вену, так и через воротную вену, а при правожелудочковой недостаточности объективным показателем был только паттерн кровотока через воротную вену. Кривая кровотока через НПВ в виде pletora, характеризующаяся отсутствием изменений в диаметре в зависимости от фазы дыхания и постоянством диаметра более 2 см, сохранялась у пациентов с правожелудочковой СН даже после успешной терапии диуретиками и клинического улучшения [36]. Высокое давление в правых камерах сердца у пациентов с легочной гипертензией или констриктивным перикардитом препятствует

нормальному кровотоку в системе НПВ, тем самым даже в состоянии эу- или гиповолемии у пациентов с правожелудочковой недостаточностью НПВ будет расширена (более 2 см), а ее диаметр не будет меняться. При этом кровоток в воротной вене будет иметь нормальный характер. Это обусловлено анатомическими особенностями: воротная вена ограничена от печеночных вен и НПВ системой внутриворотных капилляров. Это делает исследование воротной вены более надежным с точки зрения дифференциальной диагностики гипervолемии, чем оценка состояния нижней полой вены. В других исследованиях была выявлена взаимосвязь между повышенным пульсационным индексом в воротной вене и частотой возникновения делирия и когнитивными расстройствами после кардиохирургических вмешательств [37]. Церебральная десатурация (как в операционной, так и в отделении интенсивной терапии), высокие значения предсердного натрийуретического пептида (NT-pro-BNP) были ассоциированы с развитием делирия и когнитивной дисфункцией в послеоперационном периоде. У пациентов с такими осложнениями при ультразвуковом исследовании значения пульсационного индекса в воротной вене были значительно выше, чем у пациентов с неосложненным течением послеоперационного периода [37]. Это косвенно свидетельствует о том, что причиной неврологических осложнений могла быть гипергидратация. Головной мозг, так же как и почки, заключен в ограниченном пространстве. Венозный застой вызывал повышение внутричерепного давления и отек головного мозга, что могло повлечь за собой развитие когнитивных расстройств.

Таким образом, оценка паттернов кровотока в воротной и внутриворотных венах демонстрирует высокую клиническую значимость для своевременного выявления гипергидратации и назначения дегидратационной терапии.

Заключение

Допплерометрическое исследование кровотока в спланхических и магистральных поверхностных артериях объективно отражает состояние волемического статуса пациента. Исследование кровотока в общей сонной артерии позволяет выявить пациентов, которые ответят на инфузионную терапию увеличением сердечного выброса. Оценка резистивных индексов в почечной и селезеночной артериях отражает состояние органной перфузии. Оценка резистивного индекса и характера кровотока в лучевой артерии в области анатомической табакерки позволяет неинвазивно оценить общее сосудистое сопротивление. Паттерны кровотоков в нижней полой и воротной венах, печеночных и внутриворотных венах могут выявить гипervолемию и обосновать необходимость в диуретической терапии. Важными достоинствами ультразвукового исследования являются его неинвазивность, доступность, простота проведения и интерпретации данных, а также возможность повторной оценки для контроля

проводимой терапии. Однако требуются дальнейшие исследования возможностей методов ультразвукового мониторинга в различных популяциях пациентов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Кузьков В.В., Фот Е.В., Сметкин А.А., Лебединский К.М., Киров М.Ю. Волемический статус и фазовый подход к терапии критических состояний – новые возможности и перспективы. *Анестезиология и реаниматология*. 2015;60(6):65–70. [Kuz'kov VV, Fot EV, Smjotkin AA, Lebedinskij KM, Kirov MYu. Volemic status and the phasic approach to the treatment of critical states – new opportunities and prospects. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2015;60(6):65–70 (in Russ.)].
2. Kupersztich-Hagege E, Teboul JL, Artigas A, Talbot A, Sabatier C, Richard C, Monnet X. Bioreactance is not reliable for estimating cardiac output and the effects of passive leg raising in critically ill patients. *Br J Anaesth*. 2013;11:961–6.
3. Orso D, Paoli I, Piani T, Cilenti FL, Cristiani L, Guglielmo N. Accuracy of Ultrasonographic Measurements of Inferior Vena Cava to Determine Fluid Responsiveness: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Intensive Care Med*. 2020;35(4):354–63. doi: 10.1177/0885066617752308
4. Ibarra-Estrada MÁ, López-Pulgarín JA, Mijangos-Méndez JC, et al. Respiratory variation in carotid peak systolic velocity predicts volume responsiveness in mechanically ventilated patients with septic shock: a prospective cohort study. *Crit Ultrasound J*. 2015;7,12. doi: 10.1186/s13089-015-0029-1
5. Yong Y, Wu D, Fernandes V, Kopelen HA, Shimoni S, Nagueh SF, et al. Diagnostic accuracy and cost-effectiveness of contrast echocardiography on evaluation of cardiac function in technically very difficult patients in the intensive care unit. *Am J Cardiol*. 2002;89:711–8.
6. Fazelinejad Z, Hanafi MG, Amirpebdani F, Mosavi A. Comparison of cardiac output measured by carotid artery Doppler ultrasound and echocardiography in patients admitted to Golestan and Imam Khomeini Hospitals in Ahvaz. *J Family Med Prim Care*. 2020;30(9(7)):3304–7. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_32_20
7. Weber U, Glassford NJ, Eastwood GM, Bellomo R, Hilton AK. A pilot study of the relationship between Doppler-estimated carotid and brachial artery flow and cardiac index. *Anaesthesia*. 2015;70(10):1140–7. doi: 10.1111/anae.13069
8. Anile A, Ferrario S, Campanello L, Orban MA, Castiglione G. Renal resistive index: a new reversible tool for the early diagnosis and evaluation of organ perfusion in critically ill patients: a case report. *Ultrasound J*. 2019;10;11(1):23. doi: 10.1186/s13089-019-0138-3
9. Di Nicolò P, Granata A. Renal intraparenchymal resistive index: the ultrasonographic answer to many clinical questions. *J Nephrol*. 2019;32, 527–38. doi: 10.1007/s40620-018-00567-x
10. Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med*. 2015;41(8):1411–23.
11. Кобалава Ж.Д., Виллевалде С.В., Ефремовцева М.А., Моисеев В.С. Биомаркеры острого повреждения почек: современные представления и перспективы. *Терапевтический архив*. 2014;86(6):88–93. [Kobalava ZhD, Villeval'de SV, Efremovtseva MA, Moiseev VS. Biomarkers of acute kidney injury: Current views and prospects. *Therapeutic Archive*. 2014;86(6):88–93 (In Russ.)].
12. McCullough PA, Shaw AD, Haase M, Bouchard J, Waikar SS, Siew ED, et al. Diagnosis of acute kidney injury using functional

- and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contrib Nephrol.* 2013;182:13–29. doi: 10.1159/000349963
13. Rozemeijer S, Haitsma Mulier JLG, Röttgering JG, Elbers PWG, Spoelstra-de Man AME, Tuinman PR, et al. Renal Resistive Index: Response to Shock and its Determinants in Critically Ill Patients. *Shock.* 2019;52(1):43–51. doi: 10.1097/SHK.0000000000001246
 14. Darmon M, Schortgen F, Vargas F, Liazydi A, Schlemmer B, Brun-Buisson C, Brochard L. Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2011;37(1):68–76.
 15. Fu Y, He C, Bai Y, Zhang N, Zhao H. Value of the combination of renal resistive index and central venous pressure to predict septic shock induced acute kidney injury. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2020;32(4):473–7. doi: 10.3760/cma.j.cn121430-20191014-00062
 16. Song J, Wu W, He Y, Lin S, Zhu D, Zhong M. Value of the combination of renal resistance index and central venous pressure in the early prediction of sepsis-induced acute kidney injury. *J Crit Care.* 2018;45:204–8. doi: 10.1016/j.jcrc.2018.03.016
 17. Bobbio E, Bollano E, Polte CL, Ekelund J, Rådegran G, Lundgren J, et al. Association between central haemodynamics and renal function in advanced heart failure: a nationwide study from Sweden. *ESC Heart Fail.* 2022;9(4):2654–63. doi: 10.1002/ehf2.13990
 18. Corradi F, Via G, Tavazzi G. What's new in ultrasound-based assessment of organ perfusion in the critically ill: expanding the bedside clinical monitoring window for hypoperfusion in shock. *Intensive Care Med.* 2020;46(4):775–9. doi: 10.1007/s00134-019-05791-y
 19. Corradi F, Brusasco C, Garlaschi A, Santori G, Vezzani A, Moscatelli P, Pelosi P. Splenic Doppler resistive index for early detection of occult hemorrhagic shock after polytrauma in adult patients. *Shock.* 2012;38(5):466–73. doi: 10.1097/SHK.0b013e31826d1eaf
 20. Brusasco C, Tavazzi G, Robba C, Santori G, Vezzani A, Manca T, et al. Splenic Doppler Resistive Index Variation Mirrors Cardiac Responsiveness and Systemic Hemodynamics upon Fluid Challenge Resuscitation in Postoperative Mechanically Ventilated Patients. *Biomed Res Int.* 2018;2018:1978968. doi: 10.1155/2018/1978968
 21. Blehar DJ, Glazier S, Gaspari RJ. Correlation of corrected flow time in the carotid artery with changes in intravascular volume status. *J Crit Care.* 2014;29:486–8.
 22. Beier L, Davis J, Esener D, Grant C et Fields JM. Carotid Ultrasound to Predict Fluid Responsiveness. *J Ultrasound Med.* 2020;39:1965–76. doi: 10.1002/jum.15301
 23. Willie CK, Macleod DB, Shaw AD, Smith KJ, Tzeng YC, Eves ND, et al. Regional brain blood flow in man during acute changes in arterial blood gases. *J Physiol.* 2012;590:3261–75.
 24. Blanco P, Aguiar FM, Michael Blaivas M. Rapid Ultrasound in Shock (RUSH) Velocity-Time Integral A Proposal to Expand the RUSH Protocol. *J Ultrasound Med.* 2015;34:1691–700. doi: 10.7863/ultra.15.14.08059
 25. Marik PE, Levitov A, Young A, Andrews L. The use of bioreactance and carotid doppler to determine volume responsiveness and blood flow redistribution following passive leg raising in hemodynamically unstable patients. *Chest.* 2013;143:364–70.
 26. Kim DH, Shin S, Kim N, Choi T, Choi SH, Choi YS. Carotid ultrasound measurements for assessing fluid responsiveness in spontaneously breathing patients: corrected flow time and respirophasic variation in blood flow peak velocity. *Br J Anaesth.* 2018;121(3):541–9. doi: 10.1016/j.bja.2017.12.047
 27. Ban K, Kochi K, Imai K, Okada K, Orihashi K, Sueda T, et al. Novel Doppler technique to assess systemic vascular resistance: the snuffbox technique. *Circ J.* 2005;69(6):688–94.
 28. En-Pei Lee, Shao-Hsuan Hsia, Chung-Chi Huang, Kuo-Chin Kao, Oi-Wa Chan, Chia-Ying Lin, et al. Strong correlation between doppler snuffbox resistive index and systemic vascular resistance in septic patients. *J Crit Care.* 2019;49:45–9. doi: 10.1016/j.jcrc.2018.10.010
 29. Cui W, Xiaoting W, Hongmin Z, Longxiang S, Wei H, Dawei L. Association Between Doppler Snuffbox Resistive Index and Tissue Perfusion in Septic Patients. *Shock.* 2020;54(6):723–30. doi: 10.1097/SHK.0000000000001547
 30. Gotmaker R, Peake SL, Forbes A, Bellomo R. Mortality is Greater in Septic Patients With Hyperlactatemia Than With Refractory Hypotension. *Shock.* 2017;48(3):294–300. doi: 10.1097/SHK.0000000000000861
 31. Messmer AS, Moser M, Zuercher P, Schefold JC, Müller M, Pfortmueller CA. Fluid Overload Phenotypes in Critical Illness—A Machine Learning Approach. *J Clin Med.* 2022;11(2):336. doi: 10.3390/jcm11020336
 32. Messmer AS, Zingg C, Müller M, Gerber JL, Schefold JC, Pfortmueller CA. Fluid Overload and Mortality in Adult Critical Care Patients—A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Crit Care Med.* 2020;48(12):1862–70. doi: 10.1097/CCM.00000000000004617
 33. Husain-Syed F, Birk HW, Ronco C, et al. Doppler-derived renal venous stasis index in the prognosis of right heart failure. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(21):e013584. doi: 10.1161/JAHA.119.013584
 34. Koratala A, Reisinger N. Venous Excess Doppler Ultrasound for the Nephrologist: Pearls and Pitfalls. *Kidney Med.* 2022;4(7):100482. doi: 10.1016/j.xkme.2022.100482
 35. Beaubien-Souligny W, Benkreira A, Robillard P, Bouabdallaoui N, Chassé M, Desjardins G, et al. Alterations in Portal Vein Flow and Intrarenal Venous Flow Are Associated With Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery: A Prospective Observational Cohort Study. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(19):e009961. doi: 10.1161/JAHA.118.009961
 36. Argaziz ER, Rola P, Gamba G. Dynamic Changes in Portal Vein Flow during Decongestion in Patients with Heart Failure and Cardio-Renal Syndrome: A POCUS Case Series. *Cardiorenal Med.* 2021;11(1):59–66. doi: 10.1159/000511714
 37. Benkreira A, Beaubien-Souligny W, Mailhot T, Bouabdallaoui N, Robillard P, Desjardins G, et al. Portal Hypertension Is Associated With Congestive Encephalopathy and Delirium After Cardiac Surgery. *Can J Cardiol.* 2019;35(9):1134–41. doi: 10.1016/j.cjca.2019.04.006

УДК 59.083+578.81

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-35-37



Виром мумии ископаемого волка (*Canis lupus*) как потенциальный источник вирулентных бактериофагов для фаготерапии

А.Е. Гончаров^{1,2,3}, Я.А. Ахременко⁴, Д.В. Азаров^{1,2}, М.Ю. Чепрасов⁴, С.Е. Федоров⁴, А.П. Соломенный⁵, В.В. Колоджиева²

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия;

⁵ Институт экологии и генетики микроорганизмов – филиал Пермского ФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

Цель: изучение перспектив поиска новых вирулентных бактериофагов в палеонтологическом материале, извлеченном из зоны вечной мерзлоты. **Материал и методы.** Методом шотган-метагеномного секвенирования оценена структура виroma содержимого толстой кишки мумии щенка волка (*Canis lupus*) периода позднего плейстоцена. **Результаты.** В исследовании продемонстрировано преобладание в структуре изученного виroma хвостатых бактериофагов семейства *Myoviridae*, включая группу PhiKZ-подобных фагов. **Заключение.** Результаты исследования свидетельствуют о возможности использования палеонтологического материала, сохраняющегося в древней мерзлоте Арктики, в качестве ресурса для поиска и выделения новых вирулентных бактериофагов.

Ключевые слова: бактериофаги, виром, метагеномное секвенирование, многолетняя мерзлота, плейстоцен

Поступила в редакцию: 18.12.22. Получена после доработки: 26.12.22, 08.01.23. Принята к печати: 24.01.23

Для цитирования: Гончаров А.Е., Ахременко Я.А., Азаров Д.В., Чепрасов М.Ю., Федоров С.Е., Соломенный А.П., Колоджиева В.В. Виром мумии ископаемого волка (*Canis lupus*) как потенциальный источник вирулентных бактериофагов для фаготерапии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:35–37. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-35-37

Для корреспонденции: Ахременко Яна Александровна – доцент кафедры гистологии и микробиологии Медицинского института, Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова (677007, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Ойунского, 27); ORCID 0000-0001-9530-3319; e-mail: yanalex2007@yandex.ru

Virome of ancient wolf mummy (*Canis lupus*) as a potential source of virulent bacteriophages for phage therapy

A.E. Goncharov^{1,2,3}, Ya.A. Ahremenko⁴, D.V. Azarov^{1,2}, M.J. Cheprasov⁴, S.E. Fedorov⁴, A.P. Solomenny⁵, V.V. Kolodzhieva²

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia; ² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia; ³ Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia;

⁴ M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia; ⁵ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of RAS Ural Branch, Perm, Russia

Aim. To investigate the potential for searching new virulent bacteriophages in the paleontological material extracted from the permafrost zone. **Material and methods.** The virome structure of the colon content of the wolf pup mummy (*Canis lupus*) from the late Pleistocene was evaluated by means of shotgun metagenomic sequencing. **Results.** The study demonstrated the predominance of *Myoviridae* tailed bacteriophages, including PhiKZ-like phages, in the structure of the virome. **Conclusion.** The results of the study indicate the possibility of using paleontological material preserved in the ancient Arctic permafrost as a resource for searching and isolating new virulent bacteriophages.

Keywords: bacteriophages, virome, metagenomic sequencing, permafrost, Pleistocene

Received 18 December 2022; Revised 26 December 2022, 8 January 2023; Accepted 24 January 2023

For citation: Goncharov A.E., Ahremenko Ya.A., Azarov D.V., Cheprasov M.J., Fedorov S.E., Solomenny A.P., Kolodzhieva V.V. Virome of ancient wolf mummy (*Canis lupus*) as a potential source of virulent bacteriophages for phage therapy. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:35–37. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-35-37

Corresponding author: Yana A. Akhremenko, Assoc. Prof., Head of the Course of Microbiology and Immunology, Department of Histology and Microbiology, Medical Institute, North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova (27 Oyunsogo str., Yakutsk, 677007, Russia); ORCID: 0000-0001-9530-3319; phone: +7 (924) 175-31-77; e-mail: yanalex2007@yandex.ru

В настоящее время отмечается неуклонный рост числа исследований, посвященных оценке биологического разнообразия бактериофагов, что в значительной мере определяется возможностью использования данных

вирусов в качестве лечебных и профилактических средств для борьбы с инфекциями, обусловленными мультирезистентными к антимикробным препаратам бактериями.

При изучении фаговых виромов в различных типах биологического материала активно применяются метагеномные методы исследования. Использование достижений метагеномики привело к парадоксальным результатам, которые позволили переосмыслить значение отдельных природных биомов в качестве источника бактериофагов. В частности, оказалось, что наиболее разнообразными по таксономическому и генетическому составу являются фаги экстремальных криогенных местообитаний, таких как арктические многолетнемерзлые почвы, водные экосистемы Арктики, Антарктики и ледники горных систем [1, 2].

Кроме того, продемонстрировано [2], что микробиота, сохраняющаяся в реликтовых криогенных средах, представляет собой резервуар новых ранее не описанных таксонов бактериофагов.

В данной работе мы приводим результаты метагеномного анализа древнего микробного сообщества, ассоциированного с пищеварительным трактом ископаемого животного, законсервированного в многолетней мерзлоте на протяжении более чем 12 000-летнего периода. Целью проведенного анализа являлась оценка структуры вирома с точки зрения перспектив поиска новых вирулентных бактериофагов в биологическом материале данного типа.

Материал и методы

Методом шотган-метагеномного секвенирования изучен фаговый виром содержимого толстой кишки палеонтологического объекта «туматский щенок». Материал представляет собой мерзлую мумию щенка волка или собаки (*Canis lupus*), найденную экспедицией НИИПЭС СВФУ в местонахождении Сылах (71°00'27.75" с. ш., 139°53'20.01" в. д.) расположенном в 45 км к северо-востоку от с. Тумат Усть-Янского улуса (района) Республики Саха (Якутия). Проведенное радиоуглеродное датирование данной мумии ($12\,460 \pm 50$ лет (GRA-52435)) позволяет предположить поздний неоплейстоценовый возраст находки [3].

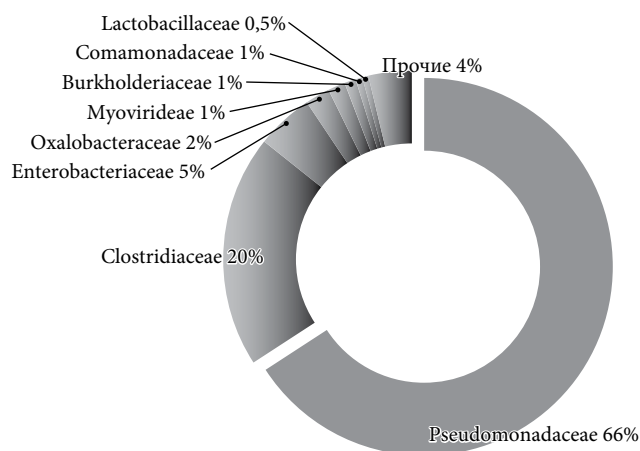


Рис. Структура кишечного микробиома «туматского щенка» на уровне семейств.

Образцы содержимого толстой кишки получали в асептических условиях при некропии мумии в лаборатории «Музей мамонта им. П.А. Лазарева» НИИ прикладной экологии Севера СВФУ им. М.К. Аммосова. Выделение ДНК из данного материала проводили с использованием DNeasy Powersoil Pro (Qiagen), при этом для получения 50 мкл ДНК концентрацией 32 нг/мкл из пробы объемом 2 г использовали 8 колонок.

Библиотеку фрагментов ДНК готовили с использованием набора реагентов Illumina Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Качество полученной библиотеки оценивали с помощью анализатора Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США). Ампликоны метили Nextera XT Index Kit (Illumina) согласно инструкции производителя.

Метагеномное секвенирование методом «дробовика» проводилось на приборе HiSeq 2500 Sequencing System/ Illumina в ресурсном центре «Биобанк» СПбГУ с использованием HiSeq 2500 Sequencing Kit согласно инструктивной документации производителя.

Анализ качества прочтений секвенирования проводился с помощью программы FastQC (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>). Подготовка прочтений секвенирования проводилась с помощью программы Trimmomatic v.0.39 (<http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>). Сборка контигов *de novo* проводилась с использованием SPAdes v. 3.15.3 с опцией *metaspade* с последующим бинингом контигов в MaxBin 2.2.7 (<https://sourceforge.net/projects/maxbin2>). Контроль качества сборок проводили в QUAST v. 5.0.2 (<https://cab.spbu.ru/software/quast/>). Аннотация метагеномных образцов осуществлялась с помощью онлайн-сервисов CCMetagen 1.3 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/CCMetagen>) и MG-RAST (www.mg-rast.org).

Результаты исследования

В результате метагеномного секвенирования получено 7 682 400 прочтений (34 885 634 пар оснований), из которых было сформировано 11 894 контига средним размером 2933 пары нуклеотидов.

В структуре микробиома из числа прокариот существенным образом представлены ризосферные и почвенные микроорганизмы, в частности бактерии родов *Pseudomonadaceae* и *Clostridiaceae* (рис.). Данное обстоятельство, вероятно, объясняется возможностью заглатывания животным растений с частичками почвы при жизни или попаданием частиц грунта в пищеварительный тракт в процессе захоронения.

Установлено также, что последовательности ДНК бактериофагов семейства *Myoviridae* широко представлены в составе данного микробиома, составляя 1,48% от общего числа аннотированных последовательностей (рис.).

Из числа идентифицированных родов бактериофагов преобладают вирулентные хвостатые

phiKZ-подобные фаги, которые составляют 1,4% (111 последовательностей) в структуре всех последовательностей, соответствующих родам микроорганизмов.

Следует отметить обилие последовательностей бактериофагов семейств *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Siphoviridae* неясного таксономического статуса.

Обсуждение полученных данных

В структуре виroma мерзлой мумии щенка волка преобладают хвостатые бактериофаги семейства *Myoviridae*. Эти данные соответствуют результатам раннее проведенных исследований, указывающих на изобилие фаговых последовательностей в арктических микробиомах [1].

PhiKZ-подобные бактериофаги, последовательности которых были выявлены в ходе нашего исследования, относятся к нетаксономической группе так называемых «джамбо-фагов» (jumbo phages). Общей чертой данных бактериофагов, описанных у псевдомонад [4], является наличие крупного генома, способность к образованию «псевдоядер» в цитоплазме бактериальной клетки и наличие мощной неспецифической защиты от бактериальных систем CRISPR/Cas, что делает эти вирусы перспективными для практического использования в составе терапевтических бактериофаговых препаратов [5, 6].

Перспективы дальнейших исследований связаны с поиском интактных бактериофагов, прежде всего псевдомонадных, в образцах палеонтологического материала и определением их биологических свойств, а также круга хозяев. Следует отметить, что в настоящее время считается доказанным факт, что крупные ДНК-содержащие вирусы могут сохранять контагиозность при консервации в многолетнемерзлых породах на протяжении десятков тысяч лет [7, 8].

Заключение

Результаты метагеномного анализа микробиома «туматского щенка», описанные в настоящем исследовании, свидетельствуют о возможности использования палеонтологического материала, сохраняющегося в древней мерзлоте Арктики, в качестве ресурса для поиска и выделения новых бактериофагов, имеющих перспективы применения в качестве антибактериальных агентов или объектов биотехнологии.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование (публикация статьи) выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-29-01043 («Древняя ДНК»).

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – АЕГ

Сбор и обработка материала – МЮЧ, СЕФ, ЯАА, ДВА, ВВК, АПС

Написание текста – АЕГ

Редактирование – ЯАА

Литература / References

1. Kerfahi D, Tripathi BM, Dong K, Kim M, Kim H, Slik JF, Adams JM. From the high Arctic to the equator: do soil metagenomes differ according to our expectations? *Microbial ecology*. 2019;77(1):168–85. doi: 10.1007/s00248-018-1215-z
2. Zablocki O, van Zyl L, Adriaenssens EM, Rubagotti E, Tuffin M, Cary SC, Cowan DA. High-level diversity of tailed Phages, eukaryote-associated viruses, and virophage-like elements in the metaviromes of Antarctic soils. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(22):6888–97. doi: 10.1128/AEM.01525-14
3. López-Bueno A, Tamames J, Velazquez D, Moya A, Quesada A, Alcamí A High diversity of the viral community from an Antarctic Lake. *Science* 2009;326:858–61. doi: 10.1126/science.1179287
4. Григорьев С. Е., Чепрасов М.Ю., Савинов Г.Н., Тихонов А.Н., Новгородов Г.П., Федоров С.Е., Боевский Г.Г., Протопопов А.В., Плотников В.В., Боголюбский И.Н., Протодьяконов К.Е., ван дер Плихт Й. Палеонтологические и археозоологические исследования в бассейне р. Яна. *Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова*. 2017;1(57):20–35. [Grigoriev SE, Cheprasov MYu, Savinov GN, Tikhonov AN, Novgorodov GP, Fedorov SE, Boeskorov GG, Protopopov AV, Plotnikov VV, Belolubsky IN, Protodiyakonov KE, Van der Plicht J. Paleontological and Archaeozoological Investigations in the Yana River Basin. *Vestnik of the M.K. Ammosov North-Eastern Federal University*. 2017;1(57):20–35 (in Russ.)].
5. Danilova YA, Belousova VV, Moiseenko AV, Vishnyakov IE, Yakunina MV, Sokolova OS. Maturation of Pseudo-Nucleus Compartment in *P. aeruginosa*, Infected with Giant *phiKZ* Phage. *Viruses*. 2020;12:1197. doi: 10.3390/v12101197
6. Chaikerasitak V, Nguyen K, Egan ME, Erb ML, Vavilina A, Pogliano J The phage nucleus and tubulin spindle are conserved among large pseudomonas phages. *Cell Reports*. 2017;20:1563–71. doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.064
7. Malone LM, Warring SL, Jackson SA, Warnecke C, Gardner PP, Gumy LF, Fineran PC A jumbo phage that forms a nucleus-like structure evades CRISPR–Cas DNA targeting but is vulnerable to type III RNA-based immunity. *Nat Microbiol*. 2020;5:48–55. doi: 10.1038/s41564-019-0612-5
8. Legendre M, Bartoli J, Shmakova L, Jeudy S, Labadie K, Adrait A, Lescot M, Poirot O, Bertaux L, Bruley C, Couté Y, Rivkina E, Abergel C, Claverie JM. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a Pandoravirus morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111(11):4274–9. doi: 10.1073/pnas.1320670111.488
9. Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, Jeudy S, Bartoli J, Lescot M, Alempic JM, Ramus C, Bruley C, Labadie K, Shmakova L, Rivkina E, Couté Y, Abergel C, Claverie JM. In-depth study of *Mollivirus sibericum*, a new 30,000-y-old 490 giant virus infecting *Acanthamoeba*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015;112(38):5327–35. doi: 10.1073/pnas.1510795112

УДК 579.088.5:537.63

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-38-43



Система для изучения механизмов флокуляции и автоагрегации бактерий, основанная на магнитной левитации

П.А. Домнин¹, А.Е. Захарченко¹, Д.Т. Реджепов², С.А. Ермолаева¹¹ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Цель работы – оценка применимости системы, основанной на магнитной левитации, для изучения автоагрегации грамотрицательных и грамположительных патогенных бактерий и выяснения механизмов, контролирующих автоагрегацию. **Материалы и методы.** В работе были использованы вирулентные штаммы *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Listeria monocytogenes*. Количество живых бактерий определяли с использованием дифференциального красителя Live/Dead®. Окраску курлей *E. coli* проводили красителем конго красный. **Результаты.** Все 4 протестированных вида бактерий в использованных нами условиях формировали автоагрегаты, которые левитировали в объеме жидкости в течение до 72 часов (время наблюдения). Количество живых бактерий в автоагрегатах через 72 часа составляло от 82 (*E. coli*) до 99% (*L. monocytogenes*). С использованием описанной системы было показано, что формирование автоагрегатов *E. coli* зависит от продукции курлей – поверхностных структур, играющих большую роль также и в формировании биопленок. **Заключение.** Предложена система магнитной левитации, позволяющая изучать молекулярные механизмы автоагрегации и флокуляции патогенных бактерий.

Ключевые слова: автоагрегация, патогенные бактерии, магнитная левитация, курли

Поступила в редакцию: 15.12.22. Получена после доработки: 19.12.22, 22.12.22, 25.12.22, 07.01.22. Принята к печати: 20.01.23

Для цитирования: Домнин П.А., Захарченко А.Е., Реджепов Д.Т., Ермолаева С.А. Система для изучения механизмов флокуляции и автоагрегации бактерий, основанная на магнитной левитации. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:38–43. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-38-43

Для корреспонденции: Ермолаева Светлана Александровна – д-р биол. наук, зав. лабораторией экологии возбудителей инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18); ORCID: 0000-0003-3396-6816; тел.: +7 (499) 193-43-75; e-mail: dremolaeva@mail.ru

A magnetic levitation-based system to study the mechanisms of bacterial flocculation and autoaggregation

P.A. Domnin¹, A.E. Zakharchenko¹, D.T. Rejepov², S.A. Ermolaeva¹¹ Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;² People's Friendship University, Moscow, Russia

Objective. To evaluate the potential of magnetic levitation systems when studying the autoaggregation of gram-negative and gram-positive pathogenic bacteria and elucidating mechanisms controlling autoaggregation. **Materials and methods.** *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* were used. The number of alive bacteria was determined using a Live/Dead® dye. *E. coli* curli were stained with Congo red. **Results.** All four tested bacterial species formed autoaggregates that levitated within the liquid volume for up to 72 hours (observation time). After 72 hours, the number of alive bacteria in the autoaggregates ranged from 82% (*E. coli*) to 99% (*L. monocytogenes*). The formation of *E. coli* autoaggregates was shown to depend on the production of curli, which represent surface structures playing an important role in biofilm formation. **Conclusion.** The proposed system of magnetic levitation can be used to study molecular mechanisms of bacterial autoaggregation and flocculation.

Keywords: autoaggregation, pathogenic bacteria, magnetic levitation, curli

Received 12 December 2022. Revised 19 December 2022, 22 December 2022, 25 December 2022. Accepted 20 January 2023

For citation: Domnin P.A., Zakharchenko A.E., Rejepov D.T., Ermolaeva S.A. A magnetic levitation-based system to study the mechanisms of bacterial flocculation and autoaggregation. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:38–43. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-38-43

Corresponding author: Svetlana A. Ermolaeva, Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Ecology of Infectious Agents of the Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (18, Gamaleya str., Moscow, 123098, Russia); ORCID 0000-0003-3396-6816; phone: +7 (499) 193-43-75; e-mail: dremolaeva@mail.ru

Принято считать, что бактерии существуют в двух состояниях: одиночные планктонные клетки и поверхностно-ассоциированные клеточные агрегаты,

известные как биопленки. Бактериальные биопленки представляют собой ассоциированные с поверхностью трехмерные (3D) многослойные структуры,

образованные бактериями и самопродуцируемым матриксом, состоящим из экзополисахарида, белков, внеклеточной ДНК и липидов [1]. Механизмы защиты, обеспечиваемые биопленками, такие как ограниченная диффузия антибиотиков, накопление в матриксе ферментов, модифицирующих антибиотики, формирование клеток-персистеров, обеспечивают бактериям в биопленках в сотни раз более высокую устойчивость к антибиотикам и другим микробицидным средствам по сравнению с планктонными бактериями. Биопленки, образованные патогенными бактериями, играют важную роль в клинической патологии. Для изучения биопленок было разработано много экспериментальных подходов, включая использование микротитровальных планшетов, биоферментеров и *ex vivo* препаратов.

Развитие методов микроскопии позволило проводить анализ биопленок непосредственно в образцах, полученных из слизистых оболочек и эпителиальных тканей, суставов и хронических ран. Во многих случаях биопленки, связанные с хроническими заболеваниями, не были напрямую связаны с поверхностями тканей человека, а скорее левитировали в объеме физиологических жидкостей [2–4]. Такие не прикрепленные к поверхности агрегаты, образованные бактериями, внедренными в полимерный матрикс, были описаны для широкого круга патогенных бактерий, включая *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter spp.*, *Mycobacterium abscessus*, *Borrelia spp.*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Staphylococcus aureus*.

Для изучения свойств неприкрепленных агрегатов в последние годы появляется все больше моделей *in vitro*: проводится мониторинг агрегации бактерий в культурах без встряхивания в высоковязких средах, в блоках агара или в присутствии физиологических жидкостей [5]. Основным ограничением для моделей неприкрепленных агрегатов *in vitro* является седиментация агрегатов даже в высоковязких средах под действием гравитации, что ограничивает время наблюдения.

Ранее нами был предложен оригинальный подход к длительному наблюдению неприкрепленных агрегатов – использование системы магнитной левитации [6]. В результате воздействия неоднородного магнитного поля на атомные и молекулярные электроны вещество может притягиваться к магниту (пара- и ферромагнетики) или отталкиваться (диамагнетики). Вода и все живые существа диамагнитны. Если магнитная сила, действующая на диамагнитный объект, направлена вверх и достаточно сильна, чтобы уравновесить гравитационную силу, то достигается состояние магнитной левитации, которое схоже с состоянием невесомости [7]. Магнитная левитация широко используется в исследованиях и промышленности для создания условий, при которых объект подвешивается без поддержки, кроме магнитных полей, противодействующих гравитационным эффектам.

В этой работе мы использовали недавно разработанную систему магнитной левитации, которая

предназначена для обеспечения биофабрикации тканевых сфероидов и ранее была использована нами для получения неседиментирующих автоагрегатов *E. coli* [6, 8]. Целью данной работы была оценка применимости системы для изучения автоагрегации грамотрицательных и грамположительных патогенных бактерий и выяснения механизмов, контролирующих автоагрегацию.

Материалы и методы

Штаммы, использованные в работе

В работе были использованы следующие штаммы из коллекции НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи: *E. coli* O157:H7 ATCC43890, *P. aeruginosa* Pa103, *Listeria monocytogenes* EGDe, *S. aureus* Sa78. Все штаммы хранились в 10% глицерине при -70 °C и были разморожены перед началом экспериментов. Рутинно *E. coli* и *P. aeruginosa* культивировали на среде LB (Amresco, Испания), *L. monocytogenes* и *S. aureus* на среде BHI (BD, США) при 37 °C.

Выращивание бактерий в биоассемблере

Ночную культуру, выращенную в соответствующем питательном бульоне при 37 °C и шутелировании 180 об/мин в течение 16–18 часов, разводили в 100 раз в 2 мл питательного бульона, содержащего 20 мМ Гадовист® (непатентованное название гадобутрол ([10-[2,3-dihydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triacetin(3-)-N1, N4, N7, N10,O1, O4, O7]gadolinium)), стерильно добавленный непосредственно перед засевом. Емкость с культурой заклеивали парафином и помещали в биоассемблер, создающий условия необходимые для магнитной левитации.

Устройство биоассемблера было подробно описано в наших работах и работах наших коллег [6, 8].

Биоассемблер вместе с культурой бактерий помещали в термостат на температуру 37 °C и инкубировали в течение указанного в тексте времени. Для наблюдения за формированием агрегатов биоассемблер доставали из термостата и визуально или при помощи камеры фиксировали появление агрегата через специально сделанное смотровое отверстие, расположенное напротив области минимума магнитного поля. Для высевов среду отбирали иглой, проколов парафильм. Агрегат суспендировали в 2 мл физиологического раствора (150 мМ NaCl). Серийные 10-кратные разведения высевали на питательный агар, инкубировали 24 ч и проводили подсчет колоний, определяя абсолютные значения колониеобразующих единиц (КОЕ) в агрегате и в среде.

Окраска бактерий в агрегате дифференциальным красителем

Бактерии выращивали в биоассемблере, как описано выше, определяли объем агрегата, добавляли равный объем красителя Filmtracer™ LIVE/DEAD™ Biofilm Viability Kit (ThermoFisher Scientific, США). Окрашивание проводили в течение 30 мин в темноте. Окрашенные агрегаты изучали с помощью флуоресцентного микроскопа Axiovert (Carl Zeiss, Германия).

Подсчет зеленых и красных клеток осуществляли с помощью нейросети, как описано в [9].

Окраска бактерий на агаре и в агрегатах конго красным

Связывание конго красного использовали для выявления амилоидных белков курлей. Конго красный добавляли в агар LB до конечной концентрации 25 мкг/мл. Бактерии высевали с помощью бактериологической петли и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С. Связывающие конго красный колонии выглядели на агаре красными, не связывающие – белыми. Для окраски бактерий в агрегатах перед засевом бактерий в бульон, содержащий 20 мМ гадобутрол, добавляли конго красный до концентрации 25 мкг/мл. Выращивали бактерии в агрегате в течение 72 часов, осаждали бактерий центрифугированием в течение 10 минут при 4200 об/мин, удаляли среду, как описано выше, и тщательно ресуспендировали в 2 мл 50% этанола, после чего еще раз осаждали бактерий центрифугированием в течение 10 минут при 4200 об/мин. Выход конго красного в спирт определяли с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм.

Получение мутантов клонов *E. coli* с увеличенной способностью к продукции курлей

Десятикратные разведения ночной культуры штамма *E. coli* ATCC43890 высевали на агар LB, содержащий 25 мкг/мл конго красного. Инкубировали при 37 °С. Через 24–48 часов культуру рассматривали на предмет появления красных колоний среди белых. Красные колонии аккуратно отбирали и пересекали на такой же агар. Клоны, сохраняющие красную окраску после трех пересевов, оставляли для дальнейших экспериментов.

Статистика

Все эксперименты повторяли не меньше трех раз. Средние и квадратичные отклонения обсчитывали в программе Excel. Для определения достоверности различий

применяли критерий Стьюдента. Достоверными считали различия с $p < 0,05$.

Результаты исследования

Формирование неприкрепленных автоагрегатов патогенными бактериями

В работе использовали 4 штамма патогенных бактерий, включая грамположительные *S. aureus* и *L. monocytogenes* и грамотрицательные *P. aeruginosa* и *E. coli* O157:H7. Согласно ранее полученным с *E. coli* данным, после помещения равномерной суспензии в биоасемблер видимые агрегаты в центре рабочего объема появляются в течение 12–24 часов [6]. Действительно, спустя 24 часа все протестированные штаммы собрались в центре рабочего объема (рис. 1). Продолжение инкубации в течение дополнительных 48 часов не изменяло внешний вид автоагрегатов.

Для того чтобы проанализировать жизнеспособность бактерий в автоагрегатах, проводили окраску автоагрегатов дифференциальным красителем Filmtracer™ LIVE/DEAD™ Biofilm Viability Kit (рис. 2). Окраска дифференциальным красителем показала, что процент живых бактерий в автоагрегатах составлял от 82 (*E. coli*) до 99% (*L. monocytogenes*).

Для характеристики относительного количества живых бактерий в автоагрегате и вне его были сделаны высевы разведений суспензии, полученной из автоагрегата, сформированного *E. coli* (рис. 3). Согласно высевам, количество живых бактерий в агрегате составляло $1,2 \times 10^8$ КОЕ, а в среде – $0,7 \times 10^8$ КОЕ.

Увеличенная продукция курлей увеличивает эффективность формирования неприкрепленных автоагрегатов *E. coli*

Мы поставили задачу на основе штамма *E. coli* O157:H7 ATCC43890 отобрать продуцирующий курли, но не формирующий биопленки мутант. Неспособность формировать биопленки мутантом необходима была для выявления механизмов, влияющих на формирование агрегатов, но не биопленок. С целью получения такого мутанта разведения ночной культуры высевали на питательный агар, содержащий конго красный и отбирали красные колонии среди белых колоний родительского штамма, не продуцирующего курли. Красные колонии отбирались с частотой 2 на 1000 белых колоний. 4 из 16 отобранных колоний сохраняли красный цвет при последовательных пересевах (рис. 4). Ни один из отобранных мутантов не формировал биопленки так же, как и родительский штамм ATCC43890 (данные не показаны). В дальнейших экспериментах был использован один из 4 отобранных мутантов.

Мутантный и родительский штаммы были выращены в биоасемблере. Для оценки продукции курлей при формировании автоагрегатов использовали конго красный, который был добавлен в среду роста (см. материалы и методы). Связанный с агрегатом краситель был затем смыт, и его количество определяли фотометрически. Количество конго красного, связанного

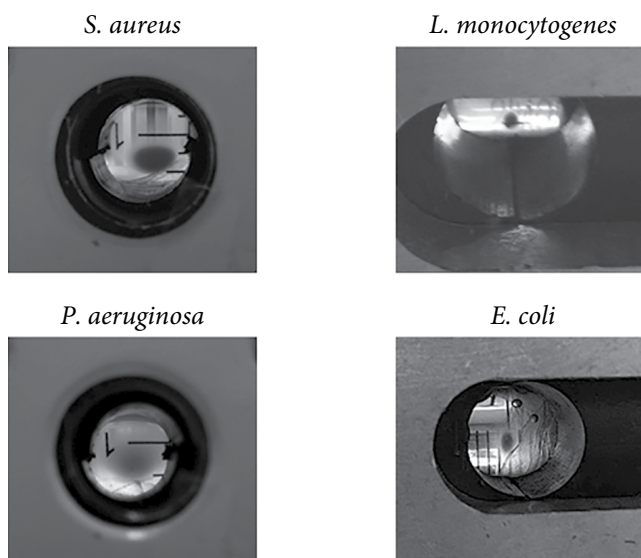


Рис. 1. Неприкрепленные агрегаты, сформированные четырьмя видами патогенных бактерий через 72 часа после начала эксперимента.

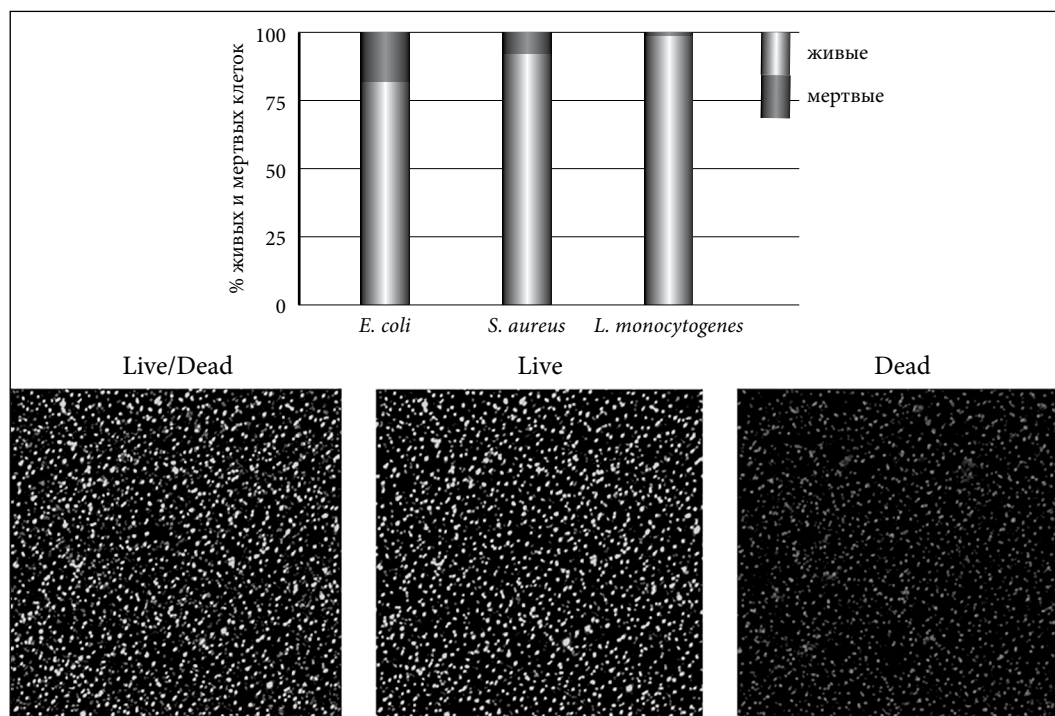


Рис. 2. Относительное количество живых и мертвых бактерий в агрегате через 72 часа после начала эксперимента. Показана окраска агрегата, сформированного *E. coli*, красителем Live/Dead. Для других видов приведены только численные данные.

агрегатами, сформированными мутантом, превышало количество красителя, связанного агрегатами дикого штамма, в 2,3 раза (рис. 4). Этот результат свидетельствует о том, что при формировании неприкрепленных агрегатов мутантом наблюдалась повышенная продукция курлей.

Увеличенная продукция курлей сопровождалась существенным увеличением доли бактерий в агрегате относительно свободноплавающих бактерий. Если у дикого типа отношение количества бактерий в агрегате и в среде составляло 1,8, то у мутанта это соотношение равнялось 12,1. Таким образом, полученные данные указывают, что увеличение производства курлей увеличивает эффективность формирования автоагрегатов.

Обсуждение полученных данных

Отсутствие внешней опорной поверхности при формировании неприкрепленных агрегатов является важным отличием, указывающим на ограничения существующих моделей биопленок *in vitro* [10]. Скорее такие автоагрегаты, сформированные одним видом бактерий и не прикрепленные к поверхности, напоминают флоккулы, хорошо известные микробиологам, изучающим поведение бактерий в естественных водоемах. Бактериальная флоккуляция в объеме жидкости – процесс, типичный для природных водных экосистем, который используется в промышленности для очистки сточных вод и других приложений [11]. Природные флоккулы обычно включают несколько/много видов микроорганизмов. Однако структурно неприкрепленные (авто)агрегаты, формируемые патогенными бактериями в организме человека, и поливидовые

флоккулы природных водоемов имеют характеристики, общие с прикрепленными к поверхности биопленками, являясь трехмерными структурами, включающими бактериальные клетки и внеклеточный матрикс [2]. Как и биопленки, неприкрепленные агрегаты обеспечивают повышенную устойчивость к противомикробным препаратам [5]. С другой стороны, такие особенности, как потребность в бактериальной подвижности, состав матрикса и механизмы регуляции, могут различаться между неприкрепленными агрегатами и классическими биопленками [10].

Для выращивания неприкрепленных бактериальных агрегатов мы использовали ранее описанную систему магнитов, названную биоассемблер [6, 8]. Магнитное поле в этой системе уменьшается к центру рабочего объема, что оказывает эффект на диамагнитные объекты, такие как бактерии, перемещая их в направлении уменьшения поля и обеспечивая

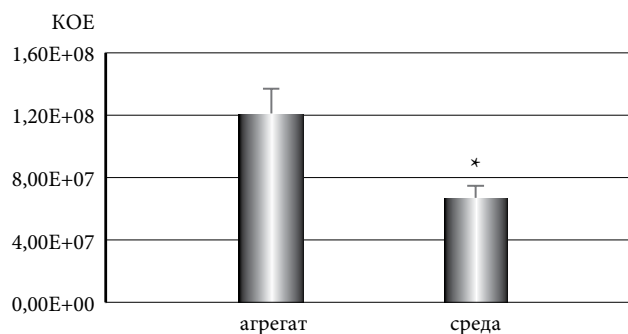


Рис. 3. Количество живых бактерий в агрегате, сформированном *E. coli*, и в окружающей агрегат среде. Показаны средние значения и средноквадратичные отклонения. * $p < 0,05$

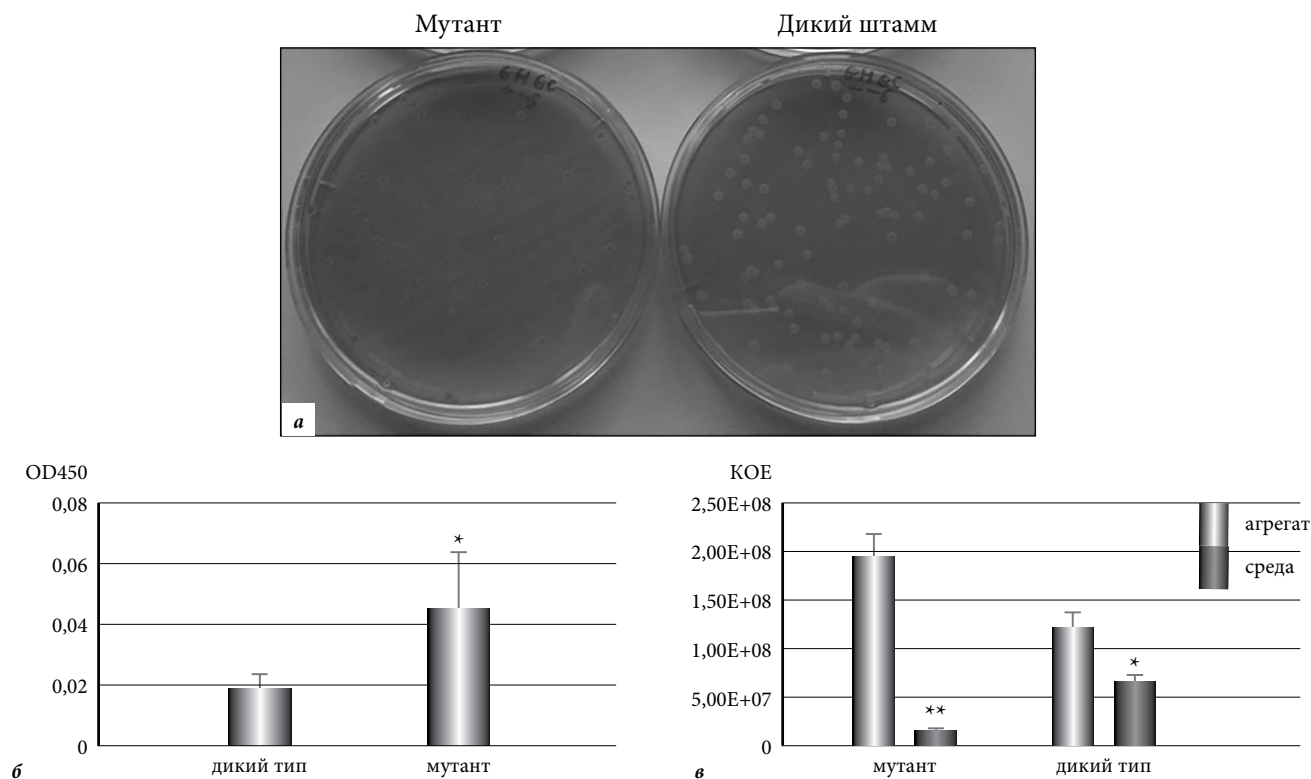


Рис. 4. Характеристика штаммов *E. coli* дикого типа и мутантного. Связывание конго красного при выращивании на агаре LB, связывание конго красного при выращивании в неприкрепленном агрегате, количество бактерий в агрегате и в среде. Показаны средние значения и среднеквадратичные отклонения. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

концентрацию в центре рабочего объема. В большинстве аналогичных используемых систем магнитной левитации магниты разнесены в пространстве, что определяет альтернативную конфигурацию градиента магнитного поля, которая не собирает клетки в центре объема, а, напротив, позволяет им разделиться в соответствии с их плавучестью [12].

Биоассемблер включал два специально сконфигурированных постоянных магнита из сплава NdFeB (неодим-железо-бор). Неодимовые магниты, хотя и самые сильные среди постоянных магнитов, не позволяют получить значения плотности магнитного потока выше 2 Т и сами по себе не могут создать магнитную силу, достаточную для магнитной левитации [8]. Проблема магнитной левитации с использованием относительно слабых магнитных полей, создаваемых постоянными магнитами, была ранее успешно решена путем включения в состав питательных сред парамагнитных или супермагнитных жидкостей [6, 8]. В данной работе мы использовали раствор гадоутрола – комплексного соединения редкоземельного элемента гадолиния. Гадоутрол под торговой маркой Гадовист® и другими используется при проведении МРТ, и его низкая токсичность была неоднократно протестирована [8].

Нашей целью было использование разработанной системы для анализа регуляторных механизмов, контролирующих формирование автоагрегатов патогенными бактериями. В частности, нас интересовало, как будут влиять на формирование автоагрегатов мутации, влияющие на выработку курлей, поверхностных структур,

состоящих из амилоидных белков и играющих важную роль в формировании биопленок *E. coli* [1].

Токсинпродуцирующие *E. coli*, относящиеся к серотипу O157:H7, не формируют биопленки и не продуцируют курли. Это связано с тем, что кодирующий Шига-подобный токсин *stx1* профаг расположен в кодирующей области гена *mlrA*, нарушая тем самым продукцию регуляторного белка [13]. Однако неоднократно было показано, что *E. coli* O157:H7 с высокой частотой выселяют мутации, приводящие к продукции курлей [13, 14]. Некоторые из этих мутаций связаны с утратой профага, и тогда полностью восстанавливается не только продукция курлей, но и способность штамма формировать биопленки [13]. В других случаях мутант получает способность продуцировать курли, но биопленки не формирует, что обычно связано с мутациями в альтернативных частях генома [14].

Полученные в данной работе данные указывают на то, что курли влияют на формирование неприкрепленных автоагрегатов *E. coli* O157:H7; а также что увеличение производства курлей, не влияющее на способность *E. coli* O157:H7 формировать биопленки, увеличивает эффективность формирования автоагрегатов. Эти результаты подтверждают ранее сделанные нами выводы о том, что способность формировать биопленки и способность формировать неприкрепленные автоагрегаты у *E. coli* регулируются независимо [6], хотя с большой вероятностью можно утверждать, что контролируемые эти процессы регуляторные пути пересекаются. На последнее указывает

то, что курли, вовлеченные в формирование неприкрепленных агрегатов, также являются существенным элементом биопленок, формируемых штаммами других серотипов *E. coli*, а также *S. typhimurium*.

Заключение

Приведенные результаты показывают, что использованная нами система позволяет получить левитирующие в объеме жидкости неприкрепленные автоагрегаты, сформированные как грамотрицательными, так и грамположительными бактериями. Бактерии, находясь в составе агрегатов, длительное время сохраняют жизнеспособность. Используя разработанную систему и модель энтеропатогенной *E. coli* O157:H7, мы показали, что автоагрегаты *E. coli* включают амилоидные белки курлей, а мутации, влияющие на производство курлей, влияют на эффективность формирования автоагрегатов. Описанный метод создания автоагрегатов, не прикрепленных к поверхности, вместе с предложенными количественными методами может быть использован в будущем для исследования механизмов автоагрегации и флокуляции бактерий.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения России, тема № 056-00093-22-04 «Разработка тест-системы для экспресс-определения антибиотикорезистентности патогенных бактерий на основе *in situ* анализа подвижности бактериальных клеток».

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – САЕ

Сбор и обработка материала – ПАД, АЕЗ, ДТР

Статистическая обработка – ПАД

Написание текста – САЕ

Редактирование – ПАД

Литература / References

1. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002;15:167–93. doi: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.3
2. Alhede M, Kragh KN, Qvortrup K, Allesen-Holm M, van Genip M, Christensen LD, Jensen PØ, Nielsen AK, Parsek M, Wozniak D, et al. Phenotypes of non-attached *Pseudomonas aeruginosa* aggregates resemble surface attached biofilm. *PLoS One.* 2011;6. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0027943
3. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science.* 2003;01: 105–7. doi: 10.1126/SCIENCE.1084550
4. Nielsen SM, Nørskov-Lauritsen N, Bjarnsholt T, Meyer RL. *Achromobacter* Species Isolated from Cystic Fibrosis Patients Reveal Distinctly Different Biofilm Morphotypes. *Microorganisms.* 2016;4:33. doi: 10.3390/MICROORGANISMS4030033
5. Gilbertie JM, Schnabel LV, Hickok, NJ, Jacob ME, Conlon BP, Shapiro IM, Parviz J, Schaer TP. Equine or porcine synovial fluid as a novel ex vivo model for the study of bacterial free-floating biofilms that form in human joint infections. *PLoS One.* 2019;14:e0221012. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0221012
6. Domnin P, Arkhipov A, Petrov S, Sysolyatina E, Parfenov V, Karalkin P, Mukhachev A, Gusarov A, Moiseyevich M, Khesuani Y, et al. An In Vitro Model of Nonattached Biofilm-Like Bacterial Aggregates Based on Magnetic Levitation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2020;86:e01074–20. doi: 10.1128/AEM.01074-20
7. Berry MV, Geim AK. Of flying frogs and levitons. *Eur. J. Phys.* 1997;18:307. doi: 10.1088/0143-0807/18/4/012
8. Parfenov VA, Koudan EV, Bulanova EA, Karalkin PA, Das Pereira F, Norkin NE, Knyazeva AD, Gryadunova AA, Petrov OE, Vasiliev MM, et al. Scaffold-free, label-free and nozzle-free biofabrication technology using magnetic levitational assembly. *Biofabrication.* 2018;10:034104. doi: 10.1088/17585090/aac900
9. Domnin PA, Parfenov VA, Kononikhin AS, Petrov SV, Shevlyagina NV, Arkhipova AY, Koudan EV, Nezhurina EK, Brzhozovskiy AG, Bugrova AE, et al. Combined Impact of Magnetic Force and Spaceflight Conditions on *Escherichia coli* Physiology. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23:1837. doi: 10.3390/IJMS23031837
10. Kalinin EV, Chalenko YM, Sysolyatina EV, Midiber KY, Gusarov AM, Kechko OI, Kulikova AA, Mikhaleva LM, Mukhachev AY, Stanishkevskiy YM. Bacterial hepatocyte growth factor receptor agonist stimulates hepatocyte proliferation and accelerates liver regeneration in a partial hepatectomy rat model. *Drug Dev. Res.* 2021;82:123–32. doi: 10.1002/ddr.21737
11. Roberts, AEL, Kragh KN, Bjarnsholt T, Diggle SP. The Limitations of In Vitro Experimentation in Understanding Biofilms and Chronic Infection. *J. Mol. Biol.* 2015;427:3646–61. doi: 10.1016/J.JMB.2015.09.002
12. Heidari M. Role of Natural Flocculation in Eliminating Toxic Metals. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2019;76:366–74. doi: 10.1007/S00244-019-00597-X
13. Durmus NG, Tekin HC, Guven S, Sridhar K, Yildiz AA, Calibasi G, Ghiran I, Davis RW, Steinmetz LM, Demirci U. Magnetic levitation of single cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015;112:E3661–8.
14. Chen CY, Nguyen LHT, Cottrell BJ, Irwin PL, Uhlich GA. Multiple mechanisms responsible for strong Congo-red-binding variants of *Escherichia coli* O157:H7 strains. *Pathog. Dis.* 2016;74:ftv123. doi: 10.1093/FEMSPD/FTV123
15. Sharma VK, Bayles DO, Alt DP, Looft T, Brunelle BW, Stasko JA. Disruption of *rscB* by a duplicated sequence in a curli-producing *Escherichia coli* O157:H7 results in differential gene expression in relation to biofilm formation, stress responses and metabolism. *BMC Microbiol.* 2017;17:56. doi: 10.1186/s12866-017-0966-x

УДК [616.124.2-008:616-008.331.1]:575.174.015.3

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-44-49



Ассоциация полиморфизмов генов обмена ангиотензина с диастолической дисфункцией левого желудочка у больных гипертонической болезнью

Т.В. Калинин, Н.В. Ларева, М.В. Чистякова, М.А. Серкин

Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Цель: изучить взаимосвязь SNP ACE ((Alu Ins/Del I>D), rs 4646994), SNP гена ангиотензиногена 1 AGT:521 C>T ((Thr 174 Met), rs 4762), SNP гена ангиотензиногена 2 AGT:704 T>C ((Met 235 Thr), rs699), SNP гена рецептора типа 1 ангиотензина-2 AGTR1: A1166C; A>C (rs5186) с наличием диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью. **Материалы и методы.** Обследованы 74 пациента (26 женщин и 48 мужчин) с гипертонической болезнью 1–2-й стадии. Анализ генетических полиморфизмов проводился методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ДНК. **Результаты.** В группе больных с диастолической дисфункцией левого желудочка обнаружен полиморфизм СС-генотипа AGT:704 T>C (Met 235 Thr), ($\chi^2 = 8,18$; $p = 0,017$), который почти в три раза увеличивает вероятность нарушения расслабления миокарда (OR 2,85), и СС генотипа гена рецептора 1-го типа ангиотензиногена (AGTR1: A1166C), ($\chi^2 = 1,77$; $p = 0,041$), увеличивающий вероятность диастолической дисфункции левого желудочка в два раза (OR 2,39). **Выводы.** СС-генотип AGT:704 T>C (Met 235 Thr) и СС-генотип гена рецептора 1-го типа ангиотензиногена (AGTR1: A1166C) взаимосвязаны с развитием диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, диастолическая дисфункция левого желудочка

Поступила в редакцию: 14.12.22. Получена после доработки: 18.12.22. Принята к печати: 29.12.22

Для цитирования: Калинин Т.В., Ларева Н.В., Чистякова М.В., Серкин М.А. Ассоциация полиморфизмов генов обмена ангиотензина с диастолической дисфункцией левого желудочка у больных гипертонической болезнью. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:44–49. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-44-49

Для корреспонденции: Калинин Татьяна Владимировна – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней Читинской государственной медицинской академии (672007, Забайкальский край, г. Чита, ул. Кастринская, 9, кв. 85); ORCID: 0000-0001-7927-7368; тел. +7 (924) 387-80-55; e-mail: kalink-tatyana@yandex.ru

Association of gene polymorphisms of angiotensin metabolism with left ventricular diastolic dysfunction in hypertensive patients

T.V. Kalinkina, N.V. Lareva, M.V. Chistyakova, M.A. Serkin

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Aim. To investigate the relationship of SNP ACE ((AluIns/Dell>D), rs 4646994), SNP of angiotensinogen 1 gene AGT :521 C>T ((Thr 174 Met), rs 4762), SNP of angiotensinogen 2 gene AGT:704 T>C ((Met 235 Thr), rs699), SNP of angiotensin-2 type 1 receptor gene AGTR1: A1166C; A>C (rs5186) with left ventricular diastolic dysfunction in hypertensive patients. **Methods and materials.** 74 patients (26 women and 48 men) with stage 1-2 hypertension were examined. The analysis of genetic polymorphisms was carried out by means of polymerase chain reaction method with the analysis of DNA RFLP (restriction fragment length polymorphism). **Results.** CC polymorphisms of genotype AGT:704 T>C (Met 235 Thr), ($\chi^2 = 8.18$; $p = 0.017$) were detected in the group of patients with left ventricular diastolic dysfunction, which nearly triples the probability of impaired myocardial relaxation (OR 2.85) and CC polymorphisms of genotype of angiotensinogen type 1 receptor gene (AGTR1: A1166C), ($\chi^2 = 1.77$; $p = 0.041$), which doubles the probability of left ventricular diastolic dysfunction (OR 2.39). **Conclusion.** CC genotype AGT:704 T>C (Met 235 Thr) and CC genotype of the angiotensinogen type 1 receptor gene (AGTR1: A1166C) are associated with the development of left ventricular diastolic dysfunction in patients with hypertension.

Keywords: hypertension, polymorphism of renin-angiotensin-aldosterone system genes, left ventricular diastolic dysfunction

Received 14 December 2022. Received after revision 18 December 2022. Accepted for publication 29 December 2022

For citation: Kalinkina T.V., Lareva N.V., Chistyakova M.V., Serkin M.A. Association of gene polymorphisms of angiotensin metabolism with left ventricular diastolic dysfunction in hypertensive patients. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:44–49. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-44-49

Corresponding author: Kalinkina Tatyana Vladimirovna, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Chita State Medical Academy (9-85, Kastrinskaya str., Chita, 672007, Russia); ORCID: 0000-0001-7927-7368; phone: +7 (924) 387-80-55; e-mail: kalink-tatyana@yandex.ru

В проведенных ранее исследованиях было выявлено, что некоторые полиморфизмы генов обмена ангиотензина можно считать неблагоприятными, поскольку они сопряжены с развитием выраженной

гипертрофии миокарда. К ним были отнесены однонуклеотидная замена в гене ангиотензина, ACE (Alu Ins/Del I>D), однонуклеотидная замена (SNP) в гене ангиотензиногена 1 AGT:521 C>T (Thr 174 Met), SNP

в гене ангиотензиногена 2 AGT:704 T>C (Met 235 Thr), SNP в гене AGTR1: A1166C; A>C рецептора 1-го типа ангиотензина 2 [1]. Также показано, что развитие гипертрофии миокарда сопровождается нарушением релаксации (нарушением диастолы) левого желудочка [2, 3]. Выявлено, что ангиотензин-конвертирующий фермент гидролизует цепочку декапептида ангиотензин 1 в вазопрессор-ангиотензин 2. Эта система оказывает влияние на поддержание сосудистого сопротивления и электролитного баланса [4, 5]. Также показано, что CC-генотип ангиотензиногена 1 при наличии DD генотипа ангиотензин-превращающего фермента увеличивает риск развития смертельных осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью [1]. Это приводит к повышению экспрессии гена ACE и увеличению концентрации ACE в крови, лимфе и тканях, что является фактором, повышающим риск развития сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркта миокарда, гипертонической болезни) [6]. Известно, что rs4762, SNP в гене AGT ангиотензина 2 связан с повышенным риском развития преэклампсии [10]. Таким образом, представляет интерес изучение полиморфизмов генов обмена ангиотензина у пациентов с гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией левого желудочка.

Цель: изучить взаимосвязь SNP ACE ((Alu Ins/Del I>D), rs 4646994) SNP гена ангиотензиногена 1 AGT:521 C>T ((Thr 174 Met), rs 4762), SNP гена ангиотензиногена 2 AGT:704 T>C ((Met 235 Thr), rs699), SNP гена рецептора типа 1 ангиотензина-2 AGTR1: A1166C; A>C (rs5186) с наличием диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью.

Материалы и методы

Обследованы 74 пациента (26 женщин и 48 мужчин) с гипертонической болезнью 1–2-й стадии, наблюдающихся в кардиологическом отделении ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-Медицина”» станции Чита II. Средний возраст больных составил $42 \pm 9,4$ года. Диагноз верифицировался на основании клинических рекомендаций [9]. Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом 31 января 2017 года, протокол № 83.

Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили 90 образцов геномной ДНК, выделенных из венозной крови обследуемых. Методом исследования послужила полимеразная цепная реакция с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (PCR-rt) на геномной ДНК лейкоцитов периферической крови. В работе использованы стандартные наборы праймеров НПФ «Литех» – «SNP-экспресс». Изучали частоту генотипов обмена ангиотензина: ACE (Alu Ins/Del I>D), rs4646994, гена ангиотензиногена 1 AGT:521 C>T (Thr 174 Met), rs4762, гена ангиотензиногена 2 AGT:704 T>C (Met 235 Thr), rs699, рецептора типа 1 ангиотензина 2 в гене AGTR1: A1166C; A>C), rs5186.

Выполняли доплер-эхокардиографию по стандартной методике в положении больного на левом боку на аппарате VIVIDЕ 95, (производитель GE Healthcare, США), мультисекторным (1,5–4,6 МГц) матричным датчиком M5S. Определяли массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ), рассчитывали по формуле Cube . Индекс ММЛЖ определяли как отношение ММЛЖ к площади поверхности тела. Рассчитывали относительную толщину стенок левого желудочка (ОТС ЛЖ). Объемные показатели левого желудочка и предсердия получали в В-режиме при обведении границ эндокарда в апикальных 4- и 2-камерных позициях в систолу и диастолу (метод дисков), индекс объема левого предсердия рассчитывали как отношение объема левого предсердия к площади поверхности тела. Диастолическую дисфункцию левого желудочка (ДД ЛЖ) также оценивали с помощью импульсно-волнового режима доплеровской визуализации тканей. Исследование проводили из апикального доступа на уровне четырех камер, доплеровский спектр регистрировали от медиального и латерального отделов фиброзного кольца митрального клапана, оценивали скорость E_m , отношение E/E_m . Для получения максимальных значений скоростей при доплеровской визуализации тканей угол между направлением луча и продольным движением структур старались сделать минимальным. У всех пациентов оценивали ДД ЛЖ в соответствии с рекомендациями АОЭ/ЕАССВ-2016. Для суждения о наличии ДД ЛЖ оценивали отношение $E/E_m > 14$, скорость медиальной части фиброзного кольца МК $E_m < 7$ см/с, латерального $E_m < 10$ см/с, индекс объема левого предсердия > 34 мл/м², максимальную скорость трикуспидальной регургитации $> 2,8$ м/с [7]. Выявление трех критериев и более расценивали как наличие ДД ЛЖ, при наличии одного признака устанавливали нормальную ДД ЛЖ, обнаружение двух из перечисленных критериев расценивали как неопределенный результат.

Исследуемые были разделены на две группы в зависимости от наличия ДД ЛЖ: с нормальной (группа 1; $n = 43$, 58%) и нарушенной диастолической функцией (группа 2; $n = 31$, 42%). В контрольную группу (группа 3) вошли 35 здоровых лиц (12 женщин и 23 мужчины, средний возраст $38 \pm 5,4$ года) без вредных привычек и признаков сердечно-сосудистых и других хронических заболеваний. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Соответствие наблюдаемого распределения количественных величин нормальному закону распределения оценивали с использованием критерия Шапиро – Уилка. Все количественные признаки в нашем исследовании были распределены ненормально, поэтому при сравнении показателей использовался критерий Манна – Уитни. При парном сравнении частот генотипов в исследуемых группах и контроле использовался критерий Краскела – Уоллиса. Относительный риск развития рецидива по конкретному признаку вычисляли с определением 95% доверительного интервала. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Генотип DD гена ACE выявлен у 52% пациентов с гипертонической болезнью и у 63,5% пациентов с гипертонической болезнью (ГБ) в сочетании с диастолической дисфункцией. Генотип ID был определен у 23,2% пациентов 1-й группы и у 19,8% больных 2-й группы. При сравнении ожидаемых частот с полученными данными статистически значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса не выявлено. Это подтверждает, что результаты подчиняются закону Харди – Вайнберга. Согласно нашим данным, полиморфизм rs 4762 C174T, неблагоприятно влияющий на течение артериальной гипертензии, когда чаще возникали осложнения в виде сердечной недостаточности, чаще встречался у больных 2-й группы ($\chi^2 = 1,77$; $p = 0,041$, OR 2,39). Так, данный генотип выявлен у 24% пациентов с гипертонической болезнью и у 32,3% наблюдаемых с сочетанием данного заболевания и диастолической дисфункцией (критерий Манна – Уитни, $p = 0,037$), в то время как генотип TT (наиболее неблагоприятный по прогнозу развития и прогрессирования артериальной гипертензии) встречался в одинаковом количестве случаев у пациентов 1-й и 2-й групп.

Наибольший интерес у исследователей вызывает соотношение генотипа CC гена AGT 2, увеличивающего риск развития артериальной гипертензии [1]. Данный генотип выявлен у 5 (12%) больных гипертонической болезнью и у 6 пациентов (21,9%) с сочетанием гипертонической болезни и ДД ЛЖ. Гетерозиготы определены у 23 больных 1-й группы (54,4%) и 18 пациентов 2-й группы (60,4%). Достоверной разницы не выявлено ($p = 0,58$). В контрольной группе полученные данные также соответствовали распределению Харди – Вайнберга. Количество обследованных с генотипом TT (ассоциированным с благоприятным прогнозом по возникновению и развитию гипертонической болезни) в группе больных неосложненной гипертонической болезнью не отличалось от контрольной группы (33,6 и 32,6% соответственно, $p = 0,88$). При этом количество гетерозигот в обеих группах больных было больше, чем в контрольной (на 6% в 1-й группе и на 16% во 2-й

группе). Однако такая тенденция не была достоверной ($p = 0,74$ и $p = 0,65$ соответственно).

В нашем исследовании отмечалась тенденция к увеличению частоты генотипов CC и AC, ответственных за развитие и прогрессирование гипертонической болезни, в гене рецептора к ангиотензиногену AGTR1. Генотип AC в группе больных гипертонической болезнью встречался в 6,4% наблюдений, а в группе больных с гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией левого желудочка – в 9,2% ($p = 0,75$). На этом фоне имело место снижение частоты AA-генотипа, у обеих групп больных на 12,8 и 9,3% соответственно ($p > 0,5$).

В таблице 1 представлены результаты анализа распределения генотипов изучаемого нами полиморфизма генов у наблюдаемых пациентов. Анализ ассоциации носительства отдельных аллелей полиморфизмов генов ACE (Alu Ins/Del I>D), AGT:521 C>T (Thr 174 Met) в группах сравнения пациентов с гипертонической болезнью показал отсутствие значимых отличий по данным показателям.

В нашем исследовании в группе пациентов гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией ЛЖ обнаружено более частое наблюдение CC-генотипа AGT:704 T>C (Met 235 Thr), ($\chi^2 = 8,18$; $p = 0,017$, OR 2,85) и увеличение частоты CC-генотипа AGTR1: A1166C CC генотипа ($\chi^2 = 1,77$; $p = 0,041$, OR 2,39).

В связи с полученными данными нами были проанализированы ассоциации некоторых клинических и эхокардиографических показателей с полиморфизмами AGT:704 T>C (Met 235 Thr) и AGTR1: A1166C в зависимости от наличия диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью.

В таблице 2 представлены данные исследования ассоциаций различных генотипов ангиотензиногена рецептора 1-го типа. Достоверных различий в исследуемых параметрах данного гена у пациентов с гипертонической болезнью без нарушения диастолы нами не выявлено. Также не было выявлено статистически значимых различий в клинических

Таблица 1

Распределение генотипов полиморфизмов РААС у больных гипертонической болезнью

Полиморфизм	Генотип	1-я группа без ДД ($n = 43$)	2-я группа с ДД ($n = 31$)	χ^2	p	OR	95% CI
ACE (Alu Ins/Del I>D)	D/D	0,60	0,51	1,3	0,1	1,39	1,37–2,13
	I/D	0,28	0,23			0,32	0,17–0,60
	I/I	0,12	0,26			0,43	0,23–0,80
AGT:521 C>T (Thr 174 Met)	T/T	–	–	1,51	0,59	1,0	0,02–5,89
	T/C	0,06	0,30			1,71	0,65–4,01
	C/C	0,94	0,70			0,15	0,06–0,38
AGT:704 T>C (Met 235 Thr)	T/T	0,18	0,10	8,18	0,017	0,51	0,22–1,16
	T/C	0,56	0,40			0,52	0,30–0,92
	C/C	0,26	0,50			2,85	1,57–4,56
AGTR1: A1166C; A>C	A/A	0,70	0,50	1,77	0,041	0,43	0,24–0,77
	A/C	0,30	0,38			1,43	0,79–2,58
	C/C	–	0,12			2,39	1,66–2,4

Таблица 2

Ассоциация исходных характеристик обследуемых пациентов с гипертонической болезнью с генотипами гена AGTR1: A1166C

Переменные, Ме [P25–P75]	AA (n = 56)	AC (n = 11)	CC (n = 7)	Критерий Краскела – Уоллиса (H), статистическая значимость (p)
ИМТ, кг/м ²	30,4 [22,8–34,2]	31,0 [24,1–33,0]	30,8 [23,9–31,7]	2,3; 0,71
Возраст, лет	40,1 [35,3–42,9]	42,5 [34,9–47,1]	41,7 [40,3–49,0]	1,01; 0,63
Длительность артериальной гипертензии, лет	5,1 [4,7–6,4]	5,6 [4,1–6,9]	5,2 [4,8–5,7]	2,4; 0,59
Индекс курения, пачка/лет	6,8 [5,7–7,9]	6,2 [5,2–10,1]	4,9 [4,5–9,3]	3,04; 0,56
Индекс объема ЛП, мл/м ²	31,6 [29,2–36,3]	32,0 [24,8–33,1]	32,1 [23,7–32,9]	1,2; 0,81
Относительная толщина стенок левого желудочка	0,41 [0,37–0,49]	0,43 [0,31–0,49]	0,4 [0,32–0,48]	2,02; 0,75
Скорость потока трикуспидальной регургитации, м/с	242,0 [218,7–261,3]	244,5 [230,1–253,0]	249,6 [220,1–256,4]	3,61; 0,69
Глобальная продольная деформация ЛЖ (Avg)	17,1 [16,4–18,6]	17,4 [15,9–18,4]	16,9 [14,8–16,7]	0,09; 0,97
ЧСС	65,5 [62,7–72,3]	68,9 [65,3–74,1]	67,8 [63,4–76,3]	3,01; 0,65
ИММЛЖ, г/м ²	93,31 [88,2–99,5]	92,8 [84,9–96,7]	93,7 [85,5–99,3]	1,87; 0,74
Давление наполнения ЛЖ (E/Em)	9,56 [9,1–13,1]	9,8 [8,2–12,4]	9,47 [8,3–11,3]	1,58; 0,87

Таблица 3

Ассоциация исходных характеристик обследуемых пациентов с гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией с генотипами гена AGT:704 T>C (Met 235 Thr)

Переменные, Ме [P25–P75]	TT (n = 7)	TC (n = 18)	CC (n = 6)	Критерий Краскела – Уоллиса (H), статистическая значимость (p)
ИМТ, кг/м ²	31,4 [29,1–36,2]	32,1 [29,3–37,4]	31,8 [29,7–32,6]	2,10; 0,68
Возраст, лет	40,3 [31,8–44,1]	42,1 [39,7–47,2]	41,8 [34,9–43,8]	0,91; 0,79
Длительность артериальной гипертензии, лет	5,8 [2,0–7,7]	5,1 [3,7–9,1]	6,1 [4,3–6,7]	0,01; 0,85
Индекс курения, пачка/лет	10,7 [8,3–12,1]	11,5 [9,1–11,2]	9,9 [7,8–11,6]	2,84; 0,58
Индекс объема ЛП, мл/м ²	30,2 [29,3–31,4]	31,6 [25,8–30,4]	32,1 [29,4–32,9]	0,62; 0,71
Относительная толщина стенок левого желудочка	0,43 [0,40–0,5]	0,45 [0,39–0,6]	0,44 [0,38–0,51]	0,14; 0,73
Скорость потока трикуспидальной регургитации, м/с	262,41 [224,2–270,3]	269,2 [245,3–279,0]	259,7 [225,1–263,3]	0,61; 0,61
Глобальная продольная деформация ЛЖ (Avg)	12,5 [11,3–14,5]	11,2 [19,6–18,0]	12,3 [10,2–14,5]	0,03; 0,84
ЧСС	72,5 [69,1–88,3]	75,4 [69,4–81,0]	72,9 [67,2–78,5]	0,97; 0,78
ИММЛЖ, г/м ²	103,1 [95,8–115,1]	107,1 [99,2–114,3]	105,7 [97,6–109,2]	2,14; 0,69
Давление наполнения ЛЖ (E/Em)	10,5 [9,1–11,2]	10,8 [9,7–12,0]	11,0 [8,8–11,9]	2,05; 0,67

и гемодинамических показателей у пациентов с гипертонической болезнью без нарушения диастолы в зависимости от ассоциаций с разными генотипами ангиотензиногена.

Как видно из таблицы 3, у пациентов с гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией левого желудочка есть ассоциации эхокардиографических признаков ДД ЛЖ с генотипами AGT:704 T>C (Met 235 Thr). Частота генотипов TC и CC при гипертонической болезни в сочетании с диастолической дисфункцией была выше, чем у пациентов с гипертонической болезнью без нарушения расслабления левого желудочка (21,3% против 15% и 47,5%

против 40,8% соответственно), указывая на обратную связь между носительством нормальных генотипов и риском развития диастолической дисфункции ($\chi^2 = 4,701$ при $p = 0,028$ и $\chi^2 = 2,279$ при $p = 0,075$).

При этом скорость диастолического пика *Em* правого желудочка при наличии патологических аллелей не отличалась.

Обсуждение

Исследования последних лет посвящены изучению полиморфизмов генов при АГ для определения их взаимосвязи между собой. Рецептор 1 типа

ангиотензина 2 под действием ангиотензина 2 суживает стенки сосудов, тем самым повышает артериальное давление, тогда как рецептор 2-го типа ангиотензина 2, наоборот, расширяет сосуды и снижает артериальное давление. Рецептор 1-го типа ангиотензина 2 регулируется разными механизмами [5]. Учитывая, что рецептор 1-го типа ангиотензина 2 участвует в патогенезе атеросклероза и находится во всех сосудах тела, а также в коронарных сосудах, была изучена связь между генами AGTR1 и ACE с риском развития острого инфаркта миокарда. Это исследование показало, что полиморфизм A1166C гена AGTR1 является генетическим фактором риска развития ОИМ, а именно носители генотипа CC имели высокий риск развития ОИМ [1]. Частота аллеля C гена AGTR1 была выше у женщин с АГ, чем у женщин без АГ, а у мужчин такая частота не наблюдалась [6]. Генотип CC ассоциирован с более высокими цифрами АД, чем генотип AA у женщин. Это связано с тем, что некоторые компоненты РААС у женщин регулируются эстрогенами, так как эстроген является промотором гена ангиотензиногена. Согласно современным представлениям [1], у больных гипертонической болезнью чаще встречается генотип DD гена ангиотензина, что согласуется с данными, полученными в нашем исследовании. При этом у больных с нарушением расслабления миокарда левого желудочка данный генотип выявлялся чаще, что может свидетельствовать о вкладе этого полиморфизма в развитие и прогрессирование диастолической дисфункции. В литературе описан гетерозиготный полиморфизм C174T (генотип CT), оказывающий неблагоприятное влияние на течение гипертонической болезни [1, 5], в нашем исследовании также чаще встречался у 2-й группы обследуемых.

Изучен генотип CC гена AGT 2 [3, 6], повышающего риск развития артериальной гипертензии. В нашем исследовании не выявлена достоверная разница по гомозиготам, однако в изучении гетерозигот отмечалась тенденция к увеличению в группе с сочетанием гипертонической болезни и диастолической дисфункции. Такая же тенденция отмечалась и в отношении частоты генотипов CC и AC в гене рецептора к ангиотензиногену AGTR1: A1166C в группе пациентов гипертонической болезнью в сочетании с диастолической дисфункцией левого желудочка, что согласуется с мнением других авторов [1, 3, 5].

Также получены данные, что в группе пациентов с сохранной и нарушенной диастолической функцией отмечалось увеличение скорости движения боковой стенки левого желудочка на 36,3 и 34,2% соответственно по сравнению с контролем, однако данные не отличались в группах больных ($p < 0,05$). В отношении гемодинамических нарушений при гипертонической болезни имела место тенденция к увеличению скорости потока трикуспидальной регургитации в группе пациентов с гипертонической болезнью в сочетании с нарушением диастолической функции. При этом скорость диастолического пика E_m правого желудочка

при наличии патологических аллелей не отличалась. Это согласуется с другими данными [3, 4]. В связи с тем, что известно об увеличении массы миокарда при прогрессировании гипертонической болезни [2, 4, 6–8] с последующим формированием гипертрофии левого желудочка, при анализе ИМММЛЖ у больных гипертонической болезнью при наличии ТС-генотипа наблюдалась тенденция к его увеличению с нарастанием стадии заболевания. Наибольшее значение для развития диастолической дисфункции левого желудочка у пациентов с гипертонической болезнью имеет наличие полиморфизма CC-генотипа AGT:704 T>C (Met 235 Thr), ($\chi^2 = 8,18$; $p = 0,017$), который почти в три раза увеличивает вероятность нарушения расслабления миокарда (OR 2,85), и CC-генотипа гена рецептора 1-го типа ангиотензиногена (AGTR1: A1166C), ($\chi^2 = 1,77$; $p = 0,041$), увеличивающий вероятность диастолической дисфункции ЛЖ в два раза (OR 2,39). Также известно, что индекс массы миокарда увеличивается при прогрессировании гипертонической болезни с последующим формированием гипертрофии левого желудочка [7, 8]. В нашем исследовании при изучении ИМММЛЖ у больных гипертонической болезнью при наличии CC-генотипа AGT:704 наблюдалась тенденция к увеличению индекса массы миокарда левого желудочка с нарастанием стадии заболевания (у пациентов 2-й группы данный показатель был выше на 7,2% по сравнению с 1-й группой, $p > 0,5$).

Вывод

Таким образом, CC-генотип AGT:704 T>C (Met 235 Thr) и CC-генотип гена рецептора 1-го типа ангиотензиногена (AGTR1: A1166C) взаимосвязаны с развитием диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью.

Конфликт интересов: авторы декларируют об отсутствии явных и потенциальных конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: работа выполнена при финансовой поддержке в рамках утвержденного плана НИР.

Участие авторов:

Сбор данных – КТВ, ЧМВ

Разработка концепции и дизайна исследования – КТВ, ЛНВ

Анализ и интерпретация данных – КТВ

Анализ литературы по теме исследования – КТВ, ЧМВ

Научное редактирование – КТВ, ЛНВ

Техническое редактирование – ЛНВ, СМА

Утверждение окончательного текста статьи – КТВ, ЛНВ, СМА

Литература / References

1. Кох Н.В., Слепухина А.А., Лифшиц Г.И. Артериальная гипертензия: молекулярно-генетические и фармакологические подходы. *Фармакогенетика и фармакогеномика*. 2015;2:4–8. [Kokh NV, Slepukhina AA, Lifshits GI. Arterial hypertension: molecular-genetic and pharmacogenetic approaches. *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*. 2015;2:4–8 (In Russ)].

2. Калинкина Т.В., Ларева Н.В., Чистякова М.В., Горбунов В.В. Взаимосвязь дисфункции эндотелия и развития диастолической сердечной недостаточности у больных гипертонической болезнью. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2020;16(3):370–6. [Kalinkina TV, Lareva NV, Chistyakova MV, Gorbunov VV. The Relationship of Endothelial Dysfunction with the Development of Diastolic Heart Failure in Patients with Hypertension. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2020;16(3):370–6. (In Russ.)]. doi: 10.20996/1819-6446-2020-05-04
3. Муженя Д.В., Тутуз А.Р., Лысенков С.П., Тхакушинов Р.А., Ожева Р.Ш. Роль полиморфизма генов компонентов ренин-ангиотензиновой системы в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, избыточной массы тела и ожирения у жителей Республики Адыгея. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2018;13(4):344–54. [Muzhenya DV, Tuguz AR, Lysenkov SP Tkhakushinov R.A, Ozheva RS. The role of gene polymorphism of the renin-angiotensin system components in the development of cardiovascular diseases, overweight and obesity in residents of the Republic of Adygea. *Bulletin of St. Petersburg University. Medicine*. 2018;13(4):344–54 (In Russ.)]. doi: 10.21638/11701/spbu11.2018.402
4. Калинкина Т.В., Ларёва Н.В., Чистякова М. В. Современные методы диагностики диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью. *Забайкальский медицинский вестник*. 2016;2:115–20. [Kalinkina TV, Lareva NV, Chistyakova MV. Modern diagnosis methods of diastolic dysfunction of the left ventricle in patients with hypertension. *The Transbaikal Medical Bulletin*. 2016;2:115–20 (In Russ.)].
5. Мартынович Т.В., Акимова Н.С., Федотов Э.А., Корсунова Е.Н., Соколов И.М. Анализ полиморфизма генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;3. [Martynovich TV, Akimova NS, Fedotov EA, Korsunova EN, Sokolov IM. Analysis of gene polymorphism of the renin-angiotensin-aldosterone system in patients with cardiovascular diseases. *Modern problems of science and education*. 2015;3 (In Russ.)]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=17392> (Accessed: Feb.08, 2022).
6. Нгуен Тхи Чанг. Исследование ассоциации T174M и M235T гена ангиотензиногена с ишемической болезнью сердца в Ростовской популяции. *Фундаментальные исследования*. 2010;3:114–21. [Nguyen Thi Chang. Investigation of the association of T174M and M235T angiotensinogen gene with coronary heart disease in the Rostov population. *Fundamental research*. 2010;3:114–21 (In Russ.)].
7. Алёхин М.Н. Проблемы и перспективы эхокардиографической оценки диастолической функции левого желудочка сердца. *Кардиология*. 2017;57(1):71–5. [Alekhin MN. Problems and prospects of echocardiographic evaluation of diastolic function of the left ventricle of the heart. *Cardiology*. 2017;57(1):71–5 (In Russ.)]. doi: 10.18565/cardio.2017.1.71-75
8. Закирова А.Н., Фаткуллина Е.З., Закирова Н.Э. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии гипертрофии левого желудочка у пациенток с артериальной гипертензией и метаболическим синдромом. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2014;10(1):37–42. [Zakirova AN, Fatkullina EZ, Zakirova NE. The role of matrix metalloproteinases in the development of left ventricular hypertrophy in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome. *Rational pharmacotherapy in cardiology*. 2014;10(1):37–42 (In Russ.)].
9. Российские рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии. *Системные гипертензии*. 2019;16(1):6–13. [Russian recommendations for the diagnosis and treatment of arterial hypertension. *Systemic hypertension*. 2019;16(1):6–13 (In Russ.)].
10. Фетисова И.Н., Панова И.А., Рокотянский Е.А. Генетические факторы развития эклампсии. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2015;20(3):13–7. [Fetisova IN, Panova IA, Rokotyansky EA. Genetic factors of eclampsia development. *Bulletin of the Ivanovo Medical Academy*. 2015;20(3):13–7 (In Russ.)].

УДК 615.464:57-083.13

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54



Особенности формирования бактериальных биопленок на керамике различного состава, используемой для ортопедического эндопротезирования

Ю.Е. Скурихина¹, Е.К. Папынов², Е.А. Зайцева¹, О.О. Шичалин²¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Цель: оценка интенсивности и особенностей образования бактериальных биопленок, формируемых неферментирующими грамотрицательными бактериями *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* на керамических образцах биокompозитного состава на основе волластонита и диоксида циркония, в том числе модифицированных добавкой биоактивной фазы гидроксиапатита (ГАП). **Материалы и методы:** исследование биопленок, сформированных на образцах биокерамики, изготовленных оригинальным авторским методом, с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ). Изучаемые образцы: керамика некомпозитная на основе волластонита (CaSiO_3); керамика композитная на основе волластонита в составе с ГАП (CaSiO_3 -ГАП); керамика некомпозитная на основе диоксида циркония ZrO_2 ; керамика на основе диоксида циркония в составе с ГАП 15 масс. % (ZrO_2 -15 масс. % ГАП); керамика на основе диоксида циркония в составе с (ZrO_2 -50 масс. % ГАП). Биопленки на образцах получали, размещая образцы в питательной среде с *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов. Определение процента заселенности бактериями поверхности исследуемых образцов производилось методом анализа РЭМ изображений с помощью классификатора на основе локального бинарного паттерна (Local Binary Pattern, LBP). **Результаты.** При исследовании выявлена заметная разница в активности формирования и структуре бактериальной биопленки на всех исследуемых образцах. Интенсивность формирования биопленки (процент покрытия поверхности образцов керамики на основе ZrO_2), определенная с помощью классификатора на основе LBP, была следующая: керамика ZrO_2 без ГАП – 28,13%, ZrO_2 + 15 масс. % ГАП – 28,33%, ZrO_2 + 50 масс. % ГАП – 88,46%. Установлено, что на всех образцах с добавлением ГАП бактериальные биопленки образуются более активно. **Заключение.** Наличие ГАП в составе биокерамики повышает интенсивность формирования бактериальных пленок на поверхности образца. В то же время это свидетельствует о более высокой биосовместимости таких материалов. С точки зрения оценки риска возникновения инфекционного процесса при применении биокерамических материалов для замещения дефектов костной ткани наиболее оптимальным вариантом является биокерамика с добавкой не более 15 масс. % ГАП.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, биопленки, биокерамика

Поступила в редакцию 17.01.23. Получена после доработки 21.01.23, 30.01.23. Принята к публикации 04.02.23

Для цитирования: Скурихина Ю.Е., Папынов Е.К., Зайцева Е.А., Шичалин О.О. Особенности формирования бактериальных биопленок на керамике различного состава, используемой для ортопедического эндопротезирования. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:50–54. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54

Для корреспонденции: Скурихина Юлия Евгеньевна – канд. мед. наук, доцент, и. о. заведующего кафедрой эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-4182-5231; тел. +7 (914) 676-50-47; e-mail: eesku@mail.ru

Bacterial biofilm formation on ceramics of various composition used for orthopedic endoprosthesis

Yu.E. Skurikhina¹, E.K. Papynov², E.A. Zaitseva¹, O.O. Shichalin²¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

Aim. To assess the intensity and characteristics of bacterial biofilms formed by non-fermenting gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* on ceramic biocomposite samples based on wollastonite and zirconia, including those modified with the bioactive phase of hydroxyapatite (HA). **Materials and methods.** Biofilms formed on bioceramic samples, prepared according to the author's original method, were examined by scanning electron microscopy (SEM). The studied samples included non-composite ceramics based on wollastonite (CaSiO_3); composite ceramics based on wollastonite with HA (CaSiO_3 -HA); non-composite ceramics based on zirconium dioxide ZrO_2 ; ceramics based on zirconia with HA 15 wt% (ZrO_2 -15 wt % HA); ceramics based on zirconia with (ZrO_2 -50 wt% HA). Biofilms were obtained by placing the samples in a nutrient medium with *P. aeruginosa* and *A. baumannii*. Cultivation was carried out at 37 °C for 24 and 48 h, respectively. The dynamics of bacterial growth of the surface of the studied samples was assessed by analyzing SEM images using an LBP classifier. **Results.** A noticeable difference was observed in the activity and structure of bacterial biofilm formation on all studied samples. The intensity of biofilm formation (surface coverage of ZrO_2 -based samples) determined using an LBP-based classifier was as follows: ZrO_2 ceramics without HA – 28.13%; ZrO_2 + 15 wt% HA – 28.33%; and ZrO_2 + 50 wt% HA – 88.46%. All samples with HA addition demonstrated higher susceptibility to biofilm formation. **Conclusion.** The presence of HA in the composition of bioceramics increases the intensity of biofilm formation. This also indicates a higher biocompatibility of such materials.

When selecting bioceramic materials for bone defect repair, preference should be given to materials containing no more than 15 wt% HA in the view of reducing the risk of infection.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, biofilms, bioceramics

Received 17 January 2023. Revised 21, 30 January 2023. Accepted 4 February 2023

For citation: Skurikhina Yu.E., Papynov E.K., Zaitseva E.A., Shichalin O.O. Bacterial biofilm formation on ceramics of various composition used for orthopedic endoprosthetics. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:50–54. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-50-54

For corresponding: Yulia E. Skurikhina, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Acting Head of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology of the Pacific State Medical University (2 Ostryakov Ave., 690002, Vladivostok, Russia); ORCID: 0000-0002-4182-5231; phone: +7 (914) 676-50-47; e-mail: eesku@mail.ru

В эпоху применения различных устройств и конструкций из искусственных (синтетических) материалов с лечебной целью отмечается появление и распространение инфекций, возникающих при установке и длительном нахождении имплантатов в организме человека. В основе подобных инфекций лежит формирование биопленок условно-патогенными микроорганизмами, которое ведет к возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в том числе тяжелых имплантат-ассоциированных инфекционных осложнений, сепсисов.

Развитие инфекций в эндопротезах в ортопедии и онкоортопедии колеблется от 1,5 до 13% [1]. Отмечено, что 15–20% первичных ревизионных операций осуществляются по поводу инфицирования протезов [2]. Причиной развития осложнений в большинстве случаев является интраоперационное инфицирование, реже гематогенное, из-за инфекций кожного покрова, пневмонии, стоматологических процедур, инвазивных манипуляций, инфекций мочеполовой системы [3].

Материалы, из которых изготавливаются современные имплантаты, применяемые в ортопедической хирургии, обладают физико-химическими и механическими характеристиками, определяющими химическую инертность, термостабильность, пластичность, микроструктурное разнообразие и конструкционную прочность. Также учитываются биосовместимые с живым организмом свойства этих систем, основанные на отсутствии токсичности, биоинертности или биоактивности и биорезистивности. Важно не только влияние биоматериалов на организм пациента, но и такой аспект, как формирование на этих материалах биопленок, образуемых возбудителями ИСМП. Риск развития инфекции в области протеза и интенсивность формирования биопленки зависит от химического состава и микроструктуры (пористость, кристалличность, рельеф поверхности) материала [4].

Керамические материалы для костных имплантатов вызывают большой интерес вследствие растущих запросов ортопедической хирургии. Инертность к биологической среде и высокие прочностные характеристики керамики позволяют успешно использовать ее для изготовления пористых конструкций, имплантируемых в организм [5]. В качестве таких имплантатов может выступать биоинертная керамика, которая исключает нежелательные химические реакции с тканями и межтканевыми жидкостями в организме [6]. Такая керамика может использоваться в качестве искусственных

протезов, для которых неприемлема даже частичная резорбция, например при изготовлении протезов зубов или тел позвонков. Для придания или повышения биоактивных свойств в керамику вводят резорбируемую фазу, в качестве которой может выступать гидроксипатит (ГАП) – компонент, который наиболее близок к минеральной составляющей костной ткани [7]. В этом случае материалы наделяются эффективными биоактивными свойствами, такими как отсутствие негативных реакций со стороны иммунной системы, быстрое срастание с костной тканью, стимулирование остеосинтеза и др. [8]. Пористость материалов с разным составом также различная, от нее зависит как прочность материала, так и глубина прорастания биологической ткани в имплантат. Но эти же свойства биокерамики влияют и на другой аспект – интенсивность образования бактериальной биопленки на ее поверхности.

Цель работы – оценить интенсивность формирования бактериальных пленок *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* на поверхности керамических образцов биокompозитного состава на основе волластонита и диоксида циркония, в том числе модифицированных добавкой биоактивной фазы гидроксипатита.

Материалы и методы

Исследовались следующие виды синтетической биокерамики: 1) керамика некомпозитная на основе волластонита (CaSiO_3); 2) керамика композитная на основе волластонита в составе с ГАП (CaSiO_3 -ГАП); 3) керамика некомпозитная на основе диоксида циркония Zr_2O_3 ; 4) керамика на основе диоксида циркония в составе с ГАП 15 масс. % (ZrO_2 -(15 масс. % ГАП); 5) керамика на основе диоксида циркония в составе с (ZrO_2 -(50 масс. % ГАП). Образцы были изготовлены согласно оригинальным авторским методам, описанным и изученным в работах [9, 10].

Образцы имели цилиндрическую форму диаметром 15,3 мм и высотой 4–5 мм.

Для оценки интенсивности формирования бактериальной биопленки на образцах использовали *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, штаммы получены и идентифицированы в бактериологической лаборатории многопрофильного стационара, г. Владивосток.

Бактериальные биопленки на исследуемых образцах получали двумя способами: 1) образцы помещали в жидкую питательную среду (МПБ, Оболенск, Россия)

с *P. aeruginosa* или *A. baumannii* (0,5 стандарт McFarland). Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов; 2) образцы окунали в жидкую питательную среду (МПБ, Оболенск, Россия) с *P. aeruginosa* или *A. baumannii* (0,5 стандарт McFarland) на 10 минут, после этого их размещали в чашках Петри на поверхности 5% кровяного агара, засеянного этими же микроорганизмами. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 и 48 часов.

Фиксация биопленки на образцах проводилась путем промывки в 4% формальдегиде с 1% раствором фосфатного буфера и последующим воздействием 1% раствором осмия тетраоксида в течение 1 часа. Обезжизвляние проводили с помощью последовательной обработки в этаноле различной концентрации и при соответствующей экспозиции (30% – 10 минут; 50% – 10 минут; 70% – 10 минут; 96% – 10 минут; 100% – 20 минут), а затем в ацетоне 20 минут.

Морфологию сформированных биопленок изучали с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ) на приборе Carl Zeiss Ultra 55 (Германия) с катодом на полевой эмиссии при ускоряющих напряжениях 1–5 kV и токе пучка $I \approx 100$ pA.

Определение процента заселенности бактериями поверхности исследуемых керамик производилось с помощью метода анализа РЭМ-изображений. Использовался классификатор на основе локального бинарного паттерна (Local Binary Pattern, LBP), который задает представление одного пикселя через сравнение с 8 его соседями по яркости. Имеется черно-белое изображение, где каждый пиксель характеризуется тройкой чисел, определяющих оттенок серого цвета. Если центральный пиксель характеризуется меньшей яркостью, чем сосед, то данной ячейке присваивается 1, в противном случае – 0. Затем последовательность единиц и нулей объединяется в бинарное число, которое ставится в соответствие центральному пикселю (рис. 1). Таким образом, на первом этапе каждому пикселю рассматриваемого изображения ставилось в соответствие 8-значное бинарное число. На следующем этапе производилось обучение модели посредством выделения областей, соответствующих одному из 3 типов текстур: «образец», «бактерия», «пора». В рамках обучения частоты каждого

значения LBP, изначально равные нулю для каждой текстуры, повышались на 1, если они попали в выделенную область. Затем частоты нормализовались и окончательно получали для каждого значения LBP вероятности быть принадлежащим к определенному типу текстур. Далее осуществлялась текстуризация изображения случайным образом с вероятностью, пропорциональной частоте текстуры для значения LBP рассматриваемого пикселя. В результате получалась грубая текстурированная фотография. После этого для каждого пикселя определялось число соседей, принадлежащих определенной текстуре, и, в случае преобладания определенного типа, рассматриваемый пиксель присваивался к новой текстуре, в противном случае оставалось без изменений. Последняя процедура повторялась до достижения равновесной текстуризации. Процент заселенности бактериями поверхности определялся по отношению числа пикселей, принадлежащих текстуре «бактерия», к общему числу пикселей.

Описанная процедура применялась на 10 РЭМ-изображениях, полученных для каждого из образцов керамики, причем обучение модели проводилось на одной из фотографий и повторялось заново при переходе к другой керамике.

Результаты исследования

При исследовании выявлена заметная разница в интенсивности формирования и структуре бактериальной биопленки в исследуемых образцах.

На волластонитовой керамике без добавления ГАП (рис. 2а, а*) преимущественно наблюдаются отдельно расположенные бактериальные клетки. Присутствуют отдельные и редко сосредоточенные по поверхности образцов небольшие плотные участки сформированной биопленки. Бактерии (как отдельные, так и в составе биопленки) покрыты плотным слоем внеклеточного полимерного матрикса, защищающего их от воздействия негативных факторов окружающей среды.

На керамике композитного состава CaSiO_3 -ГАП (рис. 2б, б*) слой бактериальной биопленки гораздо более выражен. Он толстый и объемный, содержит большое количество матрикса, хорошо видны F-пили (обозначены на рис. 2б* стрелками). Слой представляется достаточно толстым и объемным за счет структуры матрикса и отпочковывающихся планктонных форм бактерий (рис. 3), что является признаком зрелости биопленки и активности ее распространения, а также косвенным подтверждением повышенной биосовместимости данного образца по сравнению с керамикой, не содержащей ГАП.

На образцах 3, 4 и 5 (на основе оксида циркония) отчетливо видна зрелая сформированная биопленка, однако процесс ее формирования, по всей видимости, зависел от состава исследуемых образцов (рис. 4).

Интенсивность формирования биопленки (процент покрытия поверхности исследуемых керамик), определенная с помощью классификатора на основе

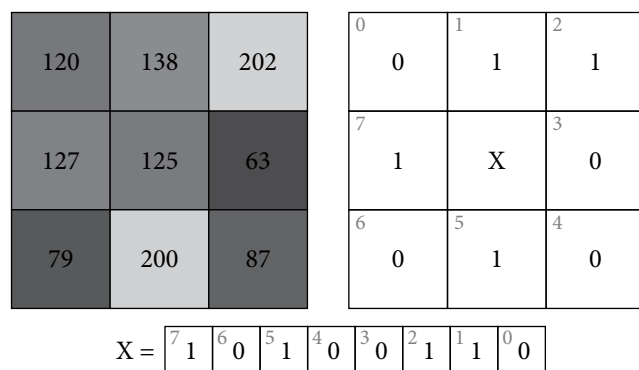


Рис. 1. Схема построения представления пикселя посредством LBP.

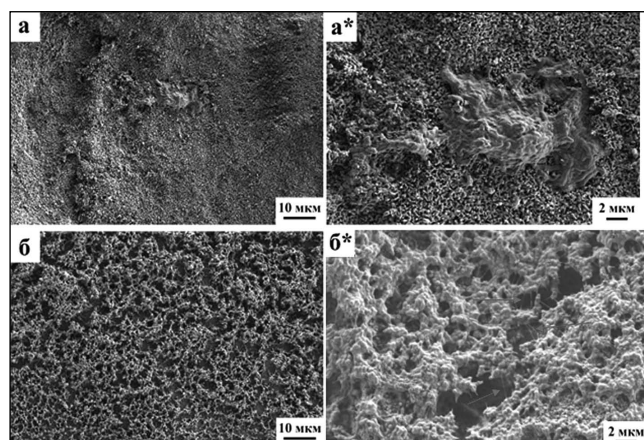


Рис. 2. РЭМ изображения бактериальной пленки на исследуемых керамических образцах волластонита CaSiO_3 : а – увеличение 5×10^3 , а* – увеличение $\times 10^4$ – образец 1 (без ГАП); б – увеличение 5×10^3 , б* – увеличение $\times 10^4$ – образец 2 (с ГАП). Стрелками показаны F-пили.

локального бинарного паттерна, была следующая: керамика ZrO_2 без ГАП – 28,13%, ZrO_2 + 15 масс. % ГАП – 28,33%, ZrO_2 + 50 масс. % ГАП – 88,46%.

В составе биопленок на всех образцах хорошо выражен внеклеточный полимерный матрикс, который покрывает и окружает бактериальные клетки. Он обеспечивает защиту бактерий от воздействия негативных факторов окружающей среды, препятствует проникновению антибиотиков, а в условиях живого организма защищает от факторов иммунной системы.

На образцах без ГАП и с 15 масс. % ГАП биопленка формируется менее интенсивно. Она гораздо более тонкая, бактериальный слой не сплошной, видны «просветы» в матриксе, он представляется более рыхлым (рис. 4 а, б).

На образце с 50 масс. % добавкой ГАП биопленка сформирована наиболее интенсивно, покрывает поверхность образца толстым слоем (рис. 4 в, в*).

Обсуждение полученных данных

Для оценки интенсивности формирования бактериальной биопленки на материалах, используемых в ортопедической хирургии, нами предложено использовать одни из ключевых возбудителей ИСМП – *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Это неферментирующие грамотрицательные бактерии, широко распространенные в окружающей среде, хорошо сохраняющиеся и размножающиеся, в том числе и в госпитальных условиях. Они имеют широкий спектр факторов вирулентности, которые обеспечивают способность к инвазии и персистенции в тканях, цитотоксическому эффекту, стимуляции генерализованной воспалительной реакции и очень быстро формируют биопленки [11]. Помимо локализации на слизистых оболочках и коже пациентов они обладают выраженной адгезивной способностью к имплантируемым устройствам (катетеры, эндотрахеальные трубки, дренажи и др.). Частота ИСМП, вызываемых *P. aeruginosa*, составляет до 30%

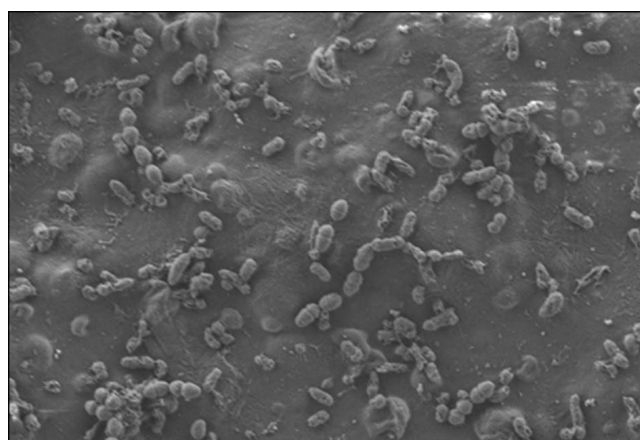


Рис. 3. Биопленка, сформированная на поверхности образца 2 (CaSiO_3 -ГАП), РЭМ, увеличение $\times 10^4$.

[12], а *A. baumannii* – до 10% [13], и она постоянно растет. Это наиболее актуальные возбудители всех ИСМП, кроме ангиогенных [14, 15].

Данное исследование направлено на расширение списка материалов, отвечающих различным задачам современной медицины и максимально удовлетворяющих требованиям конкретного клинического случая. Изучались различные виды искусственных материалов, создаваемых и используемых для применения в ортопедической хирургии в качестве замены натуральной кости.

В результате проведенного исследования отмечено, что наличие ГАП в составе композитной биокерамики повышает интенсивность формирования бактериальных пленок на поверхности образца. Более толстая и активно формирующаяся биопленка косвенно свидетельствует о более высокой биосовместимости таких материалов с тканями пациента. Однако следует учитывать, что при этом также возрастает риск развития инфекционного процесса, что требует дополнительной процедуры противобактериальной обработки или повышении антибактериальных свойств изделий из таких композитных материалов.

С точки зрения оценки риска возникновения инфекционного процесса при применении такого вида материалов для замещения дефектов костной ткани, на данном этапе наиболее оптимальным является керамика на основе диоксида циркония с добавкой 15 масс. % ГАП.

Заключение

Данное исследование процесса формирования и структуры биопленок на синтетических биокерамических материалах, используемых для создания костных имплантатов, которые широко применяются в ортопедической хирургии и стоматологии, показало, что наиболее оптимальным вариантом среди исследуемых образцов является биокерамика с добавлением гидроксиапатита не более 15 масс. %. При увеличении количества гидроксиапатита в составе биокерамики возрастает риск развития инфекционного процесса, что требует дополнительной процедуры антибактериальной обработки или повышения антибактериальных

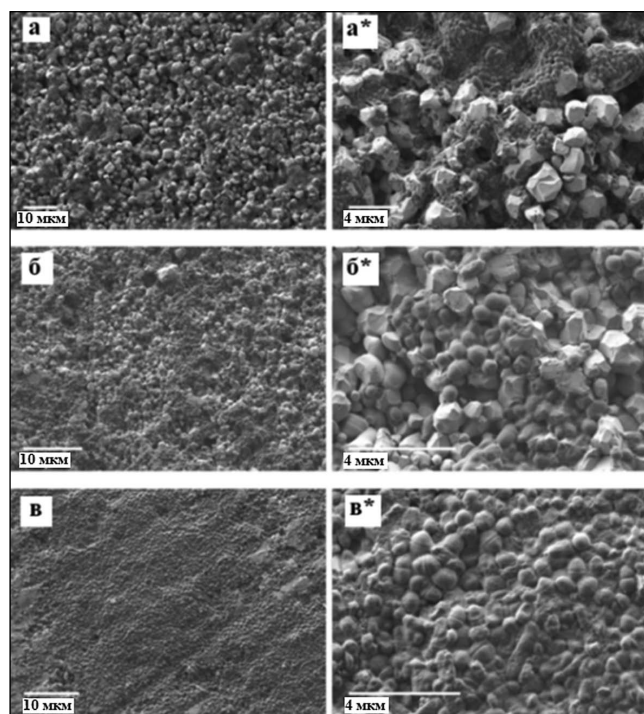


Рис. 4. РЭМ изображения бактериальной пленки на образцах на основе диоксида циркония: а – увеличение 5×10^3 , а* – увеличение $\times 10^4$ – образец 3 (без ГАП); б – увеличение 5×10^3 , б* – увеличение $\times 10^4$ – образец 4 (15 масс.% ГАП); в – увеличение 5×10^3 , в* – увеличение $\times 10^4$ – образец 5 (50 масс.% ГАП).

свойств изделий из таких композитных материалов. Таким образом, изучение процесса формирования и структуры биопленок – важный раздел дальнейшей работы по разработке оптимального состава биокерамики для создания костных имплантатов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: исследование по синтезу биоматериалов выполнено в рамках проекта Российского научного фонда №18-73-10107.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: ЮЕС, ПЕК

Сбор и обработка материала: ЮЕС, ПЕК, ШОО

Написание текста: ЮЕС, ПЕК, ЗЕА

Редактирование: ЗЕА.

Литература / References

- Шаталов А.М., Тепляков В.В. Эндопротезирование длинных костей и суставов у онкологических больных. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2012;1(2):109–13. [Shatalov AM, Teplyakov VV. Endoprosthesis replacement of long bones and joints in cancer patients. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2012;1(2):109–13. (In Russ.)].
- Петухова И.Н., Соколовский А.В., Григорьевская З.В., Багирова Н.С., Терещенко И.В., Варлан Г.В., Агинова В.В., Дмитриева Н.В. Инфекции, связанные с установкой инородных материалов (протезы, сетки, импланты). *Злокачественные опухоли*. 2017;(3s1):57–60. [Petukhova IN, Sokolovsky AV, Grigorievskaya ZV, Bagirova NS, Tereshchenko IV, Varlan GV, Aginova VV, Dmitrieva NV. Infections associated with the installation of foreign materials (prostheses, meshes, implants). *Malignant tumors*. 2017;(3s1):57–60. (In Russ.)]. doi: 10.18027/2224-5057-2017-3s1-57-60
- Monisha SP, Suresh A. A comprehensive review of diagnosis and management of prosthetic joint infections in the absence of positive cultures. *J Infect Public Health*. 2016;9:545–56. doi: 10.1016/j.jiph.2015.12.001
- Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(7):397–409. doi: 10.1038/s41579-018-0019-y
- Afzal A. Implantable zirconia bioceramics for bone repair and replacement: a chronological review. *Mater. Express*. 2014;4:1–12. doi: 10.1166/mex.2014.1148
- Sprio S, Tampieri A, Dapporto M, Iafisco M, Montesi M. Bioceramics in regenerative medicine. *Encycl. Mater. Tech. Ceram. Glas*. 2021;3(3):601–13. doi: 10.1016/B978-0-12-803581-8.12091-0
- Stevens MM. Biomaterials for bone tissue engineering. *Mater. Today*. 2008;11:18–25. doi: 10.1016/S1369-7021(08)70086-5
- Quan R, Tang Y, Huang Z, Xu J, Wei X, Yang D. Effects of HA/ZrO₂ composite powder on mesenchymal stem cells proliferation and osteogenic differentiation. *Ceram. Int*. 2012;38:6621–8. doi: 10.1016/j.ceramint.2012.05.048
- Papynov EK, Apanasevich VI, Plekhova NG, Zinoviev SV, Kotciurbii EA, Shichalin OO, Modin EB, Korshunova OV, Afonin IS, Evdokimov IO. Rabbit's cranial defect regeneration using a fine-grained ZrO₂-(15 Wt%)HAp ceramic implant fabricated by SPS-RS technique. *Ceram. Int*. 2022;48:13817–25. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.01.263
- Papynov EK, Shichalin OO, Apanasevich VI, Afonin IS, Evdokimov IO, Mayorov VY, Portnyagin AS, Agafonova IG, Skurikhina YE, Medkov MA. Synthetic CaSiO₃ sol-gel powder and SPS ceramic derivatives: “in vivo” toxicity assessment. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int*. 2019;29(5):569–75. doi: 10.1016/j.pnsc.2019.07.004
- Сотников А.В., Левашов А.С., Салтанов А.И. Синегнойная инфекция и возможности ее терапии (обзор литературы). *Вестник интенсивной терапии*. 2013;3:29–36. [Sotnikov AV, Levashov AS, Saltanov AI. *Pseudomonas aeruginosa* infection and possibilities of its therapy (literature review). *Annals of Critical Care*. 2013;3:29–36. (In Russ.)].
- Zhang Y, Li Y, Zeng J, Chang Y, Han S, Zhao J. Risk factors for mortality of in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in China: impact of resistance profile in the mortality. *Infect. Drug Resist*. 2020;13:4115–23. doi: 10.2147/IDR.S268744
- Шмакова М.А. Бактерии рода *Acinetobacter* как внутрибольничные патогены: эпидемиологические особенности. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019;4(1):66–72. [Shmakova MA. Bacteria of the *Acinetobacter* genus as nosocomial pathogens: epidemiological features. *Fundamental and clinical medicine*. 2019;4(1):66–72. (In Russ.)]. doi: 10.23946/2500-0764-2019-4-1-66-72
- Van Duijn PJ, Dautzenberg MJD, Oostdijk EAN. Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Curr. Opin. Crit. Care*. 2011;17:658–65. doi: 10.1097/MCC.0b013e32834c9d87
- Фомичева Т. Д., Туркутюков В. Б., Сотниченко С. А., Скурихина Ю.Е. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями при ожоговой травме. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018;3(73):72–4. [Fomicheva TD, Turkutyukov VB, Sotnichenko SA, Skurikhina YE. Microbiological monitoring in the system of epidemiological surveillance of purulent-septic infections in burn injuries. *Pacific Medical Journal*. 2018;3(73):72–4. (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.72-74

УДК 616.62-078-053.2

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58



Ускоренное бактериологическое исследование мочи и диализата при диагностике инфекций мочевыводящих путей у детей

Л.Г. Боронина^{1,2}, Е.В. Саматова², С.С. Устюгова², С.А. Панова², О.Ю. Куцевалова³¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия;² Областная детская клиническая больница, Екатеринбург, Россия;³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: оценить возможность применения ускоренного метода определения этиологии инфекций в моче, диализате и остаточной антимикробной активности на основе технологии лазерного светорассеивания. **Материалы и методы.** Культурально с января по сентябрь 2019 г. обследовано 106 образцов мочи и 42 образца диализата от детей в возрасте от года до 16 лет с различной патологией мочевыводительной системы, а также находящихся на перитонеальном диализе, на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия), использующем технологию лазерного светорассеивания. **Результаты исследования.** Через три часа после посева 81 проба показала отрицательный результат (76,4%), 25 образцов – положительный (23,6%). В 38 (90,5%) пробах диализата микроорганизмы не обнаружены, в двух образцах выделены *Staphylococcus aureus* (10⁴ КОЕ/мл), в одном диализате обнаружены *Corynebacterium* sp., а также ассоциации *Escherichia coli* + *Candida albicans* + *Staphylococcus haemolyticus*, связанные с колонизацией перитонеального катетера. Бактериурия вызвана представителями порядка *Enterobacterales* в 39,3% (*E. coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), неферментирующими грамотрицательными бактериями – в 14,3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21,4%, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* – 10,7%, *Candida albicans* – 3,6%, контаминация: *Streptococcus viridians*, *Corynebacterium* sp. – 7,1%. Остаточная антимикробная активность в моче выявлена у 30,1% пациентов. **Заключение.** Технология лазерного светорассеивания позволяет ускоренно выявлять минимальную концентрацию микроорганизмов в меньшем количестве мочи или диализата, что очень важно для ускоренной диагностики инфекций мочевыводящих путей и осложнений при перитонеальном диализе у детей.

Ключевые слова: бактериурия, диализат, инфекции мочевыводящих путей, диализ, дети

Поступила в редакцию: 24.11.22. Получена после доработки: 29.11.22. Принята к печати: 24.01.23

Для цитирования: Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Устюгова С.С., Панова С.А., Куцевалова О.Ю. Ускоренное бактериологическое исследование мочи и диализата при диагностике инфекций мочевыводящих путей у детей. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:55–58. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58

Для корреспонденции: Боронина Любовь Григорьевна – д-р мед. наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии Уральского государственного медицинского университета (620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32); ORCID: 0000-0003-0152-962X; тел. +7 (343) 231-95-01; e-mail: boroninalg@mail.ru

Accelerated bacteriological examination of urine and dialysate in the diagnosis of urinary tract infections in children

L.G. Boronina^{1,2}, E.V. Samatova², S.S. Ustyugova², S.A. Panova², O.Y. Kutsevalova³¹ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; ² Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg, Russia;³ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Aim. To evaluate the feasibility of an accelerated method for determining the etiology of infections in urine, dialysate and residual antimicrobial activity by using laser light scattering technology. **Materials and methods.** From January to September 2019, 106 urine samples and 42 dialysate samples from children aged 1–16 with various urinary pathologies and those on peritoneal dialysis underwent culture-based examination on an ALIFAX HB&L LIGHT analyzer (Alifax, Italy) using laser light scattering technology. **Results.** Three hours after inoculation, 81 samples (76.4%) appeared to be negative and 25 samples (23.6%) proved to be positive. No microorganisms were detected in 38 dialysate samples (90.5%), two samples had *Staphylococcus aureus* (10⁴ CFU/ml), and one dialysate sample had *Corynebacterium* sp. and associations of *Escherichia coli* + *Candida albicans* + *Staphylococcus haemolyticus*, associated with peritoneal catheter colonization. Bacteriuria was caused by *Enterobacterales* in 39.3% (*E. coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), non-fermenting gram-negative bacteria – in 14.3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21.4%, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* – 10.7%, *Candida albicans* – 3.6%, contamination: *Streptococcus viridians*, *Corynebacterium* sp. – 7.1%. Residual antimicrobial activity in urine was detected in 30.1% of patients. **Conclusion.** The laser light scattering technology enables a minimal concentration of microorganisms to be detected in a smaller amount of urine or dialysate, which is very important for accelerated diagnosis of urinary tract infections and complications of peritoneal dialysis in children.

Keywords: bacteriuria, dialysate, urinary tract infections, dialysis, children

Received 24 November 2022. Revised 29 November 2022. Accepted 24 January 2023

For citation: Boronina L.G., Samatova E.V., Ustyugova S.S., Panova S.A., Kutsevalova O.Y. Accelerated bacteriological examination of urine and dialysate in the diagnosis of urinary tract infections in children. Pacific Medical Journal. 2023;1:55–58. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58

Corresponding author: Lyubov G. Boronina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Dept. of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology of Ural State Medical University (32 Seraphimy Deryabinov str., Ekaterinburg, 620149, Russia); ORCID: 0000-0003-0152-962X; phone: +7 (343) 231-95-01; e-mail: boroninalg@mail.ru

Проблема инфекций мочевыводящих путей (ИМП) становится актуальной уже с первых дней жизни ребенка. Среди доношенных новорожденных частота ИМП достигает 1%, недоношенных – 4–25% [1–4]. В соответствии с действующими методами культурального исследования мочи отрицательные результаты бактериологического исследования могут быть получены не ранее чем через сутки, а при выявлении микроорганизмов – минимум через 48 часов, что замедляет диагностику инфекции, не способствует своевременному и рациональному назначению лечения.

В настоящее время для исследования бактериурии эффективно используют ускоренные методы диагностики [2, 4, 5, 6]. Культуральное исследование по методике лазерного светорассеивания для диагностики бактериурии применяется уже несколько лет [4, 5], а опубликованных результатов исследования диализата данным методом в доступной литературе нами не обнаружено. Ускорение культурального исследования мочи и диализата (до 3 часов) существенно улучшает диагностику инфекций мочевыделительной системы и назначение этиотропной антибиотикотерапии, особенно при получении материала во время оперативных вмешательств и на амбулаторном приеме.

Цель работы – оценить возможность применения ускоренного метода определения этиологии инфекций в моче, диализате и остаточной антимикробной активности на основе технологии лазерного светорассеивания.

Материалы и методы

Материалы, использованные в данном исследовании, не содержат персональных данных, в описании клинических изолятов отсутствуют фамилии и имена пациентов, их адреса и номера истории болезней. В соответствии с требованиями Этического комитета Министерства здравоохранения Российской Федерации законные представители пациентов подписывали информированное согласие при поступлении в лечебное учреждение на проведение лабораторных исследований.

С января по сентябрь 2019 г. исследовано 106 проб мочи и 42 диализата от 115 детей, собранных общепринятым способом (средняя порция мочи), при использовании катетера и во время операции у детей в возрасте от года до 16 лет из урологического и нефрологического отделений Областной детской клинической больницы с диагнозами: гидронефроз, уретерогидронефроз, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, хронический цистит, острый пиелонефрит, ИМП, киста почки, нейрогенный мочевого пузыря. Образцы мочи, так же как и остаточную антимикробную активность (ОАА), исследовали с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия).

Посев диализата от пациентов с хронической почечной недостаточностью, находящихся на перитонеаль-

ном диализе, производился общепринятым культуральным методом: на кровяно-сывороточный агар (аэробные и анаэробные условия), тиогликолевую среду, среду для контроля стерильности, микроскопия окрашенного мазка, а также исследовалась с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, позволяющей обнаружить делящиеся микроорганизмы. Образцы мочи, которые демонстрировали индикацию роста в ходе исследования на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT, высевали на кровяной агар по методу Айзенберга [2, 7].

Идентификацию микроорганизмов в положительных образцах осуществляли как ручными бактериологическими методиками, так и с использованием тест-систем для автоматического бактериологического анализатора MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматических анализаторов: ATB Expression (bioMérieux, Франция) и SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США).

Результаты исследования

Через три часа после начала исследования с применением технологии лазерного светорассеивания получен отрицательный результат для 81 пробы мочи (76,4%), а положительный – для 25 образцов (23,6%).

Анализатор ALIFAX HB&L LIGHT основан на методе лазерного светорассеивания, позволяющего отслеживать процесс роста бактерий от момента внесения пробы в специальную жидкую питательную среду с одновременным отображением кинетических кривых роста и исходной обсемененности пробы в КОЕ/мл. На мониторе анализатора уже через 1,0–1,5 часа обнаруживается кинетическая кривая роста бактерий, характер которой указывает на рост этиологически значимых микроорганизмов и возможных контаминантов в образце. Вследствие особенностей методики бактериальный рост, обнаруживаемый прибором, обусловлен исключительно живыми делящимися бактериями [4, 5, 6].

У пациентов с инфекциями почек и мочевых путей, получающих антибактериальную терапию, при недостаточном оттоке мочи, ее низком удельном весе и pH ниже 5 может наблюдаться низкая степень бактериурии [3, 4]. Поэтому на анализаторе предварительно устанавливаются следующие пороговые значения: 10^3 КОЕ/мл – при ИМП у детей с аномалиями мочевыводящих путей, 10^4 КОЕ/мл – при ИМП у детей без признаков аномалий мочевыводящих путей.

Результаты исследования бактериурии, полученных на анализаторе, и их идентификация представлены в таблице 1.

Для обеспечения большей клинической достоверности и исключения ложноотрицательных результатов параллельно все пробы мочи исследовались на определение ОАА. Для этого использовался отдельный флакон с жидкой питательной средой, который засеивался

штаммом *Staphylococcus epidermidis*, чувствительным к антимикробным препаратам (лиофилизированный штамм *S. epidermidis* поставляется производителем анализатора). После инкубации в анализаторе при 37 градусах через 4 часа по кинетической кривой роста модно на дисплее увидеть результат. Есть рост *S. epidermidis* – проба мочи не содержит антимикробные препараты. Нет роста *S. epidermidis* – проба мочи содержит антимикробные препараты (табл. 2).

Кроме того, исследование ОАА позволяет достоверно и быстро определить, в достаточной ли концентрации назначенный антибиотик попадает в очаг инфекции, и тем самым выяснить адекватность применяемой терапии. Остаточная антимикробная активность в моче выявлена в 30,1% проб.

Микробиологическое исследование диализата у пациентов, находящихся на перитонеальном диализе, проводится с целью контроля стерильности, сбор диализата осуществляется в условиях операционной.

В 42 пробах диализата, исследованных с помощью культурального метода и технологии лазерного светорассеивания, выявлена полная корреляция. При этом в 38 пробах (90,5%) рост микроорганизмов не обнаружен, а в 4 пробах (9,5%) – положительный результат (табл. 1).

При исследовании диализатов в двух случаях имело место выявление диагностически значимого гноеродного кокка – *S. aureus* в количестве 10^4 КОЕ/мл и более. В раневом отделяемом из места выхода перитонеального катетера обнаружен умеренный рост *S. aureus*. В одном из диализатов выделен *Corynebacterium* sp. – нормальный представитель микробиоты кожи, видимо, имела место контаминация образца при его сборе. У последнего пациента из диализата обнаружена ассоциация микроорганизмов: *E. coli*, *Candida* sp., *S. haemolyticus* и был диагностирован диализный перитонит.

Обсуждение полученных данных

В пробах мочи выделены представители порядка *Enterobacterales* – в 39,3% проб (*Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), неферментирующие грамотрицательные бактерии – в 14,3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21,4%, коагулазоотрицательные

Таблица 1
Результаты культурального исследования образцов мочи и диализатов

Количество проб, название	Результаты ALIFAX HB&L LIGHT (КОЕ/мл)	Обнаруженные микроорганизмы
n = 106, моча	Рост обнаружен n = 25	
	700000	<i>E. coli</i> ;
	50000000	<i>M. morganii</i>
	400000	<i>C. amolonaticus</i>
	700000	<i>E. cloacae</i>
	70000	<i>P. aeruginosa</i>
	5000000	<i>R. pickettii</i>
	2000	<i>Oligella</i> sp.
	700000	<i>Enterococcus</i> sp.
	5000	<i>S. epidermidis</i>
	4000	<i>S. haemolyticus</i>
	20000000	<i>E. coli</i>
	40000	<i>E. coli</i>
	70000	<i>Enterococcus faecalis</i>
	5000	<i>E. faecalis</i>
	40000	<i>E. cloacae</i>
	70000	<i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i>
	5000	<i>C. albicans</i>
	5000	<i>A. baumannii</i> + <i>S. epidermidis</i>
	≤ 1000*	<i>Lactobacillus</i> sp.
	7000	<i>E. coli</i>
	500000	<i>E. coli</i> + <i>E. faecalis</i>
	40000	<i>P. aeruginosa</i>
	≤ 1000*	<i>Streptococcus viridians</i>
	≤ 1000*	<i>A. baumannii</i>
	5000	<i>A. baumannii</i> + <i>A. lwoffii</i>
n = 42, диализат	Обнаружен рост n = 4	<i>S. aureus</i>
	70000	<i>S. aureus</i>
	20000000	<i>Corynebacterium</i> sp.
	5000	<i>E. coli</i> + <i>C. albicans</i> + <i>S. haemolyticus</i>
	700000	

Примечание: * – на анализаторе установлены пороговые значения 10^3 КОЕ/мл.

стафилококки – 10,7% (*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*), *Streptococcus viridians* – 7,1%, *Candida albicans* – 3,6%. Выделение микробных ассоциаций требует дополнительного обсуждения (3,6%). При незначительной степени бактериурии и наличии в образце представителей нормобиоты кожи, свидетельствующей о контаминации, необходимо повторить

Таблица 2

Оценка результатов тестов определения антимикробной активности в образце на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT

ОАА тест с штаммом <i>S. epidermidis</i>	Посев образца на флакон	Результат	Интерпретация
ОАА отрицательный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i>)	Роста микроорганизмов нет	Бактериурии нет	Ингибиторов роста в образце нет
ОАА положительный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i> нет)	Роста микроорганизмов нет	Бактериурии нет	Ингибиторы в образце есть, для контроля лечения необходимо повторить через 48 часов
ОАА положительный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i> нет)	Рост микроорганизмов обнаружен	Бактериурия	В образце есть ингибиторы, антимикробная терапия неэффективна
ОАА отрицательный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i>)	Рост микроорганизмов обнаружен	Бактериурия	Ингибиторов роста в образце нет

исследование с соблюдением правил преаналитического этапа. Если обнаруживаются клинически значимые возбудители в диагностическом титре и контаминанты, исследование также надо повторить, но исследовать антибиотикорезистентность уропатогена.

У некоторых пациентов с хроническими инфекциями мочевыделительной системы ОАА связана с ранним микробиологическим исследованием и отменой антибиотиков за день до исследования, что является нарушением преаналитического этапа, а полученные отрицательные результаты явились, по существу, ложноотрицательными.

При повторных исследованиях через три дня у большей части проб бактериурия не выявлена, а на фоне отсутствия ОАА выделены бактерии в диагностическом титре. Это явление может указывать на неэффективный результат лечения, тогда как при первом исследовании отрицательный результат посева без контроля ОАА мог быть оценен неверно.

При сравнении кривых роста и выявлении видимых отличий кинетических показателей на мониторе анализатора можно видеть данные, свидетельствующие о контаминации пробы. Так как контаминирующие микроорганизмы растут в малых количествах ≤ 1000 КОЕ/мл. Посев из флакона подтвердился обнаружением микроорганизмов – контаминантов с кожи и слизистых оболочек: *S. viridians*, *Lactobacillus* sp.

Фактически в течение четырех часов доказана контаминация пробы при отрицательном результате теста ОАА, свидетельствующем об отсутствии ингибиторов, сделано заключение об отсутствии бактериурии, ингибиторов и контаминация пробы.

Результаты параллельного исследования диализата традиционным методом посева на стерильность полностью совпали с результатами посева по технологии лазерного светорассеивания. Отличие в главном: уже через четыре часа на анализаторе обнаруживаем отсутствие роста, значит диализат стерилен. Культуральное исследование стерильности диализата на средах не позволяет визуально отследить рост, и только через 18–24 часа возможно сделать заключение о стерильности образца. Кроме этого, для анализатора требуется минимальное количество (500 мкл) при посеве.

Особо ценно, на наш взгляд, при исследовании диализатов обнаружение бактериального роста уже в первые 2 часа: на мониторе уже видна кривая роста, через 4 часа культивирования проводился посев и дальнейшая идентификация. Для исследования стерильности диализата быстрое получение информации является наиболее важным, так как заключение при традиционном исследовании на среде для контроля стерильности возможно получить более чем через сутки в соответствии с условиями исследования стерильности.

Заключение

Через три часа после посева 81 проба показала отрицательный результат (76,4%), 25 образцов – положительный (23,6%). Бактериурия вызвана представителями

порядка *Enterobacterales* в 39,3% (*E. coli*, *M. morganii*, *C. amalonaticus*, *E. cloacae*), неферментирующими грамотрицательными бактериями – в 14,3% (*P. aeruginosa*, *R. pickettii*, *Oligella* sp.), *Enterococcus* sp. – 21,4, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* – 10,7%, *C. albicans* – 3,6%, контаминация: *S. viridians*, *Lactobacillus* sp. – 7,1%, Остаточная антимикробная активность в моче выявлена у 30,1% больных. В 38 (90,5%) пробах диализата микроорганизмы не обнаружены, в двух образцах выделен *S. aureus* в 10^4 КОЕ/мл, в одном диализате обнаружены *Corynebacterium* sp.; в другом – ассоциации *E. coli* + *Candida albicans* + *S. haemolyticus*. В 2/3 случаев данные об отсутствии бактериурии получены уже через 3–4 часа от момента посева, так же как и наличие или отсутствие остаточной антимикробной активности. Технология лазерного светорассеивания позволяет ускоренно выявлять минимальную концентрацию микроорганизмов в меньшем количестве мочи или диализата, что важно для ускоренной диагностики инфекций мочевыводящих путей и осложнений перитонеального диализа у детей.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БЛГ, СЕВ, КОЮ

Сбор и обработка материала – СЕВ, УСС, ПСА

Написание текста – СЕВ, КОЮ

Редактирование – БЛГ

Литература / References

1. Коровина Н.А., Захарова И.Н., Мумладзе Э.Б., Горьянова А.Н. Инфекция мочевой системы у детей: современные подходы к диагностике и лечению. *Русский медицинский журнал*. 2007;(2):1533–42. [Korovina NA, Zaharova IN, Mumladze EB, Goryajnova AN. Urinary tract infection in children: modern approaches to diagnosis and treatment. *Russkij Medicinskij Zhurnal*. 2007;(2):1533–42 (In Russ.)].
2. Бактериологический анализ мочи. Методические рекомендации. М.: Федерация лабораторной медицины, 2013. [*Bacteriological analysis of urine*. Guidelines. Moscow: Federation of Laboratory Medicine; 2013 (In Russ.)].
3. Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008). URL: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17> (дата обращения: 05.05.2020). [*Recommendations for the management of patients with kidney, urinary tract and male genital infections*. (European Association of Urology, 2008) (In Russ.)]. URL: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17> (Accessed 05.05.2020).
4. Гилызова Д.Г. Ускорение бактериологического анализа с помощью технологии Alifax: результат за часы. *Справочник заведующего КДЛ*. 2014;(3):69–73. [Gilyazova DG. Acceleration of bacteriological analysis with Alifax technology: result in hours. *Spravochnik Zaveduyushchego KLD*. 2014;(3):69–73 (In Russ.)].
5. Ilki A, Bekdemir P, Ulger N, Soyletir G. Rapid reporting of urine culture results: impact of the uro-quick screening system. *New microbiologica*. 2010;33(2):147–53.
6. Ballabio C, Venturi N, Sala MR, Mocarelli P, Brambilla P. Evaluation of an automated method for urine culture screening. *Microbiologia Medica*. 2010;25(3):178–80.
7. Isenberg HD. Essential procedures for clinical microbiology. Washington, D.C.: ASM PRESS; 1998.

УДК 578.81:579.84

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-59-63



Антибактериальное и антибиопленочное действия бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией

Е.М. Гордина, С.А. Божкова, Л.Н. Смирнова

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

Цель: оценить чувствительность *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к препарату поливалентного бактериофага и его влияние на биопленкообразование и сформированную биопленку штаммов, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. **Материалы и методы.** Протестировано 50 клинических изолятов *K. pneumoniae* и 50 – *P. aeruginosa*. Идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS, антибиотикочувствительность оценивали в соответствии с EUCAST v.21. Детекцию генов карбапенемаз осуществляли методом ПЦР в реальном времени. Чувствительность клинических штаммов к поливалентному пиобактериофагу определяли методом спот-теста, а *K. pneumoniae* ATCC 33495 и *P. aeruginosa* – ATCC 27853 при оценке кинетических кривых роста. Биопленки чувствительных к бактериофагам штаммов формировали по методу O'Toole путем совместной инкубации бактерий с фагами. Влияние бактериофагов на 24-часовые биопленки оценивали сравнением оптической плотности экстрактов красителя обработанных бактериофагом лунок и контрольных при 570 нм. **Результаты.** 7 (14%) клинических штаммов *K. pneumoniae* и 15 (30%) *P. aeruginosa* были устойчивы к карбапенемам. 6 изолятов *K. pneumoniae* продуцировали NDM-карбапенемазы, 4 изолята *P. aeruginosa* – VIM-карбапенемазы. Коммерческий препарат бактериофага был активен в отношении 36% и 56% штаммов *K.pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно, включая 1 из 6 и 4 из 15 карбапенем-устойчивых изолятов. Большинство изученных штаммов снижали продукцию биопленок при совместной инкубации с фагом, однако снижение биомассы более 80% выявлено только для *P. aeruginosa*. Воздействие бактериофага на уже сформированные биопленки было менее выраженным, несмотря на снижение биомассы биопленок у 78% и 68% штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований, посвященных изучению активности бактериофагов в отношении возбудителей ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции, и разработки методов фаготерапии для лечения профильных пациентов.

Ключевые слова: бактериофаг, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, имплантат-ассоциированная инфекция, карбапенемазы

Поступила в редакцию: 02.12.22. Получена после доработки: 09.12.22. Принята к печати: 11.12.22

Для цитирования: Гордина Е.М., Божкова С.А., Смирнова Л.Н. Антибактериальное и антибиопленочное действия бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:59–63. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-59-63

Для корреспонденции: Гордина Екатерина Михайловна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена (195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, 8); ORCID: 0000-0003-2326-7413; e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Anti-bacterial and anti-biofilm activity of bacteriophages against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from orthopedic patients

E.M. Gordina, S.A. Bozhkova, L.N. Smirnova

Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russia

Objective. To investigate the susceptibility of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* to a polyvalent bacteriophage preparation and its effect on biofilm formation and the strain biofilms isolated from orthopedic patients. **Materials and methods.** The research sample included 50 clinical isolates of *K. pneumoniae* and 50 clinical isolates of *P. aeruginosa*. Identification was performed by MALDI-TOF-MS; antibiotic susceptibility was assessed in accordance with EUCAST v 21. Detection of carbapenemase genes was carried out by real-time PCR. The strain susceptibility to the bacteriophage was determined by a spot test; *K. pneumoniae* ATCC 33495 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 were determined by assessing their growth curves. Biofilms of strains sensitive to bacteriophages were formed according to the O'Toole method by co-incubation of bacteria with phages. The effect of bacteriophages on 24-hour biofilms was assessed by comparing the optical density of dye extracts of bacteriophage-treated wells and control wells at 570 nm. The data were analyzed using the Statistica environment. **Results.** It was found that 7 (14%) of *K. pneumoniae* and 15 (30%) of *P. aeruginosa* were resistant to carbapenems. Six strains of *K. pneumoniae* produced NDM-cabapenemase, while four isolates of *P. aeruginosa* produced VIM-carbapenemases. The bacteriophage preparation under study was active against 36% and 56% of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* strains, respectively. The majority of the studied strains reduced biofilm production upon co-incubation with a phage; however, a decrease in biomass of greater than 80% was observed only for *P. aeruginosa*. The effect of the bacteriophage on the already formed biofilms was less pronounced, despite a decrease in the biofilm biomass in 78% and 68% of *K.pneumoniae* and *P. aeruginosa* strains, respectively.

Conclusion. The results obtained confirm the need for further research into the action of bacteriophages against pathogens caused by implant-associated infections and the development of bacteriophage therapy for orthopedic patients.

Keywords: bacteriophage, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, implant-associated infection, carbapenemases

Received 2 December 2022; Revised 12 December 2022; Accepted 11 December 2022

For citation: Gordina E.M., Bozhkova S.A., Smirnova L.N. Anti-bacterial and anti-biofilm activity of bacteriophages against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from orthopedic patients. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:59–63. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-59-63

For corresponding: Ekaterina M. Gordina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Division of Wound Infection Treatment and Prevention of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics (8, Akademika Baykova str., St. Petersburg, 195427, Russia); ORCID: 0000-0003-2326-7413; e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Антибиотикорезистентность является значительной и широко обсуждаемой проблемой системы здравоохранения [1, 2]. В 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн случаев смерти, связанных с бактериальной устойчивостью, в том числе 1,27 млн летальных исходов, напрямую вызванных антибиотикорезистентными штаммами [3].

Во второй половине XX века фаготерапию ограниченно применяли только в СССР и Польше, а вопрос о регистрации препаратов с варибельным составом бактериофагов перед регуляторами фармацевтического рынка не возникал [4]. Отсутствие общепринятых подходов является существенной преградой для выхода фагов на мировой фармацевтический рынок. Бактериофаги по-прежнему не имеют одобрения на фармакологическом рынке западной медицины в качестве зарегистрированного лекарственного средства, но все чаще используются в качестве персонализированной терапии для лечения инфекций, вызванных устойчивыми к антибиотикам бактериями [1, 2].

Инфекции костей и суставов после травм и ортопедических операций являются особой формой глубокой локализованной инфекции, которая с учетом высокой частоты хронизации и слабого ответа на антибиотики, представляет потенциальную мишень для бактериофагов. В 10–20% случаев причиной таких инфекционных осложнений являются грамотрицательные патогены [5]. Наличие у бактерий различных механизмов резистентности к антибиотикам, а также формирование микробных биопленок на поверхности имплантированных ортопедических конструкций и на окружающих тканях могут приводить к неэффективности проводимой антибактериальной терапии.

Хотя ведущими возбудителями инфекции, ассоциированных с ортопедическими имплантатами, являются стафилококки, участие в этиологии грамотрицательных возбудителей, включая *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, служит прогностически неблагоприятным признаком [5]. Это связано с высоким уровнем устойчивости к антибиотикам *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* [5]. При этом наличие резистентности к бета-лактамам и фторхинолонам делает невозможным назначение пролонгированной этиотропной антибактериальной терапии, которая является стандартной для лечения инфекции костей и суставов ввиду отсутствия других пероральных препаратов, активных в отношении грамотрицательных патогенов.

Бактериофаги, воздействуя на sessile бактерии, способны разрушать и/или предотвращать образование биопленки путем проникновения в ее структуру по водным каналам. Установлено, что большинство фагов продуцируют деполимеразы, способные гидролизовать компоненты матрикса бактериальных биопленок [1, 6, 7].

Цель исследования – оценить чувствительность *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к препарату поливалентного бактериофага (ПБФ) и его влияние на биопленкообразование и сформированную биопленку изолятов, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией.

Материалы и методы

Исследование носило проспективный характер, в него включали клинические штаммы, выделенные подряд из биоматериала пациентов с перипротезной инфекцией и/или остеомиелитом в 2021 г. Всего протестировано 100 клинических изолятов: *K. pneumoniae* – 50, *P. aeruginosa* – 50. Выделение культур проводили в соответствии со стандартными ручными методиками, принятыми в лаборатории. Материалом для исследования служили тканевые биоптаты, раневое отделяемое, синовиальная жидкость и удаленные металлоконструкции, полученные от пациентов, находящихся на стационарном лечении. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF-MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1 (Bruker Daltonics, Германия), Score $\geq 2,0$. Чувствительность изолятов к антибактериальным препаратам изучали в соответствии с требованиями EUCAST v.21.

Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора «ДНК-Сорб-АМ», согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию генов приобретенных карбапенемаз групп KPC/OXA-48 и металло-бета-лактамаз осуществляли методом Real-time PCR (ПЦР-РВ) с использованием наборов реагентов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR MBL-FL» («Интерлабсервис», Россия) на приборе «Амплификатор Real-time CFX96 Touch» (BioRAD, США).

Наличие чувствительности к препарату «Секстафаг» пиобактериофаг поливалентный («Микроген», Россия) определяли на мясо-пептонном агаре (МПА).

Бактериальную взвесь (0,5 по McF) ватным тампоном наносили на МПА и через 10 минут на поверхность агара дозатором наносили 10 мкл ПБФ в дубликатах. Чашки инкубировали при 37 °C 18 часов (рис. 1).

Антибактериальное действие ПБФ в отношении эталонных штаммов *K. pneumoniae* ATCC 33495 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 оценивали путем построения кинетических кривых роста. В 4 лунки 96-луночного планшета вносили 125 мкл бульона Мюллера–Хинтона (МХБ), 125 мкл ПБФ и 20 мкл бактериальной взвеси (1×10^5 КОЕ/мл). В контрольные лунки вносили только 250 мкл МХБ и взвесь бактерий (20 мкл). Планшеты инкубировали при 37 °C 18 часов в спектрофотометре Spectrostar Nano (BMG, Германия). Исследование включало 20 циклов по 3600 секунд, OD₆₀₀. Анализ полученных кривых проводили в программе Spectrostar Nano Mars.

Биопленки чувствительных к бактериофагам штаммов формировали по методу O'Toole. В 4 лунки плоскодонного планшета вносили по 125 мкл питательной среды LB, 125 мкл ПБФ и 20 мкл бактериальной взвеси (1×10^8 КОЕ/мл). В контрольные лунки вносили только питательную среду и взвесь бактерий. Планшеты инкубировали 24 часа при 37 °C, затем промывали, высушивали и окрашивали 0,1% раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией. Биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов красителя при 570 нм. Степень биопленкообразования оценивали в соответствии с критериями Stepanovic, 2014. Процентное ингибирование биопленкообразования рассчитывали, используя методику Kumari, 2020.

Биопленки формировали по методу O'Toole. Планшеты инкубировали 24 часа при 37 °C, затем промывали, высушивали и опытные лунки обрабатывали 200 мкл ПБФ (контрольные – LB-бульон). Через 24 часа лунки промывали, высушивали и окрашивали 0,1% раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией (96% этанол). Биомассу пленок оценивали по оптической плотности полученных экстрактов при 570 нм (Spectrostar Nano).

Полученные данные анализировали с использованием программы Statistica (v.13). Оценку нормальности распределения значений выполняли тестом Шапиро – Уилка (*W*-тест), а сравнение количественных показателей – при помощи *t*-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Типовые штаммы *K. pneumoniae* ATCC 33495 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 характеризовались чувствительностью к бактериофагам (рис. 2), о чем свидетельствует статистически значимое снижение оптической плотности МХБ со взвесью бактерий при совместной инкубации с бактериофагами ($p < 0,001$).

Среди изученных 50 клинических культур *K. pneumoniae* 7 штаммов (14%) характеризовались устойчивостью к карбапенемам. Для 6 карбапенем-резистентных *K. pneumoniae* регистрировали наличие гена металло-бета-лактамаз группы NDM (*bla*_{NDM}), при этом один изолят продуцировал и сериновые карбапенемазы OXA-48 (*bla*_{OXA-48}). Из 50 изолятов *P. aeruginosa* – 15 (30%) демонстрировали резистентность к карбапенемам, из них 4 были продуцентами VIM-карбапенемаз (*bla*_{VIM}).

Доля чувствительных к бактериофагам штаммов *K. pneumoniae* составила 36% (18 из 50), в том числе 1 карбапенем-резистентный изолят – продуцент NDM-карбапенемазы. Штаммы *P. aeruginosa* были чувствительны к фагам в 56% случаев (28 из 50) (рис. 2), включая 3 из 15 карбапенем-резистентных штамма, при этом для данных культур не выявлено наличие генов VIM-карбапенемаз.

Сравнительный анализ активности фагов в отношении штаммов *P. aeruginosa* с различным профилем антибиотикочувствительности показал, что среди 35 чувствительных к карбапенемам изолятов 69% были чувствительны и к бактериофагам. В тоже время фаги были эффективны лишь в отношении 20% карбапенем-устойчивых культур.

Все фагочувствительные изоляты *K. pneumoniae* ($n = 18$) и *P. aeruginosa* ($n = 28$) характеризовались биопленкообразующей способностью различной степени (рис. 3).

Подавляющее большинство штаммов *K. pneumoniae* обладали слабой способностью формировать биопленки – 83%. Все культуры *P. aeruginosa* демонстрировали умеренную степень биопленкообразования.

ПБФ ингибировал формирование биопленок у 83 и 96% изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно (рис. 4). При этом снижение биомассы биопленок более чем на 80% было зарегистрировано для 11% культур *K. pneumoniae* и 61% – *P. aeruginosa*. Следует отметить, что для карбапенем-резистентного штамма *K. pneumoniae* не выявлено ингибирование биопленкообразования в присутствии бактериофага. Совместная инкубация фагов и устойчивых к карбапенемам *P. aeruginosa* приводила к замедлению формирования биопленки на 84%.

ПБФ снижал биомассу сформированной суточной биопленки у 78% изученных изолятов *K. pneumoniae*



Рис. 1. Результаты определения чувствительности *P. aeruginosa* к препарату поливалентного бактериофага (ПБФ). Наличие зоны подавления роста культуры на МПА в месте нанесения капли у чувствительных к фагу штаммов.

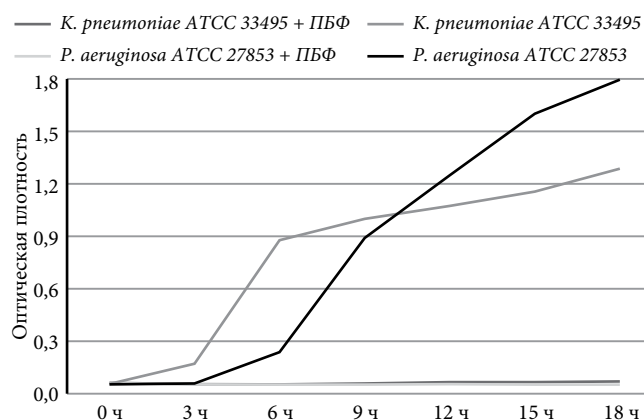


Рис. 2. Динамика роста биомассы типовых штаммов в течение 18 часов в присутствии ПБФ и в питательной среде без препарата (единицы оптической плотности).

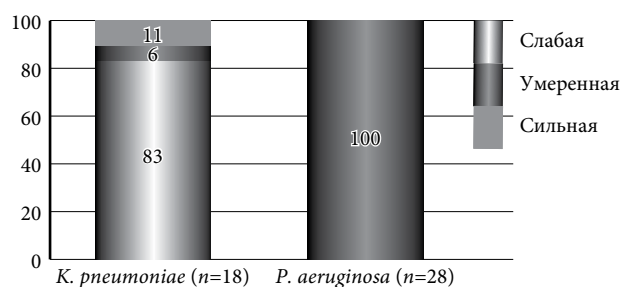


Рис. 3. Распределение штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* по степени биопленкообразующей способности.

и 68% – *P. aeruginosa*, однако деструкция пленки более чем на 80% была выявлена лишь у 4 и 6% штаммов соответственно (рис. 5). При этом для карбапенем-резистентных *P. aeruginosa* снижение биомассы сформированных пленок относительно контроля составило в среднем 30%, а для NDM-продуцирующего изолята *K. pneumoniae* – 40%.

Обсуждение полученных данных

Антибактериальный эффект препаратов бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки [6]. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и повреждают другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенов в очаге воспаления [6, 7]. Д.В. Тапальский и соавт. [8, 9] показали, что чувствительными к препарату «Секстафаг» были 24,1% клинических изолятов *P. aeruginosa* и 24,8% штаммов *K. pneumoniae*. Авторы установили, что уровень литической активности препаратов бактериофагов в 1,3–2,6 раза ниже в отношении экстремально резистентных к антибиотикам изолятов *P. aeruginosa* в сравнении с чувствительными. В нашем исследовании чувствительностью к ПБФ характеризовались 36% штаммов *K. pneumoniae* и 56% *P. aeruginosa*. В отношении карбапенем-устойчивых штаммов *K. pneumoniae*

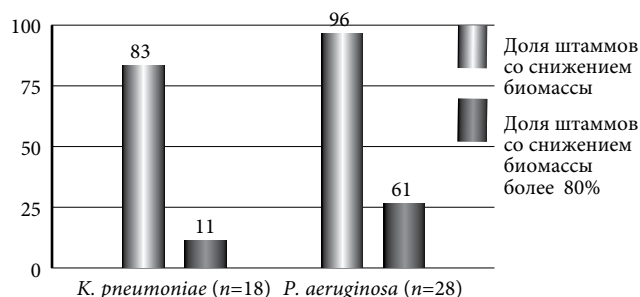


Рис. 4. Активность ПБФ в отношении ингибирования биопленкообразования *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

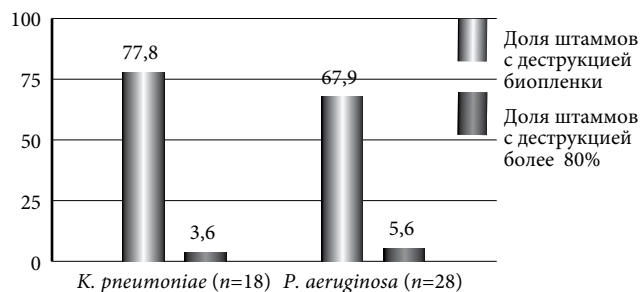


Рис. 5. Доля штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* со снижением биомассы суточных биопленок после обработки ПБФ в течение 24 часов.

и *P. aeruginosa* активность бактериофагов составила 14 и 20% соответственно.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой на различных этапах биопленкообразования включает предотвращение бактериальной адгезии и колонизации, замедление роста и созревания биопленки. Этот эффект дополняет антибактериальное действие в отношении патогенов, приводящее к увеличению числа фагов внутри биопленки [10]. Бактериофаги способны проникать в биопленки, образованные штаммами с различной степенью восприимчивости к вирусам и способностью к биопленкообразованию [11]. Причем в более 50% случаев фаги эффективно препятствуют формированию биопленки *P. aeruginosa* [12]. В соответствии с нашими результатами большинство фагочувствительных культур *P. aeruginosa* замедляли биопленкообразование в присутствии ПБФ. Для 61% изолятов это снижение составило более 80% по сравнению с контролем. При этом меньший эффект был зарегистрирован в отношении формирования биопленок *K. pneumoniae*.

Вследствие низкой эффективности антибиотикотерапии инфекций, связанных с формированием биопленок, возрастает интерес к фагам в качестве перспективных средств для эрадикации возбудителей, находящихся в ее составе. Бактерии, расположенные в более глубоких слоях, в условиях крайне ограниченного доступа кислорода и питательных веществ замедляют свою метаболическую активность, что снижает эффективность большинства антибиотиков и ведет к низкой репликации фагов [1, 6]. Результаты выполненного исследования показали снижение биомассы суточных биопленок под действием ПБФ у 78 и 68% клинических

изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно, однако деструкцию пленки выше 80% регистрировали лишь у нескольких штаммов каждого вида. Известно, что бактериофаг vB_KpnP_FZ12 разрушал структуру биопленки и кластеров *K. pneumoniae*, а также сокращал общее число бактерий в биопленке [13]. S.A. Fong и соавт. [14] использовали бактериофаги для эрадикации биопленок *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с хроническим риносинуситом [14]. Авторы установили, что препараты отдельных фагов уменьшали биомассу биопленок изолятов на 53–73%, а применение фагового «коктейля» – на 89%. При этом множественная лекарственная устойчивость *P. aeruginosa* не влияла на антибиопленочную активность всех четырех фагов [14]. В нашем исследовании обнаружено ингибирование биопленкообразования карбапенем-резистентных штаммов *P. aeruginosa* под действием ПБФ.

Заключение

Коммерческий препарат поливалентного пхиобактериофага был активен в отношении 36 и 56% штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно, включая 1 из 6 и 4 из 15 карбапенем-устойчивых изолятов. Большинство изученных штаммов обоих видов бактерий снижали продукцию биопленок при совместной инкубации с поливалентным фагом, однако снижение биомассы более 80% выявлено для *P. aeruginosa*. Воздействие бактериофага на уже сформированные биопленки было менее выраженным, несмотря на снижение биомассы биопленок у 78 и 68% штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований, посвященных изучению активности бактериофагов в отношении возбудителей ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции, и разработки методов фаготерапии для лечения профильных пациентов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Литература / References

1. Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. Phage therapy in the postantibiotic era. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(2):e00066-18. doi: 10.1128/CMR.00066-18
2. Patey O, McCallin S, Mazure H, Liddle M, Smithyman A, Dublanchet A. Clinical indications and compassionate use of phage therapy: personal experience and literature review with a focus on osteoarticular infections. *Viruses*. 2018;11(1):18. doi: 10.3390/v11010018
3. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629–55. doi: 10.1016/S01406736(21)02724-0
4. Ландышев Н.Н., Воронько Я.Г., Тимошина О.Ю., Суслина С.Н., Акимкин В.Г., Мирошников К.А. Обзор законодательства в области обращения персонализированных препаратов бактериофагов. *Вопросы вирусологии*. 2020;65(5):259–66. [Landyshev NN, Voronko YG, Timoshina OY, Suslina SN, Akimkin VG, Miroshnikov KA. A review of the regulatory framework for personalized bacteriophages registration. *Problems of Virology*. 2020;65(5):259–66 (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-5-2
5. Bozhkova S, Tikhilov R, Labutin D, Denisov A, Shubnyakov I, Razorenov V, Artyukh V, Rukina A. Failure of the first step of two-stage revision due to polymicrobial prosthetic joint infection of the hip. *J Orthop Traumatol*. 2016;17(4):369–76. doi: 10.1007/s10195-016-0417-8
6. Harper DR, Parracho HMRT, Walker J, Sharp R, Hughes G, Werthén M, Lehman S, Morales S. Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics (Basel)*. 2014;3(3):270–84. doi: 10.3390/antibiotics3030270
7. Hemmati F, Rezaee MA, Ebrahimzadeh S, Yousefi L, Nouri R, Kafil HS, Gholizadeh P. Novel strategies to combat bacterial biofilms. *Mol Biotechnol*. 2021;63(7):569–86. doi: 10.1007/s12033-021-00325-8
8. Тапальский Д.В. Чувствительность госпитальных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* к препаратам для фаготерапии. *Вестник витебского государственного медицинского университета*. 2018;17(2):47–54. [Tapalski DV. Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial isolates to the preparations for phagotherapy. *Vitebsk Medical Journal*. 2018;17(2):47–54 (In Russ.)]. doi: 10.22263/2312-4156.2018.2.47
9. Тапальский Д.В., Козлова А.И. Чувствительность к препаратам бактериофагов клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* с различными уровнями антибиотикорезистентности. *Проблемы здоровья и экологии*. 2018;(1):56–62. [Tapalski DV, Kozlova AI. Sensitivity of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with various levels of antibiotic resistance to bacteriophage preparations. *Health and Ecology Issues*. 2018;1(55):56–62 (In Russ.)]. doi: 10.51523/2708-6011.2018-15-1-9
10. Łusiak-Szelachowska M, Weber-Dąbrowska B, Górski A. Bacteriophages and lysins in biofilm control. *Virol Sin*. 2020;35(2):125–33. doi: 10.1007/s12250-019-00192-3
11. González S, Fernández L, Gutiérrez D, Campelo AB, Rodríguez A, García P. Analysis of different parameters affecting diffusion, propagation and survival of staphylophages in bacterial biofilms. *Front Microbiol*. 2018;9:2348. doi: 10.3389/fmicb.2018.02348
12. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Долгий А.А., Конев С.Д., Гришко Т.А. Эффективность применения бактериофагов против штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, формирующих микробные биопленки. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2020;4(77):40–5. [Aslanov BI, Zueva LP, Dolgiy AA. Efficacy of bacteriophages against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Preventive and Clinical Medicine*. 2020;4(77):40–5 (In Russ.)]. doi: 10.47843/2074-9120_2020_4_40
13. Глазунов Е.А., Зубаров Ф.М., Павлова И.В., Толмачева Г.С. Воздействие вирулентными бактериофагами на биопленки *Klebsiella pneumoniae*. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2020;4(36):480–5. [Glazunov EA, Zubarov FM, Pavlova IB, Tolmacheva GS. Effects of the virulent bacteriophages on *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2020;4(36):480–5 (In Russ.)]. doi: 10.36871/vet.san.hyg. ecol.202004012
14. Fong SA, Drilling A, Morales S, Cornet ME, Woodworth BA, Fokkens WJ, Psaltis AJ, Vreugde S, Wormald PJ. Activity of bacteriophages in removing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:418. doi: 10.3389/fcimb.2017.00418

УДК 616-002.5-053.2-07

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-64-69



Феномен симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов полости рта при хронических пародонтитах с рецидивирующим течением

Н.В. Стрельникова^{1,3}, В.Н. Царёв², А.А. Антонова¹, Е.С. Шаповаленко¹, В.Е. Скоробогатова^{1,3}¹ Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия³ Туберкулезная больница, Хабаровск, Россия

Цель: оценить клиническую значимость феномена симультанной (одновременной) вегетации путем микробиологического исследования видового состава пародонтальных карманов и поверхности корня и спинки языка при хроническом (генерализованном) пародонтите. **Материалы и методы.** Проведен проспективный микробиологический анализ клинически значимых видов условно-патогенных микроорганизмов из патологических зубодесневых карманов и микробиома корня и спинки языка при хроническом (генерализованном) пародонтите легкой, средней и тяжелой степени в Хабаровском крае у 88 пациентов ключевой группы Всемирной организации здравоохранения 35–44 лет (ДИ 95% 34,8–44,3) стоматологической клиники «Унистом» Дальневосточного государственного медицинского университета за период 2016–2019 гг. **Результаты.** Видовой состав условно-патогенных микроорганизмов в биотопах патологических зубодесневых карманов и корня и спинки языка совпадает при хроническом пародонтите, среднее значение $89,7 \pm 2,9\%$ (ДИ 95% 85,8–94,4). Среднее значение количества видов клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов пародонтальных карманов и корня и спинки языка в ассоциациях: 3,9 (ДИ 95% 1,8–5,4). Бактерии рода *Leptotrichia* выявляются одновременно в пародонтальных карманах и с корня и спинки языка в клинически значимых ассоциациях с *Staphylococcus aureus* (ДИ 95% 37,3–65,4), среднее значение индекса Шеннона Н имело высокие показатели $3,1 \pm 0,4$; среднее значение индекса Симпсона С составило $0,39 \pm 0,06$. Бактерии рода *Leptotrichia* в ассоциации с *Streptococcus pyogenes* (ДИ 95% 35,8–79,3), среднее значение индекса Шеннона Н $2,9 \pm 0,3$; среднее значение индекса Симпсона С $0,28 \pm 0,06$, достоверно поддерживают рецидивирующее течение оппортунистического инфекционно-воспалительного процесса в пародонте. Установлена доминирующая роль золотистых стафилококков и пиогенных стрептококков в биотопах пародонтальных карманов и корня и спинки языка при обострениях хронического пародонтита. Титр условно-патогенных микроорганизмов в патологических зубодесневых карманах 2–5lgKOE (колониеобразующих единиц) при легкой и средней степени тяжести на 1–2 порядка ниже титра условно-патогенных микроорганизмов с корня и спинки языка 4–6lgKOE (ДИ 95% 2,1–6,5). **Заключение.** Оценка феномена симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов микробиома полости рта позволяет совершенствовать лабораторную (микробиологическую) диагностику при хроническом пародонтите и рекомендовать применение неинвазивного микробиологического метода для опосредованной диагностики видового состава условно-патогенных микроорганизмов пародонтальных карманов по составу условно-патогенных микроорганизмов корня и спинки языка при хроническом пародонтите для персонализации лечения и профилактики.

Ключевые слова: хронический пародонтит, феномен симультанной вегетации, условно-патогенные микроорганизмы пародонтальных карманов и языка, оппортунистические инфекции

Поступила: 26.12.22. После доработки: 01.02.23. Принята к публикации: 02.02.23

Для цитирования: Стрельникова Н.В., Царёв В.Н., Антонова А.А., Шаповаленко Е.С., Скоробогатова В.Е. Феномен симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов полости рта при хронических пародонтитах с рецидивирующим течением. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:64–69. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-64-69

Для корреспонденции: Стрельникова Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Дальневосточного государственного медицинского университета; заведующий бактериологической лабораторией Туберкулезной больницы (680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35); ORCID: 0000-0002-1749-1323; тел. +7 (924) 925-89-85; e-mail: jpdom@mail.ru

Simultaneous vegetation of opportunistic oral microorganisms in chronic periodontitis with recurrent course

N.V. Strelnikova^{1,3}, V.N. Tsarev², A.A. Antonova¹, E.S. Shapovalenko¹, V.E. Skorobogatova¹¹ Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia; ² A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia; ³ Tuberculosis Hospital, Khabarovsk, Russia

Aim. To evaluate clinical significance of simultaneous vegetation by conducting microbiological research of the species composition in the periodontal pockets and on the surface of the tongue root and back in chronic (generalized) periodontitis. **Materials and methods.** A prospective microbiological analysis of clinically significant species of opportunistic microorganisms in pathological periodontal pockets and the microbiome of the tongue root and back, in chronic (generalized) periodontitis of mild, moderate and severe degree, was carried out in 88 patients of the WHO key group, aged 35–44 (CI 95% 34.8–44.3), of the Unistom Dental Clinic of the Far Eastern State Medical University, Khabarovsk Krai, for the period 2016–2019. **Results.** The species composition of opportunistic microorganisms in the biotopes of the pathological periodontal pockets and tongue root and back was the same in chronic periodontitis, with a mean value of $89.7\% \pm 2.9\%$ (CI 95% 85.8–94.4). The mean value

of the number of species of clinically significant opportunistic microorganisms in the periodontal pockets and root and back of the tongue in associations accounted for 3.9 (CI 95% 1.8–5.4). Bacteria of the genus *Leptotrichia* were detected simultaneously in periodontal pockets and on the root and back of the tongue in clinically significant associations with *Staphylococcus aureus* (CI 95% 37.3–65.4), mean Shannon index H value 3.1 ± 0.4 ; mean Simpson index C value 0.39 ± 0 . Bacteria of the genus *Leptotrichia* in association with *Streptococcus pyogenes* (CI 95% 35.8–79.3), mean Shannon index H 2.9 ± 0.3 ; mean value of the Simpson index C 0.28 ± 0.06 , reliably support the recurrent course of the opportunistic infectious and inflammatory process in the periodontium. The dominant role of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* in the biotopes of periodontal pockets and the root and back of the tongue in exacerbations of chronic periodontitis has been established. Titre of opportunistic microorganisms in pathological periodontal pockets of 2–5lgCFU (colony-forming units) in mild and moderate degree of severity is 1–2 order lower than titre of opportunistic microorganisms in root and back of the tongue of 4–6lgCFU (95% CI 2.1–6.5). **Conclusions.** Evaluation of simultaneous vegetation of opportunistic microorganisms in the oral microbiome provides a means for improving laboratory (microbiological) diagnostics in chronic periodontitis and applying a non-invasive microbiological method for indirect diagnosis of the species composition of opportunistic microorganisms in periodontal pockets according to the composition of opportunistic microorganisms of the root and back of the tongue in chronic periodontitis for prophylaxis and treatment personalization.

Keywords: chronic periodontitis, phenomenon of simultaneous vegetation, opportunistic microorganisms of periodontal pockets and tongue, opportunistic infections

Received 26 December 2022; Revised 1 February 2023; Accepted 2 February 2023

For citation: Strelnikova N.V., Tsarev V.N., Antonova A.A., Shapovalenko E.S., Skorobogatova V.E. Simultaneous vegetation of opportunistic oral microorganisms in chronic periodontitis with recurrent course. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:64–69. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-64-69

Corresponding author: Natalia V. Strelnikova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology Far Eastern State Medical University; Head of the Bacteriology Laboratory of Tuberculosis Hospital (35 Muravyova-Amurskogo str., 680000, Khabarovsk, Russia); ORCID: 0000-0002-1749-1323; phone: +7 (924) 925-89-85; e-mail: jpd0m@mail.ru

Определение состава и титра условно-патогенных микроорганизмов из биотопов, высланных слизистыми оболочками, таких как полость рта, корень и спинка языка, пародонтальные карманы, имеет клиническую значимость для диагностики, лечения и профилактики хронического пародонтита [1–7]. Описана вегетация в составе микробиома полости рта более чем 700 видов прокариот [1, 8]. Термин «симультанная вегетация» предлагается ввести в практику медицинской микробиологии для обозначения одновременного сосуществования условно-патогенных индигенных представителей микробиома полости рта и тела человека на поверхности слизистых оболочек в различных биотопах, в вероятных условиях развития дисбиотического процесса. Хронический пародонтит как частный случай оппортунистического инфекционного процесса остается нерешенной, важной медицинской, социально значимой проблемой [1–4, 8–11]. Агрессивные вариативные ассоциации резидентных условно-патогенных микроорганизмов в составе биотопа пародонтальных карманов влияют на тяжесть и обострение хронического пародонтита, характер течения аутоинфекции в тканях пародонта [1–3]. Облигатные, факультативные анаэробы формируют биопленку пародонтальных карманов [1; 8–12]. Современные исследования, как правило, не представлены одновременным изучением двух рядом расположенных биотопов полости рта, таких как пародонтальные карманы, корень и спинка языка [6]. Микробиом пародонтальных карманов при хроническом пародонтите формируют наиболее вирулентные представители родов *Porphyromonas*, *Aggregatibacter*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Bacteroidetes*, *Peptostreptococcus*, в частности такие виды I порядка, как *Porphyromonas*

gingivalis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (tox+ cepomun b), *Tannerella forsythia*; и II порядка – *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* (spp. periodonticum), *Treponema denticola* [1, 2, 8, 9, 12–14].

Сравнительное изучение микробного статуса условно-патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах у пациентов с хроническим пародонтитом, а также влияние на возникновение обострения ассоциаций пиогенных кокков с *Leptotrichia* spp. описаны в единичных работах [5, 6, 10]. Симультанная вегетация оппортунистических симбионтов наблюдается при одновременном выделении идентичных видов из разных биотопов полости рта: корня и спинки языка и пародонтальных карманов [5, 10].

Представители рода *Leptotrichia* в ассоциации с *Fusobacterium* spp. определяются в строме зубного камня, на корне и спинке языка, поддесневой бляшке, имплантах, в кариозных полостях; при ангине Винсента, ювенильном периодонтите, язвенно-некротическом гингивите с быстрой некротизацией слизистых, ноле, лейкозе, нейтропении, эндокардите и ВИЧ-инфекции [5, 10].

Изучение клинически значимых ассоциаций *Leptotrichia* spp. с пиогенными кокками при хронических пародонтитах позволяет охарактеризовать феномен симультанной вегетации и определить роль ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов для оценки прогрессирования хронического пародонтита.

Цель исследования – оценить клиническую значимость феномена симультанной вегетации путем микробиологического исследования видового состава пародонтальных карманов и поверхности корня и спинки языка при хроническом (генерализованном) пародонтите.

Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное и микробиологическое обследование 88 пациентов ключевой группы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 35–44 лет с хроническим пародонтитом стоматологической поликлиники «Унистом» Дальневосточного государственного медицинского университета в г. Хабаровске. В основную группу вошел 21 пациент с хроническим пародонтитом средней степени тяжести (В) и 21 пациент с тяжелым течением хронического пародонтита и рецидивами (С). Группа сравнения – 21 пациент с легким течением хронического пародонтита (А). В контрольную группу методом случайной выборки отобрали 25 пациентов без признаков хронического пародонтита (D), на срок проведения исследования, 18 месяцев. Для рандомизации по группам использовали стандартные пародонтологические критерии: индексы гигиены, наличие кровоточивости десен и пародонтальных карманов, оценку глубины патологических зубодесневых карманов [1, 7]. Изучали результаты микробиологического исследования из двух биотопов одновременно, пародонтальных карманов и корня и спинки языка, не менее 3 раз во всех группах. Определение видовой принадлежности клинически значимых штаммов условно-патогенных микроорганизмов проводилось в диагностической лаборатории «Юнилаб», бактериологической лаборатории Краевой клинической больницы № 1, г. Хабаровск. Посев с тампона на поверхность твердых питательных сред осуществляли стандартным полуколичественным методом на 5% кровяной агар, хромогенную питательную среду Уриселект 4 (БиоРад), энтерококк-агар, среду Сабуро, Канди-селект 5 (ХайМедиа, Индия). Идентификацию проводили с использованием биохимических тестов «Микро-ла-Тест», «Эрба Лахема», бактериологического анализатора «Аутоскан-4», Siemens, масс-спектрометра Bruker Biotyper MALDY TOF, Германия. Для определения *Leptotrichia spp.* применяли «АНАЭРО-тест 23» («Эрба Лахема») и молекулярно-генетический метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), мультиплексной ПЦР в режиме реального времени, стандартные микробиологические методы.

Использовали программы для статистической обработки полученных данных: Microsoft Excel 2010, Statistica 10, методы непараметрической статистики, коэффициенты корреляции Пирсона, Спирмена, сильную положительную связь учитывали при $r > 0,70$, доверительный интервал (ДИ 90% и ДИ 95%), индекс видового разнообразия Шеннона – Уивера (H), индекс доминирования видов Симпсона (C) [15], статистически значимые результаты оценивали при: $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

В группе ВОЗ 35–44 года обследованных лиц доля пациентов с хроническим пародонтитом легкой степени в среднем составила $21 \pm 4,2\%$, средней степени

тяжести – $42 \pm 4,6\%$, тяжелой степени – $37 \pm 4,2\%$. Сравнивали результаты анализа признаков поражения пародонта обследованных лиц по степени тяжести хронического пародонтита на первичном приеме. В пределах признака по отношению к группе D разница статистически значима. Кровоточивость десен наблюдалась в группе А в $22,1 \pm 0,1\%$; группе В $38,8 \pm 0,1\%$; группе С $36,2 \pm 0,1\%$; группе D $4,1 \pm 0,1\%$ ($p < 0,001$). Зубной камень определяли в группе А в $12,1 \pm 0,1\%$; группе В $29,6 \pm 0,3\%$; группе С $37,2 \pm 0,1\%$; группе D $5,1 \pm 0,6\%$ ($p < 0,01$). Пародонтальные карманы размером 4–5 мм определяли в группе А в 0% ; группе В – $9,1 \pm 0,1\%$; группе С – $37,2 \pm 0,1\%$; группе D 0% ($p < 0,0001$). Во всех группах гигиена полости рта была неудовлетворительная, высокий индекс гигиены от 1,58 до 2,36. При пародонтитах тяжелой степени гигиенический индекс высокий – 2,7, гигиена полости рта плохая. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена 0,7 свидетельствует о сильной положительной связи между индексом гигиены полости рта и показателем глубины пародонтального кармана, кровоточивостью десен (0,6), зубным камнем (0,8).

Видовой состав условно-патогенных микроорганизмов в биотопах пародонтальных карманов и корня и спинки языка совпадает при хроническом пародонтите легкой степени на $85,5 \pm 0,3\%$, при средней $88,9 \pm 1,1\%$, тяжелой степени на $92,8 \pm 1,9\%$; среднее значение $89,7 \pm 2,9\%$ (ДИ 95% 85,8–94,4). Количество видов клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов из пародонтальных карманов и корня и спинки языка в ассоциациях зависит от тяжести инфекционно-воспалительных изменений пародонта, изменяется от 1–2 до 4–5 видов, среднее значение 3,9 (ДИ 95% 1,8–5,4).

Ассоциация бактерий *Leptotrichia spp.* и *Streptococcus pyogenes* выявляется при пародонтите легкой степени в группе А – в 48,1%, средней степени в группе В – 31,1% и тяжелой степени в 73% ($p < 0,01$). *Leptotrichia spp.* + *Streptococcus pyogenes* (ДИ 95% 35,8 – 79,3), среднее значение индекса Шеннона H $2,9 \pm 0,3$; среднее значение индекса Симпсона C $0,28 \pm 0,06$, поддерживают рецидивирующее течение инфекционного оппортунистического процесса при хроническом пародонтите. Эти штаммы выделяются одновременно с корня и спинки языка и из пародонтальных карманов в клинически значимом титре, что доказывает наличие феномена их симультанной вегетации (табл. 1).

Бактерии *Leptotrichia spp.* выявляются в пародонтальных карманах и корня и спинки языка в клинически значимых ассоциациях с *Staphylococcus aureus* (ДИ 95% 37,3–65,4), высокие показатели среднего значения индекса видового разнообразия Шеннона H $3,1 \pm 0,4$ имело высокие показатели; среднее значение индекса доминирования видов Симпсона C составило $0,39 \pm 0,06$ (табл. 1).

Таким образом, установлена доминирующая роль золотистых стафилококков и пиогенных стрептококков в биотопах пародонтальных карманов и корня

Таблица 1

Типичные ассоциации клинически значимых штаммов условно-патогенных микроорганизмов ($n = 289$), уровень обсемененности пародонтальных карманов и корня и спинки языка (lgKOE) при хроническом пародонтите

№ п/п	Ассоциации условно-патогенных микроорганизмов, титр (lgKOE)	Встречаемость ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах и корня и спинки языка, % ($M \pm m$)			
		Легкая степень	Средняя степень	Тяжелая степень	P
1	<i>Enterococcus faecalis</i> ≤ 4 + <i>Streptococcus viridans</i> ≥ 6	$65 \pm 5,06$	$28 \pm 3,27$	$6,06 \pm 1,24$	$< 0,01$
2	<i>Enterococcus faecalis</i> ≤ 5 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 6	$20 \pm 1,36$	$22 \pm 1,41$	$7,82 \pm 0,64$	$< 0,05$
3	<i>Staphylococcus aureus</i> , ≤ 4 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≤ 5	$23 \pm 2,58$	–	–	–
4	<i>Enterococcus faecalis</i> ≥ 5 + <i>Staphylococcus aureus</i> ≥ 5 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 6	$1 \pm 1,28$	$42 \pm 1,13$	$56,08 \pm 2,94$	$< 0,05$
5	<i>Streptococcus pyogenes</i> ≤ 4 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 6	$48 \pm 4,13$	–	–	–
6	<i>Streptococcus pyogenes</i> ≥ 6 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 6	–	$31 \pm 5,08$	$73,74 \pm 2,89$	$< 0,05$
7	<i>Enterococcus faecalis</i> ≥ 5 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 5 + <i>Enterococcus faecalis</i> ≤ 4	$21 \pm 3,28$	$42 \pm 1,13$	$51,08 \pm 0,95$	$< 0,01$
8	<i>Staphylococcus aureus</i> ≥ 5 + <i>Streptococcus pyogenes</i> ≥ 6 + <i>Leptotrichia</i> spp. ≥ 6	–	$61 \pm 5,08$	$21,74 \pm 0,97$	$< 0,001$
9	<i>Enterococcus faecalis</i> ≥ 6 + <i>Klebsiella pneumoniae</i> ≤ 5	–	$3,41 \pm 0,65$	$16 \pm 0,19$	$< 0,05$
10	<i>Enterococcus faecalis</i> ≥ 6 + <i>Acinetobacter baumannii</i> ≥ 4 + <i>Candida albicans</i> ≥ 5	–	$23,40 \pm 0,59$	$30 \pm 0,18$	$< 0,01$
11	<i>Enterococcus faecalis</i> ≥ 6 <i>Escherichia coli</i> ≥ 4	–	$10,1 \pm 0,24\%$	$16,02 \pm 1,82$	$< 0,05$
12	<i>Enterococcus faecium</i> ≥ 5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ≥ 4	–	$4,1 \pm 0,72\%$	$12,13 \pm 0,65$	$< 0,05$
13	<i>Enterococcus faecalis</i> ≤ 4 <i>Enterobacter cloacae</i> ≥ 4	–	$5,89 \pm 1,41$	$13,08 \pm 0,58$	$< 0,05$

* Статистически значимые различия рассчитаны по отношению к пародонтитам легкой степени тяжести, $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

и спинки языка при обострениях хронического пародонтита. Грибы рода *Candida* обнаруживаются одновременно в пародонтальных карманах и корня и спинки языка в среднем в $48,9 \pm 1,2\%$ (ДИ 90% 46,4–50,2), при упорном течении, рецидивы 2–4 раза в год, среднее значение H составило $1,9 \pm 0,6$, показывая умеренное видовое разнообразие кандид; среднее значение $C - 0,21 \pm 0,04$ определяет низкий уровень доминирования кандид при хроническом пародонтите. Титр *Candida* spp. существенно не изменяется при утяжелении хронического пародонтита – до 3–5lgKOE. Титр условно-патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах достигает 2–5lgKOE при легкой и средней степени тяжести на 1–2 порядка ниже титра условно-патогенных микроорганизмов с корня и спинки языка 4–6lgKOE (ДИ 95% 2,1–6,5). При тяжелом течении и/или генерализации пародонтита уровень титра условно-патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах и с корня и спинки языка сравнивался и достигал 5–8lgKOE, среднее значение

6,4lgKOE (ДИ 95% 5,4–8,2). Высокий уровень силы связи между увеличением титра условно-патогенных микроорганизмов в биотопах (5–8lgKOE), углублением пародонтальных карманов: среднее значение $6,5 \pm 0,24$ мм (ДИ 95% 5,4–6,8). r -Пирсона = 0,70, $p \geq 0,001$, среднее значение видового альфа-разнообразия условно-патогенных микроорганизмов в группе C снижается ($H 2,6 \pm 0,1$); доминирования видов условно-патогенных микроорганизмов уменьшается ($C 0,18 \pm 0,03$).

Представительство энтерококков, стрептококков, кишечных палочек, синегнойных палочек при утяжелении хронического пародонтита возрастает в 2 и более раза из обоих биотопов – пародонтальных карманов и корня и спинки языка, что также свидетельствует в пользу наличия феномена симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов при хроническом пародонтите (рис.). Среди нескольких типов колоний визуально определяются клебсиеллы, зеленающие стрептококки, нейссерии, дифтероиды.

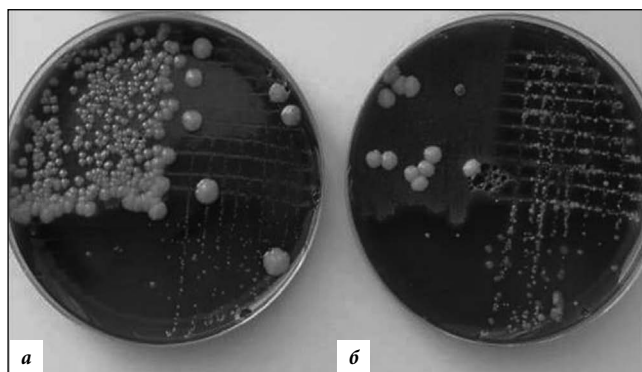


Рис. Рост культуры энтеробактерий вида *Klebsiella pneumoniae* на кровяном агаре через 24 часа. а – штамм с корня и спинки языка, титр 5lgKOE. б – штамм из пародонтального кармана, титр 3lgKOE

Титр 5lgKOE условно-патогенных микроорганизмов клебсиелл с корня и спинки языка (рис. а) на 2 порядка выше их титра из пародонтального кармана 3lgKOE (рис. б).

Обсуждение полученных данных

Условно-патогенные микроорганизмы одновременно выявлены микробиологическим методом из двух биотопов полости рта: из пародонтальных карманов и с поверхности слизистых оболочек корня и спинки языка на фоне инфекционно-воспалительного процесса при хроническом пародонтите. Типичные представители условно-патогенных микроорганизмов – резиденты микробиома полости рта и тела человека выделялись в высоких титрах: среднее значение 6,4lgKOE (ДИ 95% 5,4–8,2), двукратно; это имеет клиническое значение при хроническом пародонтите. Пародонтальные и лингвальные штаммы условно-патогенных микроорганизмов, такие как золотистые стафилококки, пиогенные стрептококки, энтеробактериалес, неферментирующие грамотрицательные бактерии, грибы рода *Candida*, неспорообразующие анаэробные бактерии рода *Leptotrichia*, и другие условно-патогенные микроорганизмы тела человека совпадали по видовому составу и микробиологическим свойствам (ДИ 95% 85,8–94,4), r -Пирсона = 0,55, $p < 0,01$. Титр условно-патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах увеличивался с нарастанием степени тяжести пародонтита и ростом глубины пародонтальных карманов, (ДИ 90% 5lgKOE–8lgKOE), r -Пирсона = 0,70, $p < 0,001$, что сравнимо с данными российских и зарубежных ученых [1, 4, 5, 7, 8, 12]. Результаты исследования доказательно демонстрируют формирование феномена симультанной (одновременной) вегетации условно-патогенных микроорганизмов на рядом расположенных слизистых оболочках корня и спинки языка и пародонтальных карманов в единой экологической нише полости рта при хроническом инфекционно-воспалительном заболевании пародонта. Бактерии *Leptotrichia spp.* определялись при хроническом пародонтите средней тяжести часто в ассоциации с *Staphylococcus aureus* (ДИ

95% 37,3 – 65,4), $H 3,1 \pm 0,4$; $C 0,39 \pm 0,06$, при тяжелой степени чаще в ассоциации с пиогенными кокками *Streptococcus pyogenes* группы А (ДИ 95% 35,8–79,3), $H 2,9 \pm 0,3$; $C 0,28 \pm 0,06$.

Микробиом полости рта, корня и спинки языка и пародонтальных карманов при хроническом пародонтите отличается видовым многообразием биопленки, в составе которой выявляются известные условно-патогенные микроорганизмы полости рта и тела человека в существенном титре. При условии снижения уровня иммунной резистентности это может являться дополнительным фактором риска обострения хронического инфекционно-воспалительного процесса в пародонте [1, 3]. Большой титр выделенных с корня и спинки языка условно-патогенных микроорганизмов может свидетельствовать о развитии феномена симультанной вегетации на слизистых оболочках рядом расположенных биотопов и о вероятности донации микроорганизмов с поверхности языка при хроническом пародонтите в относительно изолированные пародонтальные карманы, где титр обнаруживаемых идентичных условно-патогенных микроорганизмов на 1 или 2 порядка ниже при легких и среднетяжелых формах хронического пародонтита, чем с корня и спинки языка [5, 6].

Представленные результаты дают основание оценить степень патогенного потенциала лептотрихий в ассоциациях с пиогенными кокками: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и возможность их влияния на утяжеление течения и/или обострение хронического пародонтита как полиэтиологической аутоинфекции с эндогенным путем передачи условно-патогенных микроорганизмов из соседних биотопов полости рта. Клинически значимые штаммы условно-патогенных микроорганизмов пародонтальных карманов, в ассоциациях от 2 до 5 видов, получены культуральным методом в качестве «золотого стандарта» микробиологического исследования. Синергизм факторов патогенности/вирулентности ассоциаций культур условно-патогенных микроорганизмов из пародонтальных карманов, выросших на искусственной питательной среде, имеет существенную релевантность и требует глубокого изучения.

Заключение

Культуральный метод в медицинской микробиологии является убедительным для реализации принципов доказательной медицины и может быть использован для своевременной диагностики дисбиотического состояния полости рта и пародонтальных карманов.

Оценка феномена симультанной вегетации условно-патогенных микроорганизмов позволяет совершенствовать лабораторную диагностику при хроническом пародонтите и рекомендовать применение неинвазивного метода для опосредованной диагностики видового состава микробиома пародонтальных карманов.

Этиотропное лечение с применением антибиотиков и/или антимикотиков для конкретного агента из состава условно-патогенных микроорганизмов, а также

профилактика рецидивов хронических пародонтитов возможны при многократном контроле посевов биологического материала с поверхности корня и спинки языка.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – СНВ

Сбор и обработка материала – СНВ, ЦВН, ААА, ШЕС, СВЕ

Написание текста – СНВ, ЦВН

Редактирование – СНВ, ЦВН

Литература / References

1. Балмасова И.П., Царев В.Н., Янушевич О.О., Маев И.В., Мкртумян М.А., Арутюнов С.Д. Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов. – М.: Практическая медицина, 2021;56–86. [Balmasova IP, Tsarev VN, Yanushevich OO, Maev IV, Mkrtumyan MA, Arutyunov SD. Microecology of the periodontium. Interrelation of local and systemic effects. Moscow: Prakticheskaya medicina, 2021;56–86 (In Russ.).]
2. Ковалевский А.М., Ковалевский В.А. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) (Часть II). *Институт стоматологии*. 2018;1(78):88–91 [Kovalevsky AM, Kovalevsky VA. Etiology and pathogenesis of inflammatory periodontal diseases (literature review) (Part II). *Institut Stomatologii*. 2018;1(78):88–91 (In Russ.).]
3. Крюков А.И., Товмасын А.С., Кишиневский А.Е., Данилюк Л.И., Мосин В.В., Шведов Н.В., Филина Е.В., Осипян А.А. Клинико-морфологическая картина хронического тонзиллита и его патогенетическая связь с пародонтопатиями: обзор литературы. *Вестник оториноларингологии*. 2022;87(5):75–80 [Kryukov AI, Tovmasyan AS, Kishinevsky AE, Danilyuk LI, Mosin VV, Shvedov NV, Filina EV, Osipyan AA. Clinical and morphological picture of chronic tonsillitis and its pathogenetic relationship with periodontal diseases: literature review. *Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2022;87(5):75–80. (In Russ.).] doi: 10.17116/otorino20228705175
4. Скрипкина Г.И., Гарифуллина А.Ж. Оценка стоматологического здоровья детей школьного возраста г. Омска с помощью европейских индикаторов. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2016;(15)3(58):67–71 [Skripkina GI, Garifullina AZh. Evaluation of the dental health of school-age children in Omsk using European indicators. *Pediatric Dentistry and Dental Prophylaxis*. 2016;(15)3(58):67–71 (In Russ.).]
5. Стрельникова Н.В., Антонова А.А., Туркутукоев В.Б., Шаповаленко Е.С. Эпидемиология неспецифических пародонтитов, вызванных бактериями рода *Leptotrichia*, при хроническом и рецидивирующем течении инфекции. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018;4(74):71–4 [Strelnikova NV, Antonova AA, Turkutyukov VB, Shapovalenko ES. Epidemiology of nonspecific periodontitis caused by bacteria of the genus *Leptotrichia* in chronic and recurrent infections. *Pacific Medical Journal*. 2018;4(74):71–4 (In Russ.).] doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.71-74
6. Стрельникова Н.В., Антонова А.А., Шаповаленко Е.С., Кислая А.И., Саргсян А.С., Шегольская О.В., Рокуш С.С. Роль микробиологической идентификации условно-патогенных микроорганизмов слизистой оболочки языка при хронических пародонтитах. *Актуальные проблемы стоматологии детского возраста и ортодонтии: Сборник научных статей IX региональной научно-практической конференции с международным участием по детской стоматологии*. Под ред. Антоновой А.А. Хабаровск: Дальневосточный государственный медицинский университет, 2019;175–83. [Strelnikova NV, Antonova AA, Shapovalenko ES, Kislaya AI, Sargsyan AS, Schegolskaya OV, Rokush SS. The role of microbiological identification of conditionally pathogenic microorganisms of the mucous membrane of the tongue in chronic periodontitis. Actual problems of pediatric dentistry and orthodontics: Collection of scientific articles of the IX regional scientific and practical conference with international participation in pediatric dentistry. Ed. Antonova AA. Khabarovsk: Far Eastern State Medical University, 2019;175–83 (In Russ.).]
7. Цепов Л.М., Николаев А.И., Нестерова М.М., Цепова Е.Л. Патогенетические особенности формирования хронической воспалительной патологии пародонта (обзор). *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2018;17(3):206–14 [Tsepov LM, Nikolaev AI, Nesterova MM, Tsepova EL. Pathogenetic features of the formation of chronic inflammatory periodontal pathology (review). *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2018;17(3):206–14 (In Russ.).]
8. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017;(5):101–12 [Tsarev VN, Nikolaeva EN, Ippolitov EV. Periodontopathogenic bacteria are the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2017;(5):101–12 (In Russ.).] doi: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112
9. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Леонтьева А.В., Козлова Е.А., Стулов Н.М., Беляев В.С., Григорьянц Э.О., Миронов А.Ю. Микробиом полости рта у больных пародонтитом, адгезивные и биопленкообразующие свойства. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(1):45–51 [Chervinets VM, Chervinets YuV, Leontyeva AV, Kozlova EA, Stulov NM, Belyaev VS, Grigoryants EO, Mironov AYU. Microbiome of the oral cavity in patients with periodontitis, adhesive and biofilm-forming properties. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021;66(1):45–51 (In Russ.).] doi: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-45-51
10. Шаповаленко Е.С., Антонова А.А., Стрельникова Н.В. Бактерии рода *Leptotrichia* в микробиоме патологических зубодесневых карманов при пародонтитах. *Фундаментальные исследования*. 2014(7–5):1044–7 [Shapovalenko ES, Antonova AA, Strelnikova NV. Bacteria of the *Leptotrichia* genus in the microbiome of pathological periodontal pockets in periodontitis. *Fundamental Research*. 2014(7–5):1044–7 (In Russ.).]
11. Cai Z, Lin S, Hu S, Zhao L. Structure and Function of Oral Microbial Community in Periodontitis Based on Integrated Data. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;(11):663756. doi: 10.3389/fcimb.2021.663756
12. Kriebel K, Hieke C, Müller-Hilke B, Nakata M, Kreikemeyer B. Oral Biofilms from Symbiotic to Pathogenic Interactions and Associated Disease -Connection of Periodontitis and Rheumatic Arthritis by Peptidylarginine Deiminase. *Front Microbiol*. 2018;(9):53. doi: 10.3389/fmicb.2018.00053
13. Kurtzman GM, Horowitz RA, Johnson R, Prestiano RA, Klein BI. The systemic oral health connection: Biofilms. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101(46):e30517. doi: 10.1097/MD.00000000000030517
14. Suda R, Kobayashi M, Nanba R, Iwamaru M, Hayashi Y, Lai CH, Hasegawa K. Possible periodontal pathogens associated with clinical symptoms of periodontal disease in Japanese high school students. *J Periodontol*. 2004;75(8):1084–9. doi: 10.1902/jop.2004.75.8.1084
15. Дрозденко Т.В., Михалеп С.Г., Бугеро Н.В. Видовая структура и разнообразие фитопланктона дельты реки Великой (Псковская область, Россия). *Принципы экологии*. 2020(3):98–112 [Drozdenco TV, Mikhalep SG, Bugero NV. Species structure and diversity of phytoplankton in the Velikaya River delta (Pskov region, Russia). *Principles of the Ecology*. 2020(3):98–112 (In Russ.).] doi: 10.15393/j1.art.2020.7962

УДК 579.61

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-70-74



Био профили стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом

О.Л. Карташова¹, О.А. Пашина¹, Т.М. Пашкова¹, В.А. Гриценко¹, С.В. Михайленко²¹ Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Оренбург, Россия;² Оренбургский перинатальный центр (Оренбургская областная клиническая больница № 2), Оренбург, Россия

Цель: характеристика патогенных фено- и генотипов стафилококков разной видовой принадлежности, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом. **Материалы и методы.** Бактериальный спектр микрофлоры исследовали бактериологическим методом, видовую идентификацию микроорганизмов осуществляли методом масс-спектрометрии. Детекция генов, детерминирующих факторы патогенности, проведена методом полимеразной цепной реакции. Способность к биопленкообразованию, антилизосимную, гемолитическую и адгезивную активность стафилококков определяли фотометрическим методом. **Результаты.** Установлено доминирование стафилококков в структуре возбудителей хронического бактериального простатита. Данные микроорганизмы вне зависимости от их видовой принадлежности обладали выраженным патогенным потенциалом. Определены особенности био профилей культур разных видов по выраженности изученных биологических свойств: гемолитическая активность, способность к адгезии и образованию биопленок была достоверно выше у *S. aureus*, напротив, штаммы *CNS* характеризовались высокой антилизосимной активностью. Отмечено существенное отличие в распространенности генов, детерминирующих факторы патогенности у изученных стафилококков разных видов. **Заключение.** Патогенный био профиль стафилококков разных видов, выделенных при хроническом бактериальном простатите, может использоваться в качестве критерия для поиска и идентификации возбудителя, а также для разработки эффективных подходов к терапии.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки, хронический бактериальный простатит, гены патогенности, патогенный потенциал

Поступила в редакцию: 14.12.22. Получена после доработки: 18.12.22. Принята к печати: 29.12.22

Для цитирования: Карташова О.Л., Пашина О.А., Пашкова Т.М., Гриценко В.А., Михайленко С.В. Био профили стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:70–74. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-70-74

Для корреспонденции: Пашина Ольга Александровна – старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – структурного научного подразделения Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11); ORCID: 0000-0001-9944-3095; e-mail: olga25mikro@mail.ru

Bioprofiles of *Staphylococcus* spp. isolated from prostate secretion in men with chronic bacterial prostatitis

O.L. Kartashova¹, O.A. Pashinina¹, T.M. Pashkova¹, V.A. Gritsenko¹, S.V. Mikhailenko²¹ Orenburg Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;² Orenburg Perinatal Center (Orenburg Regional Clinical Hospital № 2), Orenburg, Russia

Objective. To characterize pathogenic pheno- and genoprofiles of staphylococci of different species, isolated from the secretion of the prostate gland in male patients with chronic bacterial prostatitis. **Materials and methods.** The bacterial spectrum of microflora was studied by a bacteriological method; the species identification of microorganisms was carried out by mass spectrometry. Detection of genes determining pathogenicity factors was carried out by PCR. The biofilm-forming ability of staphylococci, as well as their anti-lysozyme, hemolytic, and adhesive activity, were determined by photometry. **Results.** Staphylococci were found to be dominant in the pathogen structure of chronic bacterial prostatitis. These microorganisms, regardless of their species, had a pronounced pathogenic potential. Specific features in the bioprofiles of cultures of different species were determined according to the severity of the studied biological properties. Thus, the hemolytic activity and biofilm-forming ability was significantly higher in *S. aureus*. Conversely, *CNS* strains were characterized by high anti-lysozyme activity. A significant difference was noted in the prevalence of genes that determine pathogenicity factors in the studied staphylococci of different species. **Conclusion.** The pathogenic bioprofile of staphylococci of various species isolated from patients with chronic bacterial prostatitis can be used as a criterion in the search and identification of the pathogen, as well as in the development of effective therapeutical approaches.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, chronic bacterial prostatitis, pathogenicity genes, pathogenic potential

Received 14 December 2022; Revised 18 December 2022; Accepted 29 December 2022

For citation: Kartashova O.L., Pashinina O.A., Pashkova T.M., Gritsenko V.A., Mikhailenko S.V. Bioprofiles of *Staphylococcus* spp. isolated from prostate secretion in men with chronic bacterial prostatitis. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:70–74. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-70-74

For corresponding: Olga A. Pashinina, Cand. Sci. (Bio.), Senior Researcher Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences – a structural scientific subdivision of the Orenburg Federal Research Center of Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (11, Pionerskaya str., Orenburg, 460000, Russia); ORCID: 0000-0001-9944-3095; e-mail: olga25mikro@mail.ru

Хронический бактериальный простатит с непрерывно рецидивирующим течением остается одним из наиболее часто диагностируемых состояний в урологической практике [1]. Среди возбудителей простатита приоритетное место занимают коагулазонегативные стафилококки [2, 3]. Известно, что стафилококки могут способствовать развитию инфекционно-воспалительных осложнений, а также рецидиву заболевания, что обусловлено наличием у них широкого спектра факторов патогенности, которые детерминируются определенными генами [4]. Данные по комплексу фенотипических свойств (биопротипу) и генопротипу стафилококков разных видов совершенно необходимы для диагностики, терапии и прогноза хронического бактериального простатита.

Цель исследования состояла в изучении патогенных фено- и генопротипов стафилококков разной видовой принадлежности, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом.

Материалы и методы

В исследование были включены мужчины репродуктивного возраста (20–45 лет) с хроническим бактериальным простатитом (ХБП), находящиеся на амбулаторном лечении в отделении охраны репродуктивного здоровья Оренбургского перинатального центра ГАУЗ «ООКБ № 2». Алгоритм обследования пациентов включал сбор анамнеза, оценку жалоб, физикальные методы, в том числе трансректальное УЗИ и пальцевое ректальное исследование предстательной железы (ПЖ). Также проводили анкетирование с помощью шкалы оценки симптомов ХБП Национального института здоровья США (NIH-CPSI) и международного индекса эректильной функции (IIEF-5).

Критерии постановки диагноза ХБП и включения пациентов в исследование: 1. Клинические признаки (один или несколько); боли различной локализации (в промежности, мошонке, крестце, паховой области и т. д.); расстройство мочеиспускания (учащенное мочеиспускание, вялая или прерывистая струя мочи, чувство неполного опорожнения мочевого пузыря, боль во время мочеиспускания); нарушение эякуляции (преждевременная эякуляция, боли при и после эякуляции, гемоспермия). 2. Увеличение количества лейкоцитов в секрете ПЖ (более 10–15 в поле зрения) или в моче, полученной после массажа ПЖ. 3. Культуральное подтверждение возбудителя ХБП. 4. Длительность заболевания не менее года. 5. Возраст 20–45 лет.

Пациенты с инфекциями, передаваемыми половым путем, были исключены из исследования. До включения в работу у всех участников научного исследования было получено письменное информированное согласие.

Протокол исследования утвержден на заседании локального комитета по биоэтике Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (протокол № 2 от 27.04.2021 г.). При обследовании пациентов соблюдены акты национального стандарта РФ ГОСТ Р 52379-2005 о надлежащей клинической практике [5]. Секрет простаты после массажа предстательной железы (ПЖ) собирали в стерильные емкости и доставляли в лабораторию в течение 10–15 минут. Выделение бактерий из исследуемого материала проводили общепринятыми методами бактериологического исследования: засекали на поверхности кровяного и желточно-солевого агара методом секторных посевов и инкубировали при 37 °C в течение 18–24 часов.

Видовую принадлежность микроорганизмов оценивали с помощью масс-спектрометра MALDI-TOF серии Microflex (Bruker Daltonics, Германия), идентификацию микроорганизмов с расчетом коэффициента достоверности проводили с использованием программного обеспечения Maldi BioTyper 3.0.

Антилизоцимную активность микроорганизмов (АЛА) определяли фотометрическим методом [6], способность образовывать биопленки (БПО) – по методике [7], показатель адгезии микробных клеток (ПА) – по [8], гемолитическую активность (ГА) – по [9]. Адгезивные свойства бактерий в отношении эритроцитов оценивались исходя из следующих критериев: при ПА свыше 40% – высокий уровень адгезивной активности, при ПА от 15 до 40% – средний, при ПА от 5 до 15% – низкий, при ПА менее 5% степень адгезии бактерий считали нулевой.

Молекулярно-генетическому исследованию было подвергнуто 30 штаммов стафилококков, из них: 12 – *Staphylococcus aureus* и 18 коагулазонегативных стафилококков (CNS) разных видов – *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*.

Бактериальную дезоксирибонуклеиновую кислоту экстрагировали с помощью реактивов «ДНК-экспресс» («Литех», Россия). Циклический синтез фрагментов ДНК осуществляли с использованием амплификатора «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Россия). Для определения наличия генов резистентности использовали специфические олигонуклеотидные праймеры [10, 11], синтезированные фирмой «Синтол» (Россия) (табл. 1).

Ген *bar* кодирует белок, ассоциированный с биопленками; *ica A* и *ica D* – полисахарид межклеточной адгезии; *eno* – ламининсвязывающий белок; *clf A* и *clf B* – факторы слипания А и В (клампинг-факторы – *Clf A* *Clf B*); *fnb A* и *fnb B* – фибронектинсвязывающие белки А и В; *fib* – фибриногенсвязывающие белки.

Реакцию амплификации проводили по следующей программе: 1 цикл денатурации ДНК при 94 °C

Таблица 1

Олигонуклеотидные праймеры в диагностике генов резистентности

Ген	Олигонуклеотидная последовательность (5'→3')	Размер продукта, п.н.
<i>bap</i>	CCCTATATCGAAGGTGTAGAATTGCAC GCTGTTGAAGTTAATACTGTACCTGC	970
<i>ica A</i>	CCTAACTAACGAAAGGTAG AAGATATAGCGATAAGTGC	1315
<i>ica D</i>	AAACGTAAGAGAGGTGG GGCAATATGATCAAGATAC	381
<i>clf A</i>	ATTGGCGTGGCTTCAGTGCT CGTTTCTTCCGTAGTTGCATTTG	292
<i>clf B</i>	ACATCAGTAATAGTAGGGGGCAAC TTCGCACTGTTTGTGTTTGCAC	205
<i>eno</i>	ACGTGCAGCAGCTGACT CAACAGCATYCTTCAGTACCTTC	302
<i>fnb A</i>	CATAAATTGGGAGCAGCATCA ATCAGCAGCTGAATTCCCATT	127
<i>fnb B</i>	GTAACAGCTAATGGTCAATTGATACT CAAGTTCGATAGGAGTACTATGTTC	524
<i>fib</i>	CTACAACTACAATTGCCGTCAACAG GCTCTTGTAAGACCATTTTCTTCAC	404

(5 мин), затем 30–35 циклов амплификации (денатурация ДНК – 95 °C (30 сек), отжиг праймеров – 47–56 °C (30 сек) и стадию элонгации – 72 °C (45 сек) и 1 цикл завершения амплификации – 72 °C (10 мин).

Продукты амплификации анализировали путем электрофоретического разделения в горизонтальном 1,5% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, ТАЕ буферной системе с использованием стандартных наборов фирмы «ИнтерЛабСервис». В качестве маркеров использовали маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder (ЕвроГен). Положительное заключение о наличии гена делали при обнаружении в дорожке специфической светящейся полосы определенной массы, которую устанавливали по линейке молекулярных масс.

Статистический анализ результатов проводился с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007. Значимость различия средних величин оценивали с помощью методов вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента, статистически значимыми отличиями показателей считали при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования

При бактериологическом исследовании секрета простаты стафилококки выделяли в 69,8% случаев. При этом в монокультуре они обнаружены в 43,3%, в ассоциациях с *E. faecalis* – в 33,2%, ассоциации разных видов стафилококков составляли 23,2%. Монокультуры были представлены *S. aureus* и разными видами коагулазоотрицательных стафилококков (*CNS*): *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*. В двухкомпонентных ассоциациях *S. warneri* выделялся совместно с *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*. Обсемененность секрета простаты составляла в среднем 5×10^4 КОЕ/мл.

У выделенных штаммов стафилококков разных видов определен комплекс биологических свойств (биопротили), включающий их вирулентные и персистентные характеристики (рис. 1).

Анализ особенностей биопротилей стафилококков показал широкую распространенность гемолитической активности как у золотистых стафилококков, так и у *CNS* ($77,8 \pm 12,8\%$ и 100%), при этом выраженность ГА у золотистых стафилококков в 1,8 раза превышала данный показатель у *CNS* ($63,5 \pm 7,1$ и $35,8 \pm 2,5\%$ соответственно, $p < 0,01$). Коагулазонегативные стафилококки чаще чем *S. aureus* проявляли антилизоцимную активность ($77,8 \pm 9,8$ против $52,7 \pm 13,7\%$) с достоверно более высокими значениями признака ($1,00 \pm 0,15$ мкг/мл и $0,51 \pm 0,13$ мкг/мл, $p < 0,05$). Способностью образовывать биопленки обладали все изученные изоляты золотистого стафилококка и $66,7 \pm 11,1\%$

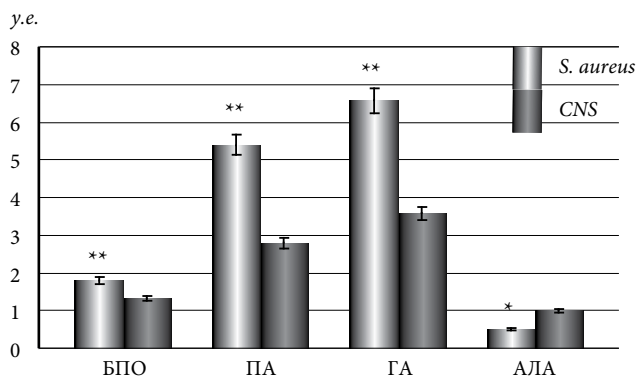


Рис. 1. Экспрессия факторов вирулентности и персистенции стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом.

Примечание: БПО – биопленкообразование (y. e.); АЛА – антилизоцимная активность (мкг/млхОП); ГА – гемолитическая активность ($\times 10\%$); ПА – показатель адгезии ($\times 10\%$); * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

штаммов CNS, а экспрессия признака у первых составляла $1,79 \pm 0,10$ у. е., у вторых – $1,33 \pm 0,06$ у. е. ($p < 0,05$). Способностью к адгезии обладали все изученные штаммы стафилококков, однако отмечены существенные различия в экспрессии признака у штаммов бактерий разной видовой принадлежности. Показатель адгезии у *S. aureus* составлял $54,1 \pm 0,51\%$, а у CNS – $28,0 \pm 0,36\%$ ($p < 0,01$). При этом среди *S. aureus* показатель адгезии изменялся от 38 до 75%, с преобладанием высоко адгезивных штаммов (92%). Среди CNS были выявлены как низкоадгезивные (33%), так и штаммы со средним (45%) и высоким уровнем ПА (22%).

Кроме того, у стафилококков было изучено наличие генетических детерминант патогенности. Полученные результаты свидетельствовали о вариативности частоты встречаемости изученных генов у штаммов стафилококков разных видов (табл. 2), при этом генетические детерминанты патогенности *eno*, *ica D*, *ica A* выявлены у изолятов всех изученных видов, а гены *fnb A*, *fnb B*, *clf A*, *clf B*, *fib* – только у культур *S. aureus*. Ген *bar* у изученных штаммов не обнаружен.

У всех изолятов стафилококков обнаружен ген *eno*, установлено его изолированное присутствие у штаммов *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, а также в разных комбинациях с другими генами у изолятов *S. aureus*, *S. epidermidis* и *S. warneri*.

Сочетание двух генов зафиксировано у всех штаммов *S. warneri* (*eno*, *ica D*) и 75% культур *S. epidermidis* (*eno*, *ica A*). У изолятов *S. aureus* отмечены следующие сочетания трех и четырех генов: *eno*, *ica D*, *fnb A*; *eno*, *ica A*, *ica D*, *fnb A* соответственно. Половина культур *S. aureus* характеризовалась наличием комплекса из 6 генов патогенности (*eno*, *ica D*, *fnb A*, *clf A*, *clf B*, *fib*), у 25% штаммов золотистого стафилококка зарегистрировано 7 генов, детерминирующих факторы патогенности (*eno*, *ica A*, *ica D*, *fnb A*, *clf A*, *clf B*, *fib*).

Обсуждение полученных данных

Анализ биофильей стафилококков, выделенных из секрета простаты у больных ХБП, показал, что данные микроорганизмы вне зависимости от их таксономической принадлежности (*S. aureus* или CNS) характеризуются выраженным патогенным потенциалом, который определяется наличием у них комплекса вирулентных и персистентных свойств, включая адгезивную, гемолитическую, антилизоцимную активность и способность к образованию биопленок.

Наличие у изученных нами золотистых стафилококков выраженной способности к адгезии, а также

обнаружение у них генов, детерминирующих белки, способные связываться с некоторыми поверхностными белками эукариотических клеток (ламинином, фибронектином, фибриногеном) в конечном счете могут привести к формированию восходящей инфекции из уретры с последующей колонизацией тканей предстательной железы. Отмеченное нами существенное отличие генов, кодирующих адгезию, у штаммов *S. aureus*, подтверждает разницу между этим и другими видами стафилококков, что ранее было продемонстрировано при анализе у них вирулентных и персистентных характеристик на фенотипическом уровне [12].

Важными патогенными факторами бактерий являются токсины, повреждающие клетки хозяина и нарушающие их метаболизм, что делает среду биотопа более благоприятной для стафилококков. Таким секретиремым фактором вирулентности является α -гемолизин, относящийся к порообразующим токсинам, лизирующим эритроциты и ядродержащие клетки, который выявлен нами у большинства изолятов стафилококков, при этом выраженность признака была выше у штаммов *S. aureus*.

Экспрессия микроорганизмами указанных патогенных признаков, очевидно, обеспечивает развитие инфекционно-воспалительного заболевания, а длительному переживанию возбудителя в организме способствуют персистентные характеристики стафилококков [13], в частности их адгезивность, биопленкообразование и антилизоцимная активность. Представляет интерес характеристика генов, участвующих в формировании биопленок. Ранее было показано, что не только *S. epidermidis*, но и *S. aureus* характеризуются наличием оперона *ica*, ответственного за продукцию полисахаридов биопленки [14]. Ген *ica D*, входящий в состав этого оперона, был обнаружен нами у всех изученных штаммов золотистого стафилококка и 25% штаммов CNS и, напротив, ген *ica A* зарегистрирован чаще у CNS. Следовательно, разные виды стафилококков различаются по наличию генов, детерминирующих способность образовывать биопленки. Длительному персистированию микроорганизмов при простатите способствует также их способность инактивировать лизоцим [14]. Обнаружение нами антилизоцимной активности более чем у половины штаммов стафилококков указывает на несомненную значимость этого признака в реализации инфекционного процесса и подтверждается результатами других авторов [15].

Патогенные фено- и генопрофили микроорганизмов, выделенных при ХБП, могут использоваться, с одной стороны, в качестве критерия для поиска

Таблица 2

Распространенность генов адгезии у стафилококков разных видов

Вид стафилококка	Наличие у штаммов изученных генов (абс., %)								
	<i>bar</i>	<i>ica A</i>	<i>ica D</i>	<i>eno</i>	<i>fnb A</i>	<i>fnb B</i>	<i>clf A</i>	<i>clf B</i>	<i>fib</i>
<i>S. aureus</i> (n = 12)	0	2/16,6	12/100	12/100	12/100	1/12,5	9/75,0	9/75,0	9/75,0
CNS (n = 18)	0	8/44,4	4/22,2	18/100	0	0	0	0	0

и идентификации возбудителя, а с другой – для разработки эффективных подходов к терапии пациентов с указанной патологией.

Заключение

Установлено, что золотистые стафилококки характеризуются более высокими значениями ПА, ГА и БПО по сравнению с коагулазонегативными стафилококками, тогда как у последних выше экспрессия АЛА. Отмечено существенное отличие генов, детерминирующих адгезию и способность образовывать биопленки, у штаммов *S. aureus* по сравнению с CNS.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: исследования были проведены в рамках госзадания FUUG–2022-0007 «Исследование симбиотических систем про- и эукариот в биологии и медицине».

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – КОЛ, ПОА, ПТМ

Сбор и обработка материала – МСВ, ПОА, ПТМ

Статистическая обработка – ПОА

Написание текста – КОЛ, ПОА, ВАГ

Редактирование – КОЛ, ПОА, ПТМ, ВАГ

Литература / References

1. Смерницкий А.М., Красняк С.С. Результаты сравнительного исследования препарата «Тубосан» в комплексной терапии пациентов с хроническим бактериальным простатитом. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2022;(15):116–22. [Smernickij AM, Krasnyak SS. Results of a comparative study of Tubosan in the complex therapy of patients with chronic bacterial prostatitis. *Experimental and Clinical Urology*. 2022;(15):116–22 (In Russ.)]. doi: 10.29188/2222-8543-2022-15-3-116-122
2. Божедомов В.А. Современные возможности лечения хронического простатита. Обзорная статья. *Андрология и генитальная хирургия*. 2016;17(3):10–22. [Bozhedomov VA. Modern possibilities of treatment of chronic prostatitis. A review article. *Andrology and Genital Surgery*. 2016;17(3):10–22 (In Russ.)].
3. Stamatiou K, Magri V, Perletti G, Rekleiti N, Lacroix R, Moschouris H. Gram-positive microorganisms isolated during chronic bacterial prostatitis investigation. A retrospective study. *Hellenic Urology*. 2019;30(4):35–49.
4. Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Мавзютов А.Р., Гриценко В.А. *Staphylococcus aureus*: генетическое разнообразие с учетом источника выделения. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2018;3:10. [Kartashova OL, Pashkova TM, Tyapayeva YaV, Belozerceva YuP, Kurlaev PP, Mavzyutov AR, Gricenko VA. *Staphylococcus aureus*: genetic diversity according to source of isolation. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2018;3:10 (In Russ.)]. [Электр. ресурс] URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-3/Articles/KOL-2018-3.pdf>. doi: 10.24411/2304-9081-2018-13014
5. ГОСТ Р 52379-2005 Надлежащая клиническая практика. Москва: Стандартинформ, 2006;33. [GOST R 52379-2005 Good Clinical Practice. Moskva: Standartinform. 2006;33 (In Russ.)].
6. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Н.Н. Фотометрическое определение антилизиминной активности микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1997;(4):117–20. [Buharin OV, Valyshev AV, Elagina NN. Photometric determination of antilyszyme activity of microorganisms. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1997;(4):117–20 (In Russ.)].
7. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2000;(54):49–79.
8. Гизатулина С.С., Биргер М.О., Кулинич Л.И. Способ оценки состояния микрофлоры кишечника человека по количеству адгезивно-активных колоний и типу адгезинов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1991;(4):21–3. [Gizatulina SS, Birger MO, Kulnich LI. A method for assessing the state of the human intestinal microflora by the number of adhesive-active colonies and the type of adhesins. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1991;(4):21–3 (In Russ.)].
9. Ханина Е.А. Определение гемолитической активности микроорганизмов фотометрическим методом с использованием сапонина. *Сборник материалов региональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов*. Оренбург. 2003;174–5. [Hanina EA. Determination of hemolytic activity of microorganisms by photometric method using saponin. *Collection of materials of the regional scientific-practical conference of young scientists and specialists*. Orenburg. 2003;174–5 (In Russ.)].
10. Tristan A, Ying L, Bes M, Etienne J, Vandenesch F, Lina G. Use of multiplex PCR to identify *Staphylococcus aureus* adhesins involved in human hematogenous infection *J. Clin. Microbiol.* 2003;(41):4465–7.
11. Cramton SE, Gerke C, Schnell NF, Nichols WW, Gotz F. The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation *Infect. Immun.* 1999;(67):5427–33.
12. Карташова О.Л., Норкина А.С., Чайникова И.Н., Смолягин А.И. Фенотипическая характеристика стафилококков и местный иммунитет при бактерионосительстве. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2009;(4):99–103. [Kartashova OL, Norkina AS, Chajnikova IN, Smolyagin AI. Phenotypic characteristics of staphylococci and local immunity in bacterial carriage. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2009;(4):99–103 (In Russ.)].
13. Пашкова Т.М., Попова Л.П., Карташова О.Л. Фено- и генотипический профиль стафилококков как возбудителей эндогенных инфекций. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2019;(3):9. [Pashkova TM, Popova LP, Kartashova OL. Pheno- and genotypic profile of staphylococci as pathogens of endogenous infections. *Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2019;(3):9 (In Russ.)]. [Электр. ресурс] URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/KOL-2019-3.pdf>. doi: 10.24411/2304-9081-2019-13026
14. Набока Ю.Л., Коган М.И., Черническая М.Л., Гудима И.А., Ибишев Х.С., Ферзаули А.Х. Микробный спектр секрета предстательной железы и факторы персистенции бактерий, обнаруженных при хроническом бактериальном простатите. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2012;(3). [Naboka YuL, Kogan MI, Chernickaya ML, Gudima IA, Ibishev HS, Ferzauli AH. Microbial spectrum of prostate secretion and persistence factors of bacteria found in chronic bacterial prostatitis. *Bulletin of Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2012;(3) (In Russ.)]. [Электр. ресурс] URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/10Naboka.pdf>
15. Гриценко В.А., Бирюкова Т.В., Вялкова А.А., Иванов Ю.Б. Видовая структура и характеристика био профиля стафилококков – возбудителей перинатальной инфекционно-воспалительной патологии у детей Оренбурга. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014;(5):90–5. [Gricenko VA, Biryukova TV, Vyalkova AA, Ivanov YuB. Species structure and characteristics of the bioprofile of staphylococci – causative agents of perinatal infectious and inflammatory pathology in children in Orenburg. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2014;(5):90–5 (In Russ.)].

УДК 617.7-007.681-082

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-75-80



Оценка этиологической значимости *Enterococcus faecalis*, выделенных из мочи у детей при инфекции мочевыводящей системы

Т.С. Коменкова, Е.А. Зайцева

Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Цель: комплексная оценка микробиологических свойств *Enterococcus faecalis*, выделенных из мочи у детей с инфекцией мочевыводящей системы (ИМС), для определения их этиологической значимости. **Материалы и методы.** Клинические изоляты *E. faecalis* ($n = 51$), выделенные из мочи детей в возрасте от 3 дней до 17 лет, находившихся на лечении по поводу инфекции мочевыводящей системы в период с 2013 по 2017 г. Биологические свойства энтерококков оценивали классическим микробиологическим и современным молекулярно-генетическим методами. Статистическую обработку цифровых данных проводили с помощью непараметрических методов. **Результаты.** Выявлена фенотипическая и генетическая неоднородность микробиологических свойств изучаемой коллекции мочевых изолятов энтерококков. Используя статистические методы анализа, были установлены значимые связи между наличием генов патогенности, антибиотикорезистентности и фенотипическими проявлениями биологических свойств у мочевых изолятов *E. faecalis*. По результатам оценки фенотипических проявлений биологических свойств и наличию определенных генов изучаемые энтерококки были распределены на группы, которые соотносились с определенными сиквенс-типами (ST). На основании выявленных связей некоторых биологических свойств мочевых изолятов *E. faecalis* с принадлежностью их к определенному сиквенс-типу нами был разработан алгоритм оценки этиологически значимых и высоковирулентных *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с ИМС. **Заключение.** Комплексное определение некоторых потенциально важных биологических свойств возбудителя: ферментативной активности, связанной с патогенностью и биохимической активностью, антибиотикорезистентностью, не только на фенотипическом, но и на генетическом уровне позволяет оценить диагностическое значение уроштаммов *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с ИМС, что будет способствовать персонализированному подходу к лечению данных пациентов.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, инфекция мочевой системы, дети, этиологически значимые, высоковирулентные энтерококки

Поступила в редакцию: 19.12.22. Получена после доработки: 20.12.22. Принята к печати: 26.12.22

Для цитирования: Коменкова Т.С., Зайцева Е.А. Оценка этиологической значимости *Enterococcus faecalis*, выделенных из мочи у детей при инфекции мочевыводящей системы. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:75–80. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-75-80

Для корреспонденции: Зайцева Елена Александровна – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, дерматовенерологии и косметологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-2625-8275; e-mail: elza200707@mail.ru

Evaluating etiological significance of *Enterococcus faecalis* isolated from children with urinary tract infection

T.S. Komenkova, E.A. Zaitseva

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Aim. To conduct comprehensive evaluation of microbiological properties of *Enterococcus faecalis*, isolated from urine in children with urinary system infections (UTI), to determine their etiological significance. **Materials and methods.** The study employed clinical isolates *E. faecalis* ($n = 51$) from the urine of children aged 3 days to 17 years who were treated for urinary tract infection between 2013 and 2017. The biological properties of enterococci were evaluated by means of classical microbiological and up-to-date molecular genetic methods. Statistical processing of digital data was carried out using non-parametric methods. **Results.** Phenotypic and genetic heterogeneity of microbiological properties of the studied urinary enterococci isolates was revealed. Using statistical methods of analysis, the authors established significant correlations between pathogenicity genes, antibiotic resistance and phenotypic manifestations of biological properties in urinary isolates *E. faecalis*. The results of evaluating the phenotypic manifestations of biological properties and the presence of certain genes enabled the enterococci to be classified into groups that correlated with certain sequence types (ST). Based on the revealed relationships of some biological properties of urinary isolates *E. faecalis* with certain sequence types, the authors developed an algorithm for assessing etiological significant and highly virulent *E. faecalis* isolated from the urine of children with UTI. **Conclusions.** A comprehensive determination of some, potentially relevant biological properties, of the pathogen – enzymatic activity associated with pathogenicity and biochemical activities, antibiotic resistance (not only at the phenotypic, but also at the genetic level) – allows for assessing the diagnostic value of urostrains *E. faecalis*, isolated from the urine of children with UTI, which will contribute to a personalized approach to treatment of these patients.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, urinary infection, children, etiological significant, highly virulent enterococci

Received 19 December 2022. Revised 20 December 2022. Accepted 16 December 2022

For citation: Komenkova T.S., Zaitseva E.A. Evaluating etiological significance of *enterococcus faecalis* isolated from children with urinary tract infection. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:75–80. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-75-80

For corresponding: Zaitseva Elena Alexandrovna, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor, Head of the Microbiology, Dermatovenereology and Cosmetology Department, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russia); ORCID: 0000-0002-2625-8275; e-mail: elza200707@mail.ru

Среди многочисленных факторов, влияющих на развитие инфекций мочевыводящей системы (ИМС) и ее прогноз, немаловажное значение имеют биологические свойства микроорганизмов, колонизирующих почечную ткань [1, 2].

Одним из наиболее часто выявляемых возбудителей ИМС считаются *Escherichia coli* [1]. На сегодня достаточно хорошо изучены микробиологические особенности уropатогенных *E. coli*, обуславливающие повышенную выживаемость данных бактерий в мочевыделительном тракте (адгезивность к поверхности уроэпителия, продукция уреазы, сидерофоров, гемолизина, формирование слизистых капсул, принадлежность к определенным серогруппам, множественная антибиотикорезистентность и др.) [1]. Однако в последнее десятилетие среди этиологических факторов ИМС особую роль приобретают бактерии вида *Enterococcus faecalis*, считавшиеся ранее авирулентными микроорганизмами [2, 3].

Подтверждение этиологической значимости при выявлении условно-патогенных *E. faecalis* в моче у детей представляет собой большую сложность. Многочисленные исследования показали, что энтерококки синтезируют большое количество разнообразных факторов патогенности [2, 3, 4, 5, 6, 7].

Диагностическое значение в постановке диагноза имеет лишь бактериологическое исследование мочи с определением количества выделенных бактерий (моно- или смешанная культура), их титра в моче [8]. Определение значимости возбудителя проводится лишь по степени бактериурии.

Поэтому в настоящее время существует необходимость поиска микробиологических маркеров для выявления этиологически значимых уropатогенных энтерококков.

Цель работы состояла в комплексной оценке микробиологических свойств *Enterococcus faecalis*, выделенных из мочи у детей с ИМС, для определения их этиологической значимости.

Материалы и методы

Исследование одобрено Междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 3 от 20 ноября 2017 г.).

Клинические изоляты *E. faecalis* ($n = 51$) были выделены из мочи детей в возрасте от 3 дней до 17 лет, находившихся на лечении по поводу инфекции мочевыделительной системы в ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница № 1» (г. Владивосток) в период с 2013 по 2017 г. Штаммы уropатогенных фекальных

энтерококков были охарактеризованы нами ранее с помощью микробиологического и молекулярно-генетического методов [2, 9, 10, 11].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с применением программного обеспечения Statistica 13 (StatSoft, Inc., США) и Excel (Microsoft Office 2010). Различия частоты встречаемости признаков в группах были подтверждены с помощью непараметрических методов (критерия χ^2 Пирсона; точного критерия Фишера).

Результаты исследования

E. faecalis, выделенные из мочи детей с ИМС, показывают фенотипические особенности микробиологических свойств: проявляют вариабельность ферментативной активности в отношении ряда углеводов, факторов патогенности и антибиотикорезистентности [2, 9, 10, 11].

Статистическими методами определены прямые и обратные связи фенотипических проявлений факторов патогенности *E. faecalis* между собой, биохимической активностью и антибиотикорезистентностью (рис. 1).

С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) коллекция изучаемых *E. faecalis* была протестирована на наличие наиболее изученных генов, кодирующих белки, участвующие на разных этапах инфекционного процесса (кодирующих адгезию и инвазию (*aggA*, *esp*, *efaA*), синтез желатиназы (*gelE*), активатор цитолизина (*cylA*) и усилитель экспрессии феромона (*esp*)) и антибиотикорезистентности *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* (высокий уровень резистентности к гентамицину), *ant(6')-Ia* (высокий уровень резистентности к стрептомицину), *tetL* (резистентность к тетрациклину), *tetM* (резистентность к тетрациклину и миноциклину), *ermB* (высокий уровень устойчивости к 14-, 15- и 16-членным макролидам, линкозамидам и стрептограмину В) [11].

С использованием статистических методов анализа были установлены значимые связи между наличием генов патогенности, антибиотикорезистентности и фенотипическими проявлениями биологических свойств у мочевых изолятов *E. faecalis* (рис. 2).

По результатам оценки особенностей фенотипических проявлений микробиологических свойств и наличием определенного гена изучаемые энтерококки были распределены на три группы. В первую группу вошли *E. faecalis* ($n = 22$), ферментирующие лактозу и маннит (100%), не разлагающие рамнозу (100%), проявляющие гемолитическую активность (β -типа). Энтерококки данной группы (72,7%) проявляли резистентность

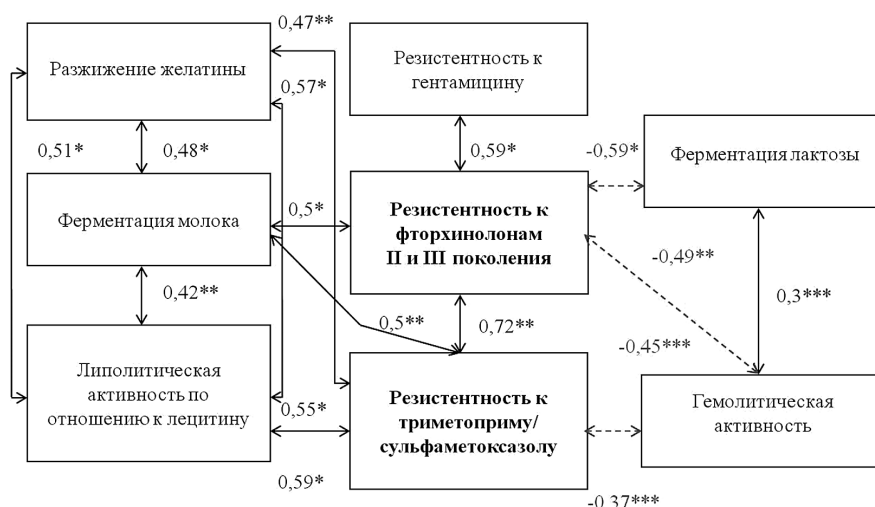


Рис. 1. Сопряженность фенотипических микробиологических свойств *E. faecalis*, изолированных из мочи детей с ИМС, между собой.

Примечание: * – $p < 0,0005$; ** – $p < 0,005$; *** – $p < 0,05$.

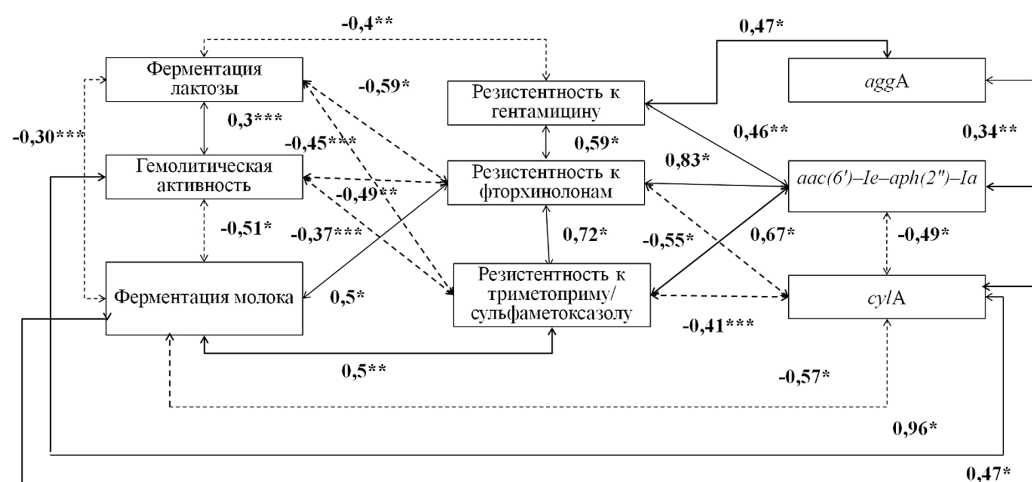


Рис. 2. Связь фенотипических проявлений микробиологических свойств с определенным геном *E. faecalis*, изолированных из мочи детей с ИМС.

Примечание: * – $p < 0,0005$; ** – $p < 0,005$; *** – $p < 0,05$.

только к одному классу антибактериальных препаратов (АБП) или были чувствительны к изучаемым антибактериальным препаратам, несли *cytA* (100%) и *esp* (81,8%) гены (табл. 1).

Во вторую группу – энтерококки ($n = 12$), не сбраживающие лактозу (41,7%) и сахарозу (16,7%), обладающие протеолитической (в отношении молока) активностью (100%), резистентные к фторхинолонам II и III поколения (ноर्फлоксацину, ципрофлоксацину, левофлоксацину) (100%), гентамицину (100%), триметоприму/сульфаметоксазолу (100%), имеющие *aggA* (100%), *gelE* (83,3%), *aac(6)-Ie-aph(2)-Ia* (83,3%) гены.

В третью – *E. faecalis* ($n = 17$), обладающие различными вариантами встречаемости биохимической активности, факторов патогенности, антибиотикорезистентности и наборами детерминант изучаемых генов.

Выявленная фенотипическая и генетическая неоднородность микробиологических свойств изучаемой коллекции мочевых изолятов энтерококков послужила основой проведения мультилокусного

сиквенс-типирования (MLST) для оценки их этиологической значимости.

По результатам MLST изучаемые *E. faecalis* распределились по четырнадцати (ST6, ST16, ST21, ST25, ST40, ST41, ST64, ST116, ST133, ST151, ST179, ST774, ST480, ST537) сиквенс-типам, наиболее часто выявлялись ST179 ($n = 13$), ST774 ($n = 6$) и ST6 ($n = 5$) (рис. 3).

Фекальные энтерококки, разделенные нами по группам, на основе различий микробиологических свойств соотносились с определенными сиквенс-типами (ST). Фекальные энтерококки первой группы, которые обладали гемолитической активностью β -типа, проявляли резистентность только к одному классу АБП или были чувствительны к изучаемым антибактериальным препаратам (72,7%), несли *cytA* ген, принадлежали к ST179, ST16 и ST537.

E. faecalis второй группы, обладающие протеолитической активностью, устойчивые к фторхинолонам, гентамицину и триметоприму/сульфаметоксазолу, имеющие *aggA* ген, отнеслись к ST6 и ST774.

Таблица 1

Вариабельность микробиологических свойств *E. faecalis*

Признак	1-я группа (n = 22)	2-я группа (n = 12)	3-я группа (n = 17)
«Выраженная» гемолитическая активность #	+	-	-
Ферментация молока*•	+/-	+	+/-
Резистентность к фторхинолонам II и III поколения*•	-	+	-
Резистентность к гентамицину*•	+/-	+	-
Резистентность к триметоприму/сульфаметоксазолу*#	+/-	+	+/-
aggA#•	+/-	+	+/-
cylA*#	+	-	+/-
aac(6')-Ie-aph(2»)-Ia *•	-	+/-	+/-

Примечание: «+» – 100% штаммов положительные; «-» – 100% штаммов отрицательные; «±» – вариабельные результаты. Статистическая достоверность различий между группами * – $p < 0,05$ между 1-й и 2-й группой; # – $p < 0,05$ между 1-й и 3-й группой; • – $p < 0,05$ между 2-й и 3-й группой.

Обсуждение полученных данных

Подтверждение этиологической значимости мочевых изолятов представляет собой большую сложность, особенно при выявлении условно-патогенных энтерококков, из-за наличия большого количества разнообразных факторов агрессии [3, 4, 7].

Несмотря на широкое изучение факторов патогенности фекальных энтерококков, изолированных при различных патологиях человека [6, 7, 12], на сегодня не установлены микробиологические критерии для оценки этиологической значимости мочевых изолятов *E. faecalis*.

Среди наиболее изученных потенциально важных факторов для инициации и хронизации энтерококковой инфекции выделяют субстанцию агрегации (agg, asa1), гемолизины/цитоллизины (cyl), желатиназу (gelE), энтерококковый поверхностный белок (esp), *Enterococcus faecalis* антиген A (efaA), пили, ассоциированные с развитием эндокардита и образованием биопленки (ebp), антилизозимную, антикомплемнтную активность [2, 3, 4, 5, 6, 7].

В проведенном нами исследовании были определены фенотипические особенности проявлений биологических свойств фекальных энтерококков, полученных из мочи у детей при ИМС: наличие ферментации маннита, ее отсутствие в отношении рамнозы, наличие/отсутствие ферментации лактозы, наличие/отсутствие гемолитической и протеолитической активностей.

В нашем исследовании впервые установлены корреляционные связи между наличием гена *aac(6')-Ie-aph(2»)-Ia* и фенотипическими проявлениями биологических свойств у мочевых изолятов *E. faecalis*: обратная – с «выраженной» гемолитической ($\varphi = 0,39$; $p = 0,006$) активностями; прямая – с протеолитической (ферментацией молока ($\varphi = 0,48$; $p = 0,0001$), разжижением желатины ($\varphi = 0,54$; $p = 0,0001$), липолитической (в отношении лецитина ($\varphi = 0,61$; $p = 0,0001$)) активностями и резистентностью к фторхинолонам II и III поколения (норфлоксацину, цiproфлоксацину, левофлоксацину) ($\varphi = 0,83$, $p = 0,0001$), триметоприму/

сульфаметоксазолу ($\varphi = 0,67$, $p = 0,0001$) и гентамицину ($\varphi = 0,46$, $p = 0,002$) (рис. 2).

Кроме того, выявленное фенотипическое и генетическое разнообразие микробиологических свойств *E. faecalis*, а также их корреляций между собой удостоверяет, что уропатогенность – это полидетерминированная характеристика, обусловленная комплексом патогенетически значимых факторов [1].

По результатам оценки фенотипических проявлений биологических свойств и наличию определенного

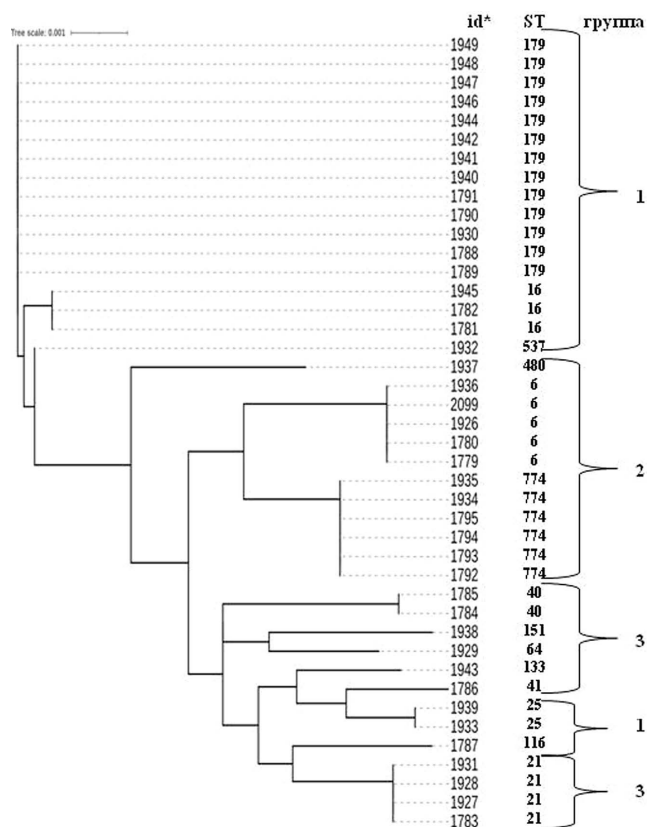


Рис. 3. Дендрограмма, отображающая сходство изучаемых *E. faecalis*.

Примечание: id – международный идентификационный номер, присвоенный штамму *E. faecalis* в международной базе данных «Enterococcus faecalis MLST Databases» (<https://pubmlst.org/efaecalis/>).

гена изучаемые энтерококки были распределены на три группы, отличающиеся различными вариантами встречаемости биохимической активности, факторов патогенности, антибиотикорезистентности и наборами детерминант изучаемых генов. Выявление большого количества факторов патогенности на фенотипическом и генетическом уровнях, способствующих развитию инфекции в уротракте среди мочевых *E. faecalis* первой и второй групп, позволяет их рассматривать с позиций этиологически значимых, поэтому в дальнейших исследованиях мы остановились на изучении этих штаммов более подробно. С этой целью было проведено мультилокусное сиквенс-типирование мочевых изолятов *E. faecalis*, выявившее 14 ST.

Подтверждение этиологической значимости *E. faecalis* на сегодня может осуществляться с помощью изучения их популяционной структуры [13, 14]. Известно, что принадлежность энтерококков к определенным дискретным линиям ассоциируется с повышенной вирулентностью, антибиотикорезистентностью и риском распространения их в больничной среде [13].

Согласно базе данных MLST, в настоящее время для *E. faecalis* зарегистрировано 1104 сиквенс-типа,

с превалированием ST6 среди мочевых изолятов [15]. По данным Zheng J.X. (2018), уропатогенные *E. faecalis* в большинстве относятся к ST179 и ST16 [14]. Фекальные энтерококки ST6, ST181 и ST28 сиквенс-типов чаще идентифицируют при нозокомиальных инфекциях [13].

Учитывая, что среди изучаемых мочевых изолятов *E. faecalis* превалируют определенные сиквенс-типы с характерными проявлениями биологических свойств, способствующих развитию инфекции в уротракте, мы отнесли их к этиологически значимым при ИМС у детей – ST179, ST16, ST537, ST6 и ST774.

Важно отметить, что *E. faecalis* ST6 и ST774 отличались от ST179, ST16 и ST537 фенотипическими проявлениями микробиологических свойств (обладали протеолитической (в отношении молока) (100%), не показывали гемолитическую активность, были устойчивы к фторхинолонам II и III поколения (норфлоксацину, ципрофлоксацину, левофлоксацину) (100%), гентамицину (100%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (100%)) и отличались генетическими свойствами (имели *aggA* (100%), *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* (83,3%) гены).

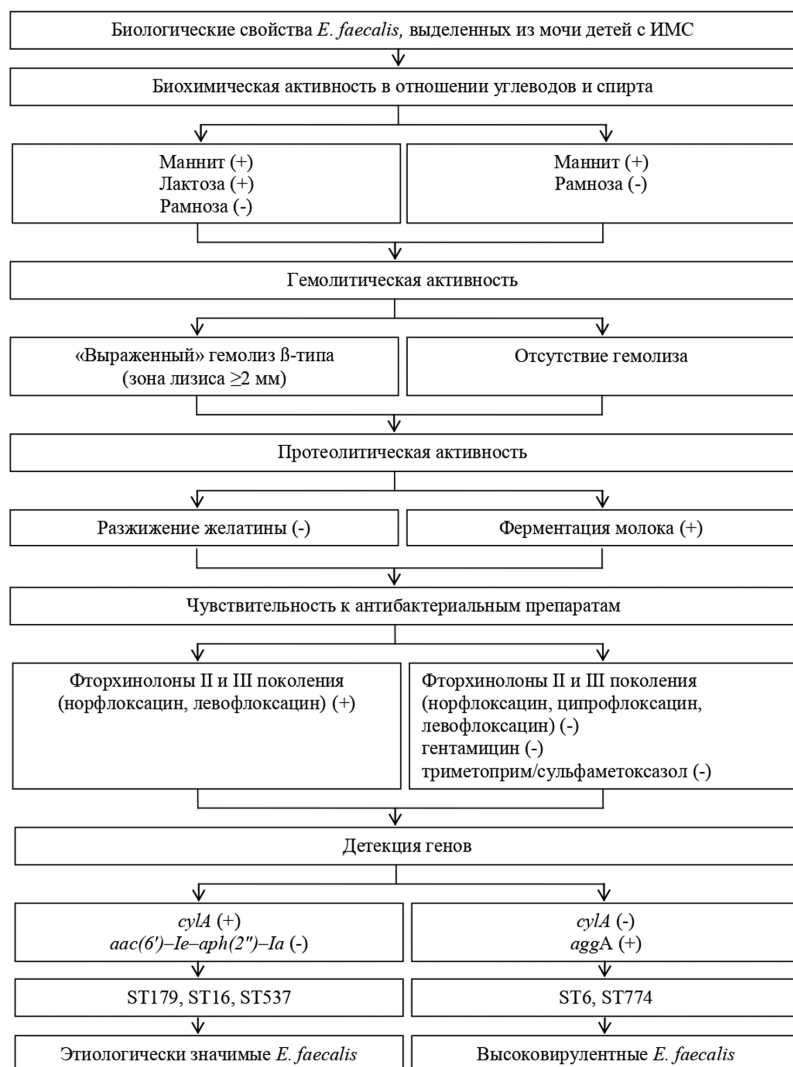


Рис. 4. Алгоритм оценки этиологически значимых и высоковирулентных *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с ИМС.

Следует подчеркнуть, что, по данным литературы, продукция энтерококками гистоповреждающих субстанций (протеаз) способствует инициации воспалительной реакции, альтерации тканей, бактериальной инвазии и диссеминации возбудителя [3]. Кроме того, выявленная множественная антибиотикорезистентность энтерококков приводит к селекции высоковирулентных штаммов. Именно такими свойствами характеризовались мочевые *E. faecalis* ST6 и ST774 сиквенс-типов.

На основании выявленных связей некоторых биологических свойств мочевых изолятов *E. faecalis* с принадлежностью их к определенному сиквенс-типу нами был разработан алгоритм оценки этиологически значимых и высоковирулентных *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с ИМС (рис. 4).

Заключение

Таким образом, комплексное определение некоторых потенциально важных биологических свойств возбудителя: ферментативной активности, связанной с патогенностью и биохимическими активностями, антибиотикорезистентностью не только на фенотипическом, но и на генетическом уровне, позволяет оценить диагностическое значение уроштаммов *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с ИМС, что будет способствовать персонализированному подходу к лечению данных пациентов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90036.

Литература / References

1. Вялкова А.А., Гриценко В.А. Инфекция мочевой системы у детей: современные аспекты этиологической диагностики и лечения. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2017;62(1):99–108. [Vyalkova AA, Gritsenko VA. Urinary tract infection in children: current aspects of etiological diagnosis and treatment. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2017;62(1):99–108 (In Russ.)]. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-1-99-108
2. Зайцева Е.А., Крукович Е.В., Мельникова Е.А., Лучанинова В.Н., Коменкова Т.С., Вайсеро Н.С. Роль факторов патогенности *Enterococcus faecalis* в развитии пиелонефрита у детей. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2017;2(68):58–60. [Zaitseva EA, Krukovich EV, Melnikova EA, Luchaninova VN, Komenkova TS, Vaysero NS. The role of pathogenicity factors of *Enterococcus faecalis* in the development of pyelonephritis in children. *Pacific Medical Journal*. 2017;2(68):58–60 (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.58-61
3. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, eds. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.
4. Бухарин О.В., Вальшев А.В. *Биология и экология энтерококков*. Екатеринбург: УрО РАН, 2012. [Bukharin OV, Valyshev AV. *Biology and ecology of enterococci*. Ekaterinburg: UrB RAS, 2012 (In Russ.)].
5. Narenji H, Teymounejad O, Rezaee MA, Taghizadeh S, Mehrmuz B, Aghazadeh M, Asgharzadeh M, Madhi M, Gholizadeh P, Ganbarov K, Yousefi M, Pakravan A, Dal T, Ahmadi R, Kafil HS. Antisense peptide nucleic acids against *ftsZ* and *efaA* genes inhibit growth and biofilm formation of *Enterococcus faecalis*. *Microb Pathog*. 2020;139:103907. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103907
6. Сычева М.В. Биологические свойства энтерококков, выделенных из организма животных и человека: фенотипическая характеристика и генетический контроль. *Шаг в науку*. 2021;2:4–9. [Sycheva MV. Biological properties of enterococci isolated from the organism of animals and humans: phenotypic characteristics and genetic control. *Step into science*. 2021;2:4–9 (In Russ.)].
7. Kiruthiga A, Padmavathy K, Shabana P, Naveenkumar V, Gnadesikan S, Malaiyan J. Improved detection of *esp*, *hyl*, *asa1*, *gelE*, *cylA* virulence genes among clinical isolates of enterococci. *BMC Res Notes*. 2020;13(1):170. doi: 10.1186/s13104-020-05018-0
8. *Бактериологическое исследование мочи. Клинические рекомендации*. Под ред. Козлова П.С. М., 2014. [Kozlov RS, editor. *Bacteriological examination of the urine. Clinical guidelines*. Moscow; 2014 (In Russ.)].
9. Зайцева Е.А., Мельникова Е.А., Коменкова Т.С., Лучанинова В.Н., Турянский А.И. Связь антибиотикорезистентности и биологических свойств *Enterococcus faecalis*, выделенных при инфекции мочевыводящих путей у детей. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2018;4:39–44. [Zaitseva EA, Melnikova EA, Komenkova TS, Luchaninova VN, Turyansky AI. A relationship between antibiotic resistance and biological properties of *Enterococcus faecalis* isolated from children with urinary tract infection. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2018;4:39–44 (In Russ.)]. doi: 10.18565/epidem.2018.4.39-44
10. Мельникова Е.А., Зайцева Е.А., Лучанинова В.Н., Крукович Е.В., Коменкова Т.С., Феоктистова Ю.В. Дифференцированные подходы к лечению инфекции мочевой системы у детей с учетом этиологического фактора *Enterococcus faecalis*. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019;4(78):60–5. [Melnikova EA, Zaitseva EA, Luchaninova VN, Krukovich EV, Komenkova TS, Feoktistova YuV. Differentiated approaches to the treatment of urinary tract infection in children taking into account the etiological factor *Enterococcus faecalis*. *Pacific Medical Journal*. 2019;4(78):60–5 (In Russ.)]. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-60-65
11. Коменкова Т.С., Зайцева Е.А., Шадрин А.М. Генетическая вариабельность *Enterococcus faecalis*, выделенных от детей с инфекцией мочевыводящих путей в Приморском крае России. *Экология человека*. 2021;12:49–55. [Komenkova TS, Zaitseva EA, Shadrin AM. Genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolated from children with urinary tract infection in Primorsky Krai of Russia. *Human ecology*. 2021;12:49–55 (In Russ.)]. doi: 10.33396/1728-0869-2021-12-49-55
12. Иванова Е.И., Кунгурцева Е.А., Немченко У.М., Григорова Е.В. Энтерококки желудочно-кишечного тракта: особенности, факторы патогенности, антибиотикорезистентность. *Инфекционные болезни*. 2017;15(3):58–64. [Ivanova EI, Kungurceva EA, Nemchenko UM, Grigorova EV. Enterococci of the gastrointestinal tract: features, pathogenicity factors, antibiotic resistance. *Infectious diseases*. 2017;15(3):58–64 (In Russ.)]. doi: 10.20953/1729-9225-2017-3-58-64
13. Zalipour M, Esfahani BN, Halaji M, Azimian A, Havaei SA. Molecular Characterization Of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* Among Inpatients At Iranian University Hospitals: Clonal Dissemination Of ST6 And ST422. *Infect Drug Resist*. 2019;12:3039–47. doi: 10.2147/IDR.S217718
14. Zheng JX, Bai B, Lin ZW, Pu ZY, Yao WM, Chen Z, Li DY, Deng XB, Deng QW, Yu ZJ. Characterization of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* isolates derived from urinary tract infections in China. *J Med Microbiol*. 2018;67(1):60–7. doi: 10.1099/jmm.0.000647
15. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018;3:124. doi: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1

УДК 616-001.17-008.87:579.8+615.015.8

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-81-85



Микрофлора ран и резистентность к антибиотикам у пострадавших с термической травмой

А.Ф. Потапов^{1,2}, С.Х. Шамаева², А.А. Иванова¹, С.В. Семенова²¹ Медицинский институт Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова, Якутск, Россия² Республиканская больница № 2 – Центр экстренной медицинской помощи, Якутск, Россия

Цель: Изучение этиологической структуры микрофлоры ран и ее чувствительности к антибактериальным препаратам у пострадавших с термическими ожогами в специализированных отделениях для пациентов с термической травмой.

Материал и методы. Анализированы результаты микробиологических исследований 2354 проб отделяемого раневой поверхности 1581 пострадавшего с тяжелыми термическими ожогами, лечившихся в ожоговом отделении и в отделении анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии Центра экстренной медицинской помощи Республики Саха (Якутия) в период с 2016 по 2020 г. Обработка данных и анализ антибиотикорезистентности выполнены на онлайн-платформе AMRcloud (версия: Beta, 05.07.2022). **Результаты.** Выявлено, что в ожоговых ранах среди выделенных возбудителей доля *Staphylococcus aureus* составила 26,1%, *Enterococcus faecalis* – 24,5%, *Pseudomonas aeruginosa* – 11,9%, *Klebsiella pneumoniae* – 9,4%, *Acinetobacter baumannii* – 7,9% и *Escherichia coli* – 6,0%. Установлена чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов к карбапенемам и высокая резистентность к цефалоспорином и фторхинолонам. **Заключение.** Микробные штаммы, выявленные у пациентов с термическими ожогами, свидетельствует об инфицировании ран представителями внутрибольничной микрофлоры и их высокой резистентности к часто используемым антибиотикам.

Ключевые слова: термическая травма, ожоговая рана, микрофлора ран, внутрибольничная инфекция, антибиотикорезистентность

Поступила в редакцию: 06.12.22. Получена после доработки: 08.12.22. Принята к публикации: 27.12.22

Для цитирования: Потапов А.Ф., Шамаева С.Х., Иванова А.А., Семенова С.В. Микрофлора ран и резистентность к антибиотикам у пострадавших с термической травмой. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:81–85. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-81-85

Для корреспонденции: Потапов Александр Филиппович – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии с курсом скорой медицинской помощи факультета последипломного обучения врачей медицинского института Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова (677000, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Ойунского, 27); ORCID: 0000-0003-2087-543X; e-mail: potapov-paf@mail.ru

Wound microflora and antibiotic resistance in burn patients

A.F. Potapov¹, S.H. Shamaeva², A.A. Ivanova¹, S.V. Semenova²¹ Medical Institute of the North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia; ² Republican Hospital № 2 – Emergency Medical Center, Yakutsk, Russia

Aim. To explore the etiological structure of wound microflora and its antimicrobial susceptibility in burn patients treated in hospital burn departments. **Materials and methods.** The authors analyzed the microbiology testing results of 2354 wound exudates in samples of 1581 patients with severe burns who underwent treatment in the Burn Unit and Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care of the Center for Emergency Medical Care of the Republic of Sakha (Yakutia) in the period from 2016 to 2020. Data processing and antibiotic resistance analysis were performed via AMRcloud online platform (Beta version, 05.07.2022). **Results.** Of the pathogens isolated in the burn wounds, *Staphylococcus aureus* accounted for 26.1%, *Enterococcus faecalis* – 24.5%, *Pseudomonas aeruginosa* – 11.9%, *Klebsiella pneumoniae* – 9.4%, *Acinetobacter baumannii* – 7.9% and *Escherichia coli* – 6.0%. The susceptibility of isolated microbial strains to carbapenems and high resistance to cephalosporins and fluoroquinolones were established. **Conclusion.** Microbial strains detected in burn patients indicate infection of wounds with representatives of nosocomial flora and their high resistance to commonly used antibiotics.

Keywords: thermal injury, burn wound, microflora of wounds, nosocomial infection, antibiotic resistance

Received 6 December 2022. Revised 8 December 2022. Accepted 27 December 2022

For citation: Potapov A.F., Shamaeva S.H., Ivanova A.A., Semenova S.V. Wound microflora and antibiotic resistance in burn patients. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:81–85. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-81-85

Corresponding author: Alexander F. Potapov, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care with a course of emergency medicine of the Faculty of Postgraduate Training of Doctors of the Medical Institute of the North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov (27 Oyunsky str., Yakutsk, 677000, Republic of Sakha (Yakutia), Russia); ORCID: 0000-0003-2087-543X; e-mail: potapov-paf@mail.ru

Термические ожоги являются тяжелой травмой, характеризуются высоким уровнем летальности и инвалидизации пострадавших. По данным Всемирной

организации здравоохранения, в мире ежегодно происходит 180 000 смертей в результате ожогов [1]. В России, по данным Федеральной службы государственной

статистики, в 2020 г. зарегистрировано 211 200 обращений по поводу термических и химических ожогов, или 144,2 случая на 100 000 населения [2].

При обширных и глубоких ожогах присоединение и генерализация инфекции является основной причиной смерти пациентов [3, 4]. При тяжелой ожоговой болезни на 7–14-е сутки после травмы наблюдается колонизация ран микроорганизмами, ее диссеминация и развитие ожоговой септикотоксемии [5, 6]. В этот период важным компонентом лечения становится антибактериальная терапия. При этом неправильное назначение антибиотиков может способствовать развитию резистентности к антибиотикам, ускорять развитие мультирезистентных микробов, а также негативно влиять на экосистему отделения интенсивной терапии [7]. Поэтому решающее значение в выборе противомикробного препарата имеют результаты микробиологического исследования и данные локальной антибиотикорезистентности [8, 9, 10].

Цель исследования – изучение этиологической структуры микробиоты ран и ее чувствительности к антибактериальным препаратам у пострадавших с термическими ожогами в специализированных отделениях для пациентов с термической травмой.

Материалы и методы

Проведен анализ результатов микробиологических исследований 2354 проб отделяемого раневой поверхности у 1581 пострадавшего с тяжелыми термическими ожогами, лечившихся в ожоговом отделении и в отделении анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии № 1 (ОАРИТ № 1) государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская больница № 2 – Центр экстренной медицинской помощи (ГБУ РС(Я) «РБ № 2-ЦЭМП») в период с 2016 по 2020 г.

Исследование проводилось у пострадавших с ожоговой болезнью, которая развилась вследствие ожогов II–III степени и площадью поражения кожных покровов более 10% поверхности тела. Средняя длительность пребывания пациентов в ОАРИТ № 1 составила $5,1 \pm 2,3$ койко-дня, всего в ожоговом отделении – $53,3 \pm 21,3$ койко-дня.

Клинические категории чувствительности изолятов к антимикробным препаратам (АМП) определяли

Таблица 1

Группы микроорганизмов, выделенные у больных с термической травмой

Группы	Количество	
	n	%
<i>Staphylococcus spp.</i>	463	26,1
<i>Enterococcus spp.</i>	486	27,4
Грам(-)неферментирующие бактерии	439	24,7
<i>Enterobacterales</i>	383	21,6

на основании пограничных значений, установленных Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST).

Идентификацию вида микроорганизмов и определение чувствительности к АМП проводили на автоматическом анализаторе Phoenix (BD, США). Для определения продукции бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) использовали «метод двойных дисков».

Обработка данных и анализ антибиотикорезистентности выполнены на онлайн-платформе AMRcloud (версия Beta, 05.07.2022).

Результаты исследования

За анализируемый период из 2354 исследуемых проб количество проб с ростом составило 1444 (61,4%), без роста – 910 (38,6%). Всего выделено 1773 микроорганизма, которые встречались в виде монокультуры в 1182 (81,8%) пробах, в составе 2-компонентных ассоциаций – в 197 (13,6%), 3-компонентных – в 63 (4,3%) и 4-компонентных – в 2 (0,3%) пробах.

Исследования показали, что спектр микроорганизмов, выделенных с раневой поверхности пациентов с термическими ожогами, характеризуется полиэтиологичностью, где удельный вес стафилококков составил 26,1%, энтерококков – 27,4%, грамотрицательных неферментирующих бактерий – 24,7% и энтеробактерий – 21,6% (табл. 1).

В структуре выделенных возбудителей доля *Staphylococcus aureus* составила 26,1% ($n = 463$), *Enterococcus faecalis* – 24,5% ($n = 435$), *Pseudomonas aeruginosa* – 11,9% ($n = 212$), *Klebsiella pneumoniae* – 9,4% ($n = 168$), *Acinetobacter baumannii* – 7,9% ($n = 141$), *Escherichia coli* – 6,0% ($n = 107$). Доля остальных возбудителей составила менее 5% и представлена *Acinetobacter spp.*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecium* и *Enterobacter spp.* (рис. 1).

Анализ динамики структуры возбудителей за период 2016–2020 гг. показал, что заметно изменился удельный вес *Staphylococcus aureus* – снизился с 31,1 до 14,4% и *Acinetobacter baumannii* – повысился с 4,5 до 16%. Удельный вес других возбудителей варьировал (рис. 2).

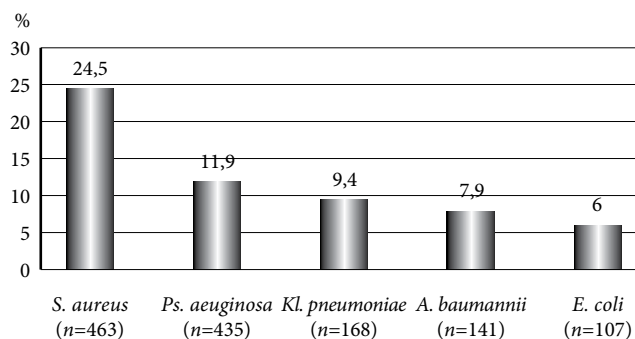


Рис. 1. Виды микроорганизмов, выделенных у больных с термическими ожогами (%).

Изучение чувствительности наиболее значимых микроорганизмов показало следующее. Сохраняется высокая чувствительность *Staphylococcus aureus* к клиндамицину – 100% ($n = 448$) и линезолиду – 100% ($n = 463$), рифампицину – 98,3% ($n = 405$). Резистентность к остальным антибактериальным препаратам составила от 44,2% и выше (рис. 3).

При этом за 2016–2020 гг. доля метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* составила соответственно по годам: 61,3% (ДИ:53,62–68,63), 48% (ДИ:40,1–55,9), 15,2% (ДИ:8,24–26,52), 30% (ДИ:18,07–45,43) и 30% (ДИ:16,66–47,88).

Чувствительность к препаратам, обладающим активностью к *Pseudomonas aeruginosa*, крайне низка и составила к амикацину 42,1% ($n = 88$), меропенему 24,8% ($n = 39$). Резистентность к остальным антибиотикам была значима выше и составила

к азтреонаму – 75,5% ($n = 34$), цефепиму – 74,3% ($n = 145$), цефтазидиму – 73,3% ($n = 151$), ципрофлоксацину – 78,5% ($n = 132$) и имипенему – 70,5% ($n = 141$) (рис. 4).

Изучение чувствительности *Klebsiella pneumoniae* к антибиотикам показало ее чувствительность к имипенему, амикацину и меропенему соответственно у 83,3% ($n = 40$), 68,5% ($n = 111$) и 55,6% ($n = 74$) выделенных штаммов. Устойчивость изолятов к норфлоксацину составила 73,3% ($n = 55$), ципрофлоксацину – 86,3% ($n = 57$), цефалоспорином (цефтриаксону, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму) – на уровне 81,4–86,6%, амоксициллину-клавуланату – 89,7% ($n = 148$) (рис. 5).

Высокий уровень резистентности к цефалоспорином 3–4-го поколения был обусловлен продукцией БЛРС, который выявлялся за изучаемый период в 58,4–78,6% случаев.

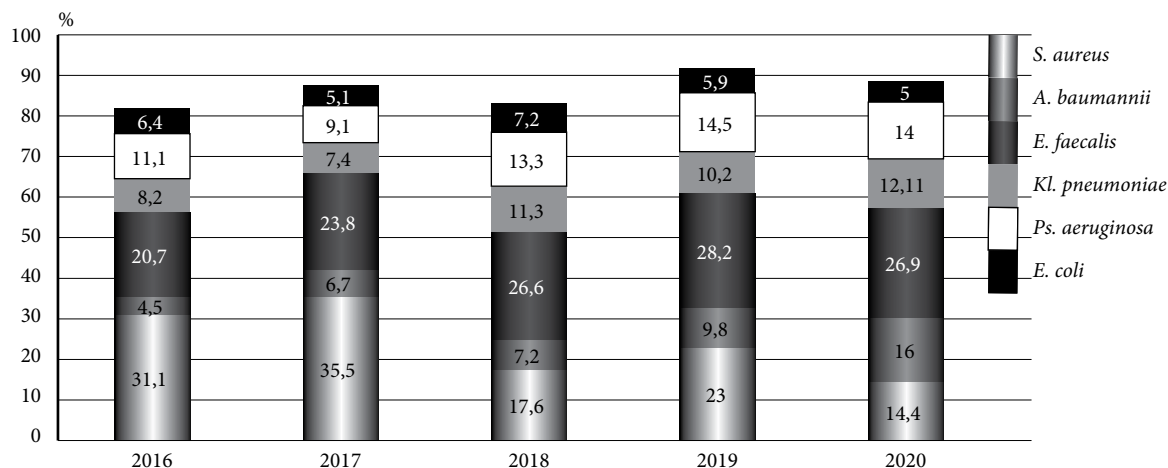


Рис. 2. Динамика этиологической структуры выделенных возбудителей за 2016–2020 гг. (%).

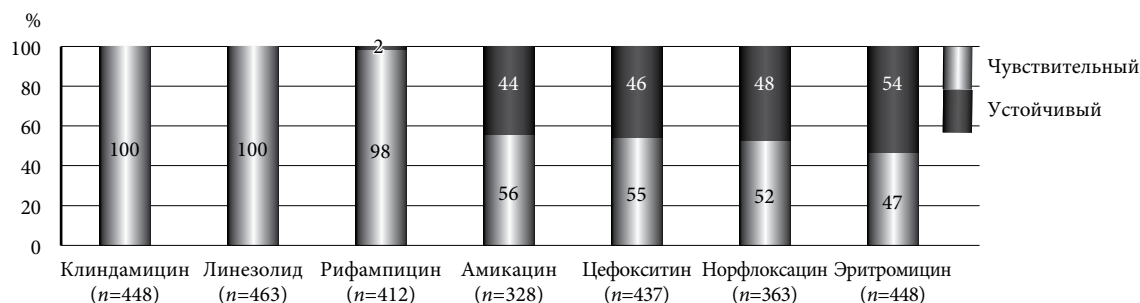
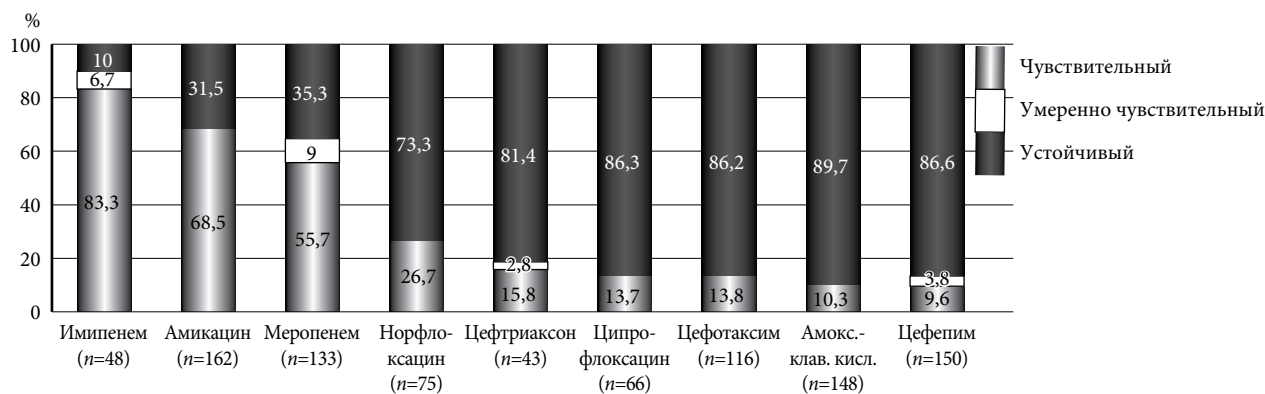
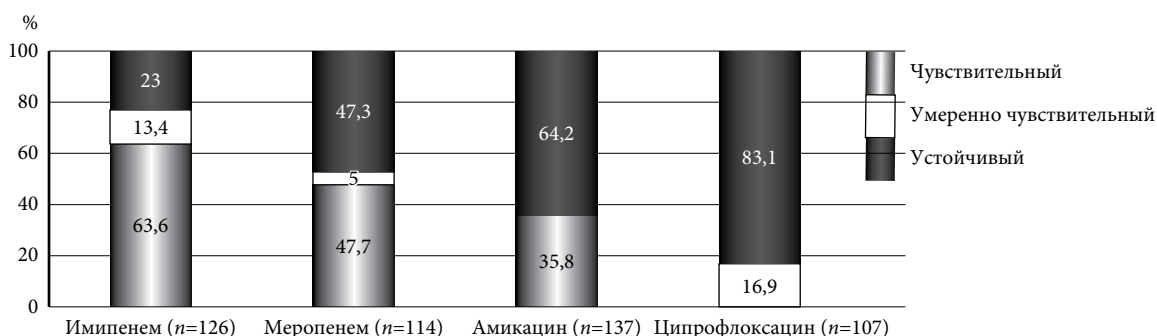


Рис. 3. Чувствительность *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам (%).



Рис. 4. Чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* к антибактериальным препаратам (%).

Рис. 5. Чувствительность *Klebsiella pneumoniae* к антибактериальным препаратам (%).Рис. 6. Чувствительность *Acinetobacter baumannii* к антибактериальным препаратам (%).

Чувствительность *Acinetobacter baumannii* к имипенему, меропенему и амикацину выявлена соответственно у 63,4% ($n = 80$), 47,3% ($n = 54$) и 35,7% ($n = 49$) штаммов. Устойчивость к ципрофлоксацину составила 83,1% ($n = 89$) (рис. 6).

Чувствительность выделенных штаммов *Escherichia coli* к имипенему составила 96,4% ($n = 27$), меропенему – 78,8% ($n = 67$) и амикацину – 69,6% ($n = 71$). Устойчивость к фторхинолонам, цефалоспорином и амоксициллину-клавуланату превышала 60%. Заметим, что 58,7% выделенных штаммов *Escherichia coli* являлись продуцентами БЛРС.

Обсуждение полученных данных

Представленный в нашем исследовании микробный спектр ожоговых ран свидетельствует об инфицировании представителями внутрибольничной микрофлоры стафилококками, неферментирующими грамотрицательными бактериями и энтеробактериями. Указанные микроорганизмы характерны для многих ожоговых центров, и полученные результаты не противоречат данным других исследований [4, 6–9].

В структуре микроорганизмов сохраняется доминирующая роль *Enterococcus faecalis*, удельный вес которого в динамике не меняется. Среди негативных тенденций отмечается рост доли *Acinetobacter baumannii*, утрата эффективности антибиотиков, активных в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, а также фторхинолонов и цефалоспоринов в лечении *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*.

Проведенное исследование указывает на необходимость дальнейшего микробиологического мониторинга возбудителей инфекции у больных с ожоговой болезнью и выявления механизмов резистентности к АМП.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют об инфицировании ран у пациентов с термическими ожогами в основном представителями внутрибольничной микрофлоры, которые обладают высокой устойчивостью к большинству используемых антибактериальных препаратов. Микробиологический мониторинг и определение механизмов резистентности у ожоговых пациентов позволяют выявлять их локальные особенности и оптимизировать антибактериальную терапию.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании работы из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – АФП, СХШ.

Сбор и обработка материала – АФП, СХШ.

Статистическая обработка – АФП, СХШ.

Написание текста – АФП, СХШ, ИАА, СВС

Редактирование – ИАА

Литература / References

1. World Health Organization. Burns, 2018. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> (Accessed Dec. 6, 2022).

2. Федеральная служба государственной статистики. Здравоохранение в России – 2021 г. [Federal State Statistics Service. Healthcare in Russia – 2021 (In Russ.)]. https://gks.ru/bgd/regl/b21_34/Main.htm (дата обращения/access date: 06.12.2022).
3. Zavlin D, Chegiredy V, Boukovalas S, Nia AM, Branski LK, Friedman JD, Echo A. Multiinstitutional analysis of independent predictors for burn mortality in the United States. *Burns Trauma*. 2018;22(6): 24. <https://doi.org/10.1186/s41038-018-0127-y>
4. Барсук А.Л., Ловцова Л.В., Некаева Е.С., Сорокина Ю.А. Современное состояние и перспективы антибиотикопрофилактики у пациентов, перенесших ожоговую травму (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2019;15(1):108–13. [Barsuk AL, Lovtsova LV, Nekaeva ES, Sorokina YuA. The current state and prospects of antibiotic prophylaxis in patients who have suffered a burn injury (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2019;15(1):108–13 (In Russ.)].
5. Клинические рекомендации. Ожоги термические и химические. Ожоги солнечные. Ожоги дыхательных путей. 2020. [Clinical recommendations. Thermal and chemical burns. Sun burns. Burns of the respiratory tract. 2021 (In Russ.)]. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/687_1 (дата обращения: 06.12.2022).
6. Ladhani HA, Yowler CJ, Claridge JA. Burn Wound Colonization, Infection, and Sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2021;22(1):44–8. doi: 10.1089/sur.2020.346
7. Tsolakidis S, Freytag DL, Dovert E, Alharbi Z, Kim B-S, Houschyar KS, Reumuth G, Schafer B, Rennekampff H-O, Pallua N, Grieb G. Infections in Burn Patients: A Retrospective View over Seven Years. *Medicina*. 2022;58:1066. doi: 10.3390/medicina58081066
8. Glik J, Labus W, Kitala D, Mikus-Zagorska K, Roberts CD, Nowak M, Kasperczyk A, Kawecki M. A 2000 patient retrospective assessment of a new strategy for burn wound management in view of infection prevention and treatment. *Int Wound J*. 2018;15(3):344–9. doi: 10.1111/iwj.12871
9. Сабирова Е.В., Гординская Н.А., Абрамова Н.В., Карасева Г.Н., Савочкина Ю.А. Микроэкология ожоговых стационаров. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;62(5):310–2. [Sabirowa EV, Gordinskaya NA, Abramova NV, Karaseva GN, Savochkina YuA. The micro-ecology of burn hospitals. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(5):310–2 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-5-310-312
10. Houschyar KS, Tapking C, Duscher D, Wallner C, Sogorski A, Rein S, Pforringer D, Reumuth G, Weissenberg K, Grieb G, Branski LK, Siemers F, Behr B, Lehnhardt M. Antibiotic treatment of infections in burn patients – a systematic review. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2019;51(2):111–8. doi: 10.1055/a-0802-8882

УДК 616.094

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-86-89



Видовой состав грибов рода *Candida* у людей с патологией кишечника и здоровых людей

В.В. Прокопьев^{1,2}, Ю.В. Винникова¹, Е.А. Передельская², Т.В. Сафьянова²¹ Клинико-диагностическая лаборатория «Здоровье», Барнаул, Россия² Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

Цель. Выявление разницы обнаружения грибов рода *Candida* и их видового состава у людей с патологией желудочно-кишечного тракта и у здоровых людей, проходящих плановый медицинский осмотр. **Материалы и методы.** В качестве материала для исследования взят биологический материал пациентов, проходящий плановый медицинский осмотр (контрольная группа), и пациентов с патологией кишечника. После обнаружения колоний грибов на среде Сабуро идентификация проводилась при помощи хромогенного агара. Часть штаммов была идентифицирована при помощи масс-спектрометрии. **Результаты.** В результате проведенного исследования обнаружено, что частота встречаемости грибов рода *Candida* более чем в три раза выше у пациентов с патологией кишечника. В видовом составе также встречаются отличия между исследованными группами. Так, *Candida krusei* встречается более чем в 5 раз чаще в случае патологии ЖКТ. **Заключение.** Различия в частоте встречаемости и видовом составе грибов рода *Candida*, выделенных из кишечника, требует большего внимания к диагностике заболеваний кишечника и выбору антимикотической терапии.

Ключевые слова: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, микрофлора кишечника, патология кишечника

Поступила в редакцию: 11.12.22. Получена после доработки: 26.12.22, 27.12.22, 28.12.22, 11.01.23. Принята к печати: 24.01.23

Для цитирования: Прокопьев В.В., Винникова Ю.В., Передельская Е.А., Сафьянова Т.В. Видовой состав грибов рода *Candida* у людей с патологией кишечника и здоровых людей. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:86–89. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-86-89

Для корреспонденции: Прокопьев Василий Валерьевич – канд. биол. наук, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета; врач-бактериолог ООО КДЛ «Здоровье» (656057, г. Барнаул, Балтийская ул., 40а); ORCID: 0000-0001-7151-3899; тел. +7 (913) 262-42-47; e-mail: prokopievvv@mail.ru

Species composition of genus *Candida* in healthy people and people with intestinal pathology

V.V. Prokopiev^{1,2}, Yu.V. Vinnikova¹, E.A. Peredelskaya², T.V. Safyanova²¹ Bacteriological laboratory "Health", Barnaul, Russia; ² Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Aim. To identify the difference in the detection of yeasts of the genus *Candida* and their species composition in people with gastrointestinal pathology and in healthy people undergoing a regular medical checkup. **Materials and methods.** Clinical trial material comprised biological material from patients undergoing regular medical checkup (control group) and patients with intestinal pathology. Following the detection of fungal colonies on Sabouraud medium, identification was carried out using chromogenic agar. A number of strains were identified via mass spectrometry. **Results.** The study results show that the frequency of occurrence of the genus *Candida* is more than three times higher in patients with intestinal pathology. In addition, the study groups revealed the differences in the species composition. *Candida krusei* is more than 5 times more common in cases of gastrointestinal pathology. **Conclusion.** Due to the differences in the frequency and species composition of yeasts of the genus *Candida* isolated from the intestine, specialists should diagnose intestinal diseases and choose antimycotic therapy in a meticulous way.

Keywords: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, intestinal microflora, intestinal pathology

Received 11 December 2022. Revised 26, 27, 28 December 2022. 11 January 2023. Accepted 24 January 2023

For citation: Prokopiev V.V., Vinnikova Yu.V., Peredelskaya E.A., Safyanova T.V. Species composition of genus *Candida* in healthy people and people with intestinal pathology. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:86–89. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-86-89

For corresponding: Vasily V. Prokopiev, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor of Epidemiology, Microbiology and Virology Department, Altai State Medical University; bacteriologist of Bacteriological Laboratory "Zdorovie" (40A, Baltiyskaya str., Barnaul, 656057, Russia); ORCID: 0000-0001-7151-3899; phone: +7 (913) 262-42-47; e-mail: prokopievvv@mail.ru

Микозы, вызываемые грибами рода *Candida*, встречаются в практике клиницистов практически всех врачебных специальностей и могут поражать все биотопы организма человека. Представители рода *Candida* в отличие от других микромицетов, обитающих

в различных биотопах организма человека, не являются убиквитарными грибами и обнаруживаются в окружающей среде нечасто. В большинстве случаев их жизнедеятельность связана с организмом человека или животных [1]. Таким образом, грибы рода *Candida*

составляют значительную часть нормальной микрофлоры человека [2, 3], и их роль в возникновении конкретного заболевания иногда вызывает сомнения. В работе [4] исследовалась микрофлора кишечника и было обнаружено, что грибы рода *Candida* встречаются почти у 50% жителей Германии. Причем доказательством этиологической роли грибов является не только концентрация, но и видовой состав.

Изучение оси «кишечник–мозг» позволило предположить участие *Candida krusei* в патогенезе расстройств аутистического спектра [5].

На экспериментальных животных моделях показана важная роль *Candida tropicalis* в развитии заболеваний кишечника [6, 7].

В работе [8] описывается роль *Candida glabrata* как возможного участника в развитии болезни Крона.

Таким образом, роль грибов рода *Candida* в патологии кишечника общепринята и встречается довольно часто [9]. Грибковое поражение различных отделов кишечника встречается как у иммунокомпетентных, так и у иммунокомпрометированных пациентов [10, 11]. По данным авторов работы [12], микозы пищеварительного тракта встречаются у 2% больных, преимущественно с дефектами иммунной системы, и чаще всего связаны с грибами рода *Candida*, реже – нитчатыми грибами и возбудителем гистоплазмоза.

Целью нашей работы было исследование отличия в частоте встречаемости, концентрации и в видовом составе грибов рода *Candida* в кишечнике человека в случае патологии желудочно-кишечного тракта и у людей без патологии кишечника.

Материалы и методы

На базе КДЛ «Здоровье» г. Барнаула нами было исследовано 82 образца кала на дисбактериоз от пациентов с предварительными диагнозами: синдром раздраженного кишечника, синдром избыточного бактериального роста, иммунодефицит неясной этиологии, дивертикулит и др.

В качестве контрольной группы было исследовано 610 образцов кала от клинически здоровых людей, проходивших плановый медицинский осмотр.

Патологический материал засеивался на среду Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом и инкубировался при 35 °С в течение 72 часов. Выросшие

колонии пересевались на хромогенный агар (HiCrome™ *Candida* Differential Agar) для грибов *Candida* фирмы HiCrome (Индия) и инкубировались при 35 °С в течение 48 часов. Видовая принадлежность грибов оценивалась согласно рекомендациям производителя: *C. albicans* образует гладкие зеленые колонии, *C. krusei* – пурпурного цвета расплывчатые колонии, *C. tropicalis* – синие или синие с металлическим оттенком выпуклые колонии, *C. glabrata* – колонии от кремового до белого цветов.

Для более точной идентификации часть штаммов была идентифицирована при помощи масс-спектрометра Microflex производителя Bruker Daltonik GmbH & Co. KG (Германия), с уникальным программным обеспечением MALDI Biotyper, использующим референтскую базу данных (содержит более 2500 видов МО и 7800 штаммов).

Вычисление доверительных интервалов произведено с помощью программы GraphPad QuickCalc. Для определения доверительных интервалов использовался метод, разработанный Агрести и Куллом, который они называют модифицированным методом Вальда. 95% ДИ рассчитывается с использованием следующего уравнения:

$$p' = \frac{\# \text{ "successes" } + 2}{\# \text{ of experiment } s + 4} = \frac{S + 2}{N + 4}$$

$$p' - 1,96 \cdot \sqrt{\frac{p'(1-p')}{N+4}} \quad \text{to} \quad p' + 1,96 \cdot \sqrt{\frac{p'(1-p')}{N+4}}$$

Значения 2 и 4 на самом деле равны $z^{2/2}$ и z^2 , где z – критическое значение из распределения Гаусса. Поскольку 95% всех значений нормального распределения лежат в пределах 1,96 стандартного отклонения от среднего, $z = 1,96$ (округляем до 2,0) для 95% доверительных интервалов.

Результаты исследования

На основе полученных данных (табл. 1) видно, что частота встречаемости грибов рода *Candida* в случае патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) более чем в 3 раза больше, чем у клинически здоровых людей, причем высеваемость различных видов неодинакова. Встречаемость *Candida krusei* в 5,8 раза выше в случае патологии ЖКТ, тогда

Таблица 1

Частота обнаружения грибов рода *Candida* при патологии ЖКТ и у клинически здоровых людей

Вид	Пациенты с патологией ЖКТ		Контрольная группа	
	кол-во из 82	%	кол-во из 610	%
<i>Candida albicans</i>	21	25,61	54	8,85
<i>Candida krusei</i>	7	8,54	9	1,48
<i>Candida tropicalis</i>	7	8,54	13	2,13
<i>Candida glabrata</i>	2	2,44	11	1,80
<i>Candida spp.</i>	37	45,12	87	14,26

Таблица 2

Концентрация грибов рода *Candida* при патологии ЖКТ и у клинически здоровых людей

	Пациенты с патологией ЖКТ	Контрольная группа
Концентрация (КОЕ/мл)	2×10^6	8×10^2

как обнаружение *Candida glabrata* превышает норму лишь в 1,4 раза.

Другим важным моментом является то, что в среднем концентрация грибов в случае патологии 2,5 раза выше группы клинически здоровых людей (табл. 2).

Из данных таблицы 1 очевидно, что частота встречаемости дрожжей рода *Candida* у лиц с патологией ЖКТ более чем в три раза превышает их количество у лиц с отсутствием клинической симптоматики органов ЖКТ. Также отмечаются существенные отличия видового состава грибов в случае патологии кишечника по сравнению с контрольной группой. Так, частота встречаемости различных видов грибов рода *Candida* существенно отличается – от 1,4% *Candida glabrata* до 5,8% *Candida krusei*.

Другим аспектом, обнаруженным в ходе нашей работы, было отличие в концентрации микромицетов у группы пациентов с патологией ЖКТ в отличие от группы здоровых людей. Концентрация грибов в случае патологии кишечника 2,5 раза выше концентрации в контрольной группе, что делает важным количественное определение грибов кишечника.

Обсуждение полученных данных

Несмотря на то что *Candida spp.* вызывает более 400 000 системных микозов ежегодно [13] и является причиной 70% всех микозов человека [14], на сегодня исследованию грибкового компонента микрофлоры кишечника уделяется недостаточно внимания.

Грибы рода *Candida* обладают широким спектром факторов патогенности, основными из которых являются секретируемая аспартил-протеаза, фосфолипаза и гемолизин [15]. Способность *Candida spp.* формировать биопленку, где основным элементом внеклеточного матрикса являются 1,3-глюканы, способствует устойчивости к ряду антимикотических препаратов, блокируя их проникновение к клеткам грибов [13]. Более того, в условиях биопленки возникают гипоксические условия, активирующие гены метаболизма жирных кислот и эргостерола и др., что позволяет клеткам пережить голодание и окислительный стресс [11]. Еще одной, чрезвычайно важной особенностью грибов рода *Candida* является их способность к тигмотропизму – созданию биопленки на абиотических поверхностях с дальнейшим ее распространением в тканях организма хозяина [15]. Вышеописанные факторы являются лишь небольшой частью патогенетического потенциала грибов рода *Candida*, и, несмотря на наличие существенных достижений в диагностике и лечении кандидозов, данная патология до сих пор остается в списке наиболее встречающихся заболеваний человека.

Обнаружение достоверных отличий в частоте встречаемости грибов рода *Candida* у пациентов с патологией ЖКТ говорит о значимости данных микроорганизмов и требует большего внимания в диагностике патологии кишечника.

На сегодня различные виды грибов рода *Candida* рассматриваются как возможные этиологические агенты заболеваний ЖКТ и ряда внекишечных заболеваний. Показанные в нашей работе различия в частоте высеваемости различных видов могут свидетельствовать о недостаточности дородовой диагностики кандидозов.

Полученные в нашей работе данные требуют дальнейшего изучения, но выявление наиболее частой встречаемости *Candida krusei* предполагает более осторожное применение антимикотических препаратов группы триазолов (флуконазол, итраконазол) в связи с природной устойчивостью этого вида грибов рода *Candida* к данной группе препаратов.

Заключение

Данные, полученные в нашем исследовании, показали существенные различия в частоте встречаемости грибов и видовом составе рода *Candida* у здоровых людей и у людей с патологией кишечника. Данные отличия в совокупности с новыми знаниями о биологии грибов рода *Candida* и их взаимоотношениях с организмом человека позволяют по-другому взглянуть на проблему кандидозов кишечника в их лечении и прогнозе.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Разработка концепции и дизайна – ПБВ, ВЮВ, СТБ

Сбор и обработка материала – ПБВ, ПЕА

Статистическая обработка – ПЕА

Написание текста – ПБВ

Редактирование – СТБ, ВЮВ

Литература / References

1. Kumamoto CA, Gresnigt MS, Hube B. The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine. *Curr Opin Microbiol.* 2020;56:7–15. doi: 10.1016/j.mib.2020.05.006
2. Neville BA. *Candida albicans* commensalism in the gastrointestinal tract *FEMS Yeast Research.* 2015;7(15).
3. Hallen-Adams HE, Suhr MJ. Fungi in the healthy human gastrointestinal tract. *Virulence.* 2017 Apr 3;8(3):352–8. doi: 10.1080/21505594.2016.1247140
4. Hauss H, Hauss R. Heien im Derm die heimliche gefahr. *Haufman Pediatric.* 1994;6(1):56–7.

5. Kantarcioglu AS, Kiraz N, Aydin A. Microbiota-Gut-Brain Axis: Yeast species isolated from stool samples of children with suspected or diagnosed autism spectrum disorders and in vitro susceptibility against nystatin and fluconazole. *Mycopathologia*. 2016;181(1-2):1-7. doi: 10.1007/s11046-015-9949-3
6. Di Martino L, De Salvo C, Buella KA, Hager C, Ghannoum M, Osme A, Buttr L, Bamias G, Pizarro TT, Cominelli F. *Candida tropicalis* infection modulates the gut microbiome and confers enhanced susceptibility to colitis in mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2022;13(3):901-23. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.11.008
7. Hirayama T, Miyazaki T, Ito Y, Wakayama M, Shibuya K, Yamashita K, Takazono T, Saijo T, Shimamura S, Yamamoto K, Imamura Y, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S, Mukae H. Virulence assessment of six major pathogenic *Candida* species in the mouse model of invasive candidiasis caused by fungal translocation. *Sci Rep*. 2020;10(1):3814. doi: 10.1038/s41598-020-60792-y
8. Liguori G, Lamas B, Richard ML, Brandi G, da Costa G, Hoffmann TW, Di Simone MP, Calabrese C, Poggioli G, Langella P, Campieri M, Sokol H. Fungal dysbiosis in mucosa-associated microbiota of Crohn's disease patients. *J Crohns Colitis*. 2016;10(3):296-305. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjv209
9. Логинов А.С., Парфенов Н.И. Болезни кишечника. М.: Медицина, 2000. 631 с. [Loginov AS, Parfenov AI. Intestine diseases: a Guide for physicians. Moscow: Medicine, 2000 (In Russ.)].
10. Hoshika K, Jida M, Mine H. Esophageal *Candida* infection and adherence mechanisms in the nonimmunocompromised rabbit G. *Gastroenterol*. 1996;31(3):307-13.
11. Kumar A. Massive upper gastrointestinal bleeding due to *Candida* esophagitis *South Med. J.* 1994;87(6):669-71.
12. Лесовой В.С., Липницкий А.В., Очкурова О.М. Микозы пищеварительного тракта. *Проблемы медицинской микологии*. 2004;6(2):19-23 [Lesovoj VS, Lipnickij AV, Ochкурова OM. Mycoses of the gastrointestinal tract. *Problems in Medical Mycology*. 2004;6(2):19-23 (In Russ.)].
13. Mukaremera L, Lee KK, Mora-Montes HM, Gow NAR. *Candida albicans* yeast, pseudohyphal, and hyphal morphogenesis differentially affects immune recognition. *Front Immunol*. 2017;7(8):629. doi: 10.3389/fimmu.2017.00629
14. Morad HOJ, Wild AM, Wiehr S, Davies G, Maurer A, Pichler BJ, Thornton CR. Pre-clinical imaging of invasive candidiasis using immunoPET/MR. *Front Microbiol*. 2018;23(9):1996. doi: 10.3389/fmicb.2018.01996
15. Talapko J, Juzbasic M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, Skrlac I. *Candida albicans* – the virulence factors and clinical manifestations of infection. *J Fungi (Basel)*. 2021;22(7):79. doi: 10.3390/jof7020079
16. Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. Biofilm Matrix-ome: Extracellular components in structured microbial communities. *Trends Microbiol*. 2020;28(8):668-81. doi: 10.1016/j.tim.2020.03.016

УДК 613.22-053.5

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-90-93



Оценка стереотипов питания, физического развития и заболеваемости детей младшего школьного возраста

Е.А. Ткачук^{1,2,3}, Н.Э. Глобенко^{1,2}¹ Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия² Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований, Ангарск, Россия³ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия

Цель: изучить взаимосвязь физического развития со стереотипами питания у младших школьников. **Материалы и методы.** Методом сплошной выборки в течение 3-х лет были обследованы 266 детей. Исследование стереотипов питания проводилось путем анкетирования родителей. Физическое развитие оценивалось по основным антропометрическим показателям с определением соматотипа и гармоничности развития. Заболеваемость изучали по индивидуальным картам развития путем выкопировки данных. **Результаты.** В питании младших школьников преобладают углеводы и снижено количество белок- и кальцийсодержащих продуктов. Физическое развитие большей части детей дисгармоничное за счет дефицита массы тела (82%) и избытка массы (8%). У 24% детей имеется нарушение осанки, у 15 и 3% – кариес и эндемический зоб, 45% более 4 раз в год переносят острые респираторные инфекции. **Заключение.** Стереотипы питания младших школьников характеризуются несбалансированным питанием, что способствует негармоничному развитию, а также влияет на снижение общей сопротивляемости организма.

Ключевые слова: младшие школьники, стереотип питания, заболеваемость, физическое развитие

Поступила в редакцию: 14.10.22. Получена после доработки: 04.12.22. Принята к печати: 22.12.22

Для цитирования: Ткачук Е.А., Глобенко Н.Э. Оценка стереотипов питания, физического развития и заболеваемости детей младшего школьного возраста. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:90–93. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-90-93

Для корреспонденции: Глобенко Наталья Эдуардовна – аспирант Восточно-Сибирского института медико-экологических исследований; ассистент кафедры патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики Иркутского государственного медицинского университета (664058, Иркутская обл., р.п. Маркова, квартал Стрижи, 9–145); ORCID: 0000-0002-8579-1977; e-mail: gl_n95@mail.ru

Evaluating nutrition, physical development and morbidity in primary school-aged children

Е.А. Tkachuk^{1,2,3}, N.E. Globenko^{1,2}¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia; ² East Siberian Institute of Medical and Ecological Research Angarsk, Russia;³ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russia

Aim. To explore the relationship of physical development and nutrition pattern in primary school-aged children. **Materials and methods.** 266 children have been examined for three years by means of the continuous sampling method. In order to study nutrition patterns, the questionnaire method was applied to the parents. Physical development was evaluated according to main anthropometric indicators with the identification of somatotype and degree of harmonious development. Morbidity was studied by extracting data from individual development histories. **Results.** The nutrition of primary schoolers is marked by a prevalence of carbohydrates, while the amount of protein and calcium-containing products is insufficient. The physical development is disharmonious in most cases, due to underweight (82% of children) and excess weight (8%). 24% of children have a postural abnormality, 15% – caries, 3% – endemic goiter, 45% suffer acute respiratory infections more than 4 times a year. **Conclusions.** Nutrition patterns in primary school-aged children are characterized by unbalanced diet, which contributes to disharmonious development and decreases stamina.

Keywords: primary school-aged children, nutrition pattern, morbidity, physical development

Received 14 October 2022. Revised 4 December 2022. Accepted 22 December 2022

For citation: Tkachuk E.A., Globenko N.E. Evaluating nutrition, physical development and morbidity in primary school-aged children. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:90–93. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-90-93

For corresponding: Natalia E. Globenko, Post-graduate student of the East Siberian Institute of Medical and Environmental Research; Assistant of the Department of Pathological Physiology and Clinical Laboratory Diagnostics of the Irkutsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (9–145 Strizhi quarter, Markova settlement, Irkutsk region, 664058, Russia); ORCID: 0000-0002-8579-1977; e-mail: gl_n95@mail.ru

Здоровье детей – приоритетная область социальной политики и здравоохранения. Меняющиеся стереотипы питания оказывают существенное влияние на формирование здоровья и физическое развитие детей [1]. Физическое развитие – важный показатель состояния

здоровья, который достаточно просто отследить и своевременно отреагировать на происходящие в организме ребенка негативные изменения. Физическое развитие и заболеваемость детей зависят от множества факторов, однако питание играет значительную роль в их

формировании [2, 3]. Поэтому изучение питания, физического развития детей не теряет свою актуальность.

Цель исследования состояла в изучении взаимосвязи физического развития со стереотипами питания у младших школьников.

Материалы и методы

Обследованы 266 детей начальных классов, посещавшие МАОУ ЦО № 47 г. Иркутска. Исследование проводилось сплошным методом с ноября 2019 г. (исследованы дети 1–2-го класса – 7–8 лет) до марта 2021 г. (эти же дети в 3–4-го классах – 9–10 лет). В исследование включались дети, которым ранее проводилась оценка питания и антропометрические показатели. Стереотип питания школьников изучался с помощью анкетирования родителей. В анкету входили вопросы о рационе питания детей, частоте потребления основных продуктов питания, что позволило сформировать представление о стереотипах пищевого поведения школьников (табл. 1, 2).

Одновременно были изучены физическое развитие и заболеваемость обучающихся.

Физическое развитие оценивалось по основным антропометрическим показателям (масса тела, рост, окружность грудной клетки) с определением соматотипа и гармоничности развития, а также индекса массы тела (ИМТ). Возрастные нормы определяли по центильным таблицам [4–6].

Заболеваемость оценивали по индивидуальным картам развития (форме 026-у) путем выкопировки данных.

Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ Statistica 10. Показатели представлены в виде $M \pm SEM$. Статистическую

значимость различий признаков, имеющих нормальное распределение, анализировали с помощью T -критерия Стьюдента в доверительном интервале более 95%. В случае ненормального распределения вариационного ряда статистическую значимость различий анализировали с помощью критерия Манна – Уитни. Анализ статистической значимости различий осуществляли с помощью критерия χ^2 . Оценка зависимости между двумя переменными проводилась с применением коэффициента корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты исследования

Исследование стереотипа питания показало, что только $12,4 \pm 0,94\%$ родителей осознанно подходят к рациону питания детей и могут ответить полно на все вопросы, касающиеся потребления ребенком продуктов питания (табл. 3).

Так, $46 \pm 0,19\%$ детей младшего школьного возраста потребляют продукты с большим количеством белка животного происхождения в среднем 3–4 раза в неделю. Из них мясо потребляют $42 \pm 0,02\%$, птицу – $46 \pm 0,19\%$ и яйца – $40 \pm 0,02\%$ ($p < 0,05$).

Морепродукты в пищу редко употребляет $59 \pm 0,18\%$ школьников, из них $33 \pm 0,18\%$ детей не едят морепродукты вообще ($p < 0,05$).

Показано, что $10 \pm 0,11\%$ детей употребляют молоко и молочные продукты очень часто и $37 \pm 0,18\%$ редко. При этом кисломолочные продукты, а также творог, сметану и сыр дети потребляют реже, чем молоко.

Отмечено, что 3–4 раза в неделю $55 \pm 0,14\%$ едят ржаной и пшеничный хлеб и $39 \pm 0,18\%$ употребляют кашу.

Таблица 1

Основные группы пищевых продуктов

Название группы продуктов	Продукты
Белковые продукты	Мясо, птица, яйца
Морепродукты	Рыба, морепродукты
Молочные продукты	Молоко, кисломолочные продукты, сыр, творог, сливочное масло, сметана
Растительного происхождения	Хлеб ржаной и пшеничный, каша, картофель
Содержащие легкоусвояемые углеводы	Шоколад и шоколадные конфеты, выпечка и пироги
Не рекомендуемые диетологами	Колбаса, майонез, чипсы, сухари, сладкие газированные напитки и соки

Таблица 2

Частота употребления продуктов питания

Наименование группы потребления продуктов	Количество употреблений в неделю
Никогда	0
Редко	1–2
Иногда	3–4
Часто	5–6
Очень часто	Больше 7

Таблица 3

Распределение стереотипов питания школьников, %

Название группы продуктов	Никогда (0 раз в неделю)	Редко (1–2 раза в неделю)	Иногда (3–4 раза в неделю)	Часто (5–6 раз в неделю)	Очень часто (больше 7 раз в неделю)
Белковые продукты	5 ± 0,08	36 ± 0,18	46 ± 0,19	8 ± 0,10	5 ± 0,08*
Морепродукты	33 ± 0,18*	59 ± 0,18	6 ± 0,09	2 ± 0,05	-
Молочные продукты	16 ± 0,14	37 ± 0,18	21 ± 0,15	16 ± 0,14	10 ± 0,11
Растительного происхождения	5 ± 0,08	24 ± 0,16	55 ± 0,19	11 ± 0,12	5 ± 0,08*
Содержащие легкоусвояемые углеводы	16,5 ± 0,14	33 ± 0,18	23 ± 0,16	17 ± 0,14	10,5 ± 0,11
Не рекомендуемые диетологами	47 ± 0,19	44 ± 0,19	7 ± 0,10	2 ± 0,05	-

Примечание: * – $p < 0,05$.

Картофель предпочитают потреблять в пищу 1–2 раза в неделю 45 ± 0,19% детей.

Продукты растительного происхождения 3–4 раза в неделю (вместо ежедневно) – 55 ± 0,19% детей.

Легкоусвояемые углеводы потребляют в пищу 1–2 раза в неделю 33 ± 0,18% школьников. Едят сладкую или сдобную выпечку 2–3 раза в неделю 30 ± 0,17% ($p < 0,05$).

Не рекомендуемые диетологами продукты потребляют 44 ± 0,19% детей 1–2 раза в неделю. Такие продукты, как шоколад и шоколадные конфеты, употребляют редко (1–2 раза в неделю) 39 ± 0,18% школьников, 3–4 раза в неделю – 15 ± 0,13%, 5–6 раз в неделю 15 ± 0,13% и больше 7 раз в неделю также ± 0,13 ($p < 0,05$).

Сладкие газированные напитки и соки 1–2 раза в неделю употребляют 55 ± 0,19% школьников, колбасу употребляют 48 ± 0,19%.

Большинство детей не употребляют в пищу майонез – 76 ± 0,15%. Чипсы и сухари не едят 52 ± 0,19%, однако 45% ± 0,19% 1–2 раза в неделю все же их употребляют ($p < 0,05$).

Изучение стереотипов питания показало, что среднестатистический школьник 3–4 раза в неделю употребляет в пищу белковые продукты, такие как мясо, птица и яйца, редко употребляет морепродукты и молочные продукты (1–2 раза в неделю), иногда (3–4 раза в неделю) потребляет фрукты и овощи, редко (1–2 раза в неделю) употребляет легкоусвояемые углеводы (шоколадные конфеты и др.), картофель употребляет 3–4 раза в неделю, макаронные изделия – 1–2 раза в неделю, иногда потребляет полезные сорта хлеба, 1–2 раза в неделю потребляет чипсы.

Несмотря на то что оценка качественных показателей статуса питания не проводилась, исходя из приведенных данных можно предположить, что в питании младших школьников преобладают углеводы и снижено количество белок- и кальцийсодержащих продуктов.

Оценка физического развития школьников показала, что преобладающим типом развития является умеренно дисгармоничный уровень физического развития, который наблюдался у 49 ± 0,19% школьников, у которых дисгармоничность выражается дефицитом массы тела (82%) и избытком массы (8%).

У 45 ± 0,19% детей – гармоничный уровень физического развития. У 6 ± 0,09% детей – резко дисгармоничный уровень развития (в основном за счет дефицита массы тела) ($p < 0,05$).

При рассмотрении соматотипов 58 ± 0,19% детей были отнесены к мезосоматотипу, 36 ± 0,18% – к макросоматотипу и 6 ± 0,09% – к микросоматотипу ($p < 0,05$).

Согласно ИМТ выявлен дефицит массы у 15 ± 0,13% детей, избыток – у 6 ± 0,09% детей.

При оценке заболеваемости выявлено, что у 24 ± 0,16% имеется нарушение осанки, у 15 ± 0,13% и 3 ± 0,06% кариес и эндемический зоб, 45 ± 0,19% более 4 раз в год переносят ОРВИ (данные за последние 3 года). При этом по данным медосмотров 15 ± 0,13% детей имеют 1-ю группу здоровья, 73 ± 0,11% – 2-ю группу здоровья и 10 ± 0,12% – 3-ю группу здоровья ($p < 0,05$).

Обсуждение полученных данных

Полученные нами данные в целом согласуются с результатами других российских исследований. Например, при анализе питания школьников старших классов города Смоленска выявлено, что в рационе 61,2% детей ежедневно или несколько раз в неделю присутствуют хрустящий картофель, чипсы, картофель фри, 44,7% – гамбургеры, хот-доги и т. п., 88,2% – конфеты, 58,8% учащихся ежедневно употребляют сладкие газированные напитки [7]. Несбалансированный углеводный тип стереотипа питания преобладает и у школьников Кемерово, он характеризуется повышенным или преимущественным потреблением высококалорийных продуктов, кондитерских изделий, конфет, сладостей [4]. Установленные стереотипы питания ведут к разбалансированности рациона с дефицитом основных витаминов и микроэлементов и способствуют негармоничному развитию (особенно по массе тела), а также влияют на снижение общей сопротивляемости организма и увеличение частоты острых вирусных заболеваний [8, 9].

Полученные нами данные указывают на необходимость обучения медицинских работников первичного звена, учителей и родителей принципам рационального питания школьников путем разработки учебных

программ и учебных модулей по актуальным вопросам питания и профилактики детского ожирения.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования, статистическая обработка, окончательное утверждение для публикации рукописи – ТЕА

Сбор и обработка материала, написание текста – ТЕА, ГНЭ

Литература / References

1. Еделев Д.А., Лабутина Н.В. Аспекты здорового питания школьников. *Пищевая промышленность*. 2014; 64–6. [Edelev DA, Labutina NV. Aspects of healthy nutrition of schoolchildren. *Russian Journal of Food Industry*. 2014; 64–6 (In Russ.)].
2. Милушкина О.Ю. Физическое развитие и образ жизни современных школьников. *Вестник РГМУ*. 2013;(3):68–71. [Milushkina OY. Physical development and lifestyle of modern schoolchildren. *Bulletin of RSMU*. 2013;(3):68–71. (In Russ.)].
3. Кучма, В.Р. *Морфофункциональное развитие современных школьников* / В.Р. Кучма – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 352 с. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970444085.html> (дата обращения: 08.10.2022). [Kuchma, VR. *Multifunctional development of modern schoolchildren*. Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 352 p. (In Russ.)]. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970444085.html> (Accessed: October 08, 2022)
4. Щелкановцев В.А., Маюрникова Л.А., Зинчук С.Ф. Оценка стереотипов питания школьников и студентов города Кемерово. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2007;1. [Shchelkanovtsev VA, Mayurnikova LA, Zinchuk SF. Assessment of nutrition stereotypes of schoolchildren and students of Kemerovo. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2007;1 (In Russ.)]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-stereotipov-pitaniya-shkolnikov-i-studentov-goroda-kemerovo> (Accessed: July 19, 2020)
5. Кучма В.Р. *Гигиена детей и подростков*. 2-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. [Kuchma VR. *Hygiene of children and adolescents*. Second edition revised and expanded. Moscow: GEOTAR-Media, 2015 (In Russ.)].
6. Калмыкова А.С. *Пропедевтика детских болезней*. 2-е издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. [Kalmykova AS. *Propaedeutics of children's diseases*. 2nd edition. Moscow: GEOTAR-Media, 2018 (In Russ.)].
7. Синельников И.Ю. Влияние школы на состояние здоровья учащихся: стереотипы, реалии, риски. *Отечественная и зарубежная педагогика*. 2016;70–83. [Sinelnikov IY. The influence of school on the health of students: stereotypes, realities, risks. *Russian Journal of Domestic and Foreign Pedagogy*. 2016;70–83(In Russ.)].
8. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Альбицкий В.Ю., Терлецкая Р.Н., Антонова Е.В. Состояние и проблемы здоровья подростков России. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2014;(6):10–4. [Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Al'bickij VY, Terleckaya RN, Antonova EV. The state and problems of adolescent health in Russia. *Russian Journal of Problems of Social Hygiene, Health Care and the History of Medicine*. 2014;(6):10–4 (In Russ.)].
9. Дубровина Ю.А., Плескачевский А.В., Плескачевская Т.А. Самооценка здоровья, питания и образа жизни детей старшего школьного возраста. *Смоленский медицинский альманах*. 2021;2:60–3. [Dubrovina YuA, Pleskachevsky AV, Pleskachevskaya TA. Self-assessment of health, nutrition and lifestyle of children of senior school age. *Smolensk Medical Almanac*. 2021;2:60–3 (In Russ.)]. URL: <https://doi.org/10.37903/SMA.2021.2.13>

УДК 579.61

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-94-99



Анализ показателей качества жизни обучающихся по медицинским специальностям в вузах Сахалинской области

В.В. Кузнецов¹, Е.В. Крукович¹, В.Б. Шуматов¹, Л.В. Транковская¹, А.А. Крукович²¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия² Долинская ЦРБ, Южно-Сахалинск, Россия

Цель: изучить показатели качества жизни (КЖ) и качества жизни, связанного со здоровьем (КЖСЗ), у обучающихся по медицинским специальностям в образовательных организациях высшего образования. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 114 человек в возрасте от 18 до 23 лет, которые были распределены в 2 группы: 1-я группа – 55 человек, обучающиеся по медицинским специальностям (ОМ) в образовательных организациях высшего образования, в том числе в Тихоокеанском государственном медицинском университете и проходящие практическую подготовку в г. Южно-Сахалинске – ОМ, женщины составили 58,2% (32), мужчины 41,8% (23). 2-я группа – 59 человек, обучающихся по немедицинским специальностям (ОНМ) в образовательных организациях высшего образования в Сахалинском государственном университете, г. Южно-Сахалинск, женщины – 50,8% (30), мужчины 49,28% (29). Определено влияние на состояние здоровья социально-экономических факторов, рассчитаны основные индикаторы (предикторы) качества жизни, связанные со здоровьем. **Результаты.** В структуре заболеваний, определяющих 2, 3А группы здоровья, преобладали заболевания класса IX. Болезни системы кровообращения (I00-I99) ОМ – 12%; ОНМ – 24,4%. Последующие рейтинговые места принадлежали заболеваниям классов XI. Заболевания органов пищеварения (K00-K93) составляли 47,8%, офтальмологические заболевания (H00-H59) – 35,5%. Значительное ограничение жизнедеятельности выявлено более чем у 3% респондентов, а 99% респондентов указали на снижение работоспособности. Среди ОМ 1,7% респондентов имели признаки депрессии, их беспокоили боли различной интенсивности (44,5%). Снижение социальной активности в группе ОНМ отмечено у 4% респондентов. **Заключение.** Мониторинг КЖ позволяет разработать многоуровневую балльную систему оценки профилактики нарушений здоровья обучающихся в вузах. На этой основе внесены предложения по изменению менеджмента здорового образа жизни, дополнена модель динамического наблюдения здоровья обучающихся в высших образовательных организациях, имеющих факторы риска нарушения здоровья, разработан индивидуальный маршрут реабилитации и профилактики заболеваний для обучающихся высших учебных заведений на основе изучения КЖ.

Ключевые слова: обучающиеся, качество жизни, качество жизни, связанное со здоровьем, факторы риска

Поступила в редакцию 27.01.23. Получена после доработки 30.01.23. Принята к публикации 04.02.23

Для цитирования: Кузнецов В.В., Крукович Е.В., Шуматов В.Б., Транковская Л.В., Крукович А.А. Анализ показателей качества жизни обучающихся по медицинским специальностям в вузах Сахалинской области. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:94–99. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-94-99

Для корреспонденции: Крукович Елена Валентиновна – д-р мед. наук, профессор, профессор института педиатрии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острькова, 2); ORCID: 0000-0001-6423-2036; e-mail: Bim1964@mail.ru

Analysis of quality of life indicators in medical students in the Sakhalin Oblast

V.V. Kuznetsov¹, E.V. Krukovich¹, V.B. Shumatov¹, L.V. Trankovskaya¹, A.A. Krukovich²¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ² Dolinskaya Central District Hospital, Yuzhno-Sakhalinsk, Russia

Aim. To study the indicators of quality of life (QoL) and health-related quality of life (HRQoL) among medical university students. **Materials and methods.** In total, 114 people aged 18 to 23 years were included in the study. The participants were divided into two groups. Group 1 consisted of 55 medical students (MS) of the Pacific State Medical University undergoing practical training in the city of Yuzhno-Sakhalinsk (Vladivostok, Russia). In this group, male and female respondents accounted for 41.8% (23) and 58.2% (32), respectively. Group 2 included 59 students of non-medical education (NMS) from the Sakhalin State University (Yuzhno-Sakhalinsk, Russia), with 49.28% (29) male and 50.8% (30) female respondents. The effect of socio-economic factors on HRQoL indicators was determined, along with the main predictors in their decrease. **Results.** In the structure of diseases defining the 2nd and 3A health groups, diseases of class IX prevailed. Diseases of the circulatory system (I00-I99) were detected in 12% and 24.4% of MS and NMS, respectively. The diseases of class XI were ranked second. Thus, digestive diseases (K00-K93) accounted for 47.8%, and ophthalmic diseases (H00-H59) accounted for 35.5%. A significant physical dysfunction was identified in more than 3% of respondents; 99% of respondents reported a decrease in working capacity. Among MS, 1.7% of respondents demonstrated signs of depression and suffered from pain of varying intensity (44.5%). A decreased social activity was observed in 4% of NMS respondents. **Conclusion.** The data of QoL monitoring can be used for developing a multi-level scoring system for preventing health disorders among university students. Proposals were made concerning healthy lifestyle management. The model of dynamic monitoring of the health of university students exposed to various risk factors was supplemented. An individual route for rehabilitation and disease prevention for university students was developed based on the study of QoL.

Keywords: students, quality of life, health-related quality of life, risk factors

Received 27 January 2023. Revised 30 January 2023. Accepted 4 February 2023

For citation: Kuznetsov V.V., Krukovich E.V., Shumatov V.B., Trankovskaya L.V., Krukovich A.A. Analysis of quality of life indicators in medical students in the Sakhalin Oblast. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:94–99. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-94-99

Corresponding author: Elena V. Krukovich, Dr. Sci. (Med.), Professor of the Institute of Pediatrics, Pacific State Medical University (2, Ostyakov Ave., Vladivostok, 690002, Russia); ORCID: 0000-0001-6423-2036; e-mail; Bim1964@mail.ru

Состояние здоровья – важная социальная и социально-экономическая ценность в динамично развивающемся свободном обществе. Его оценка складывается с помощью различных методологических и мировоззренческих подходов [1, 2]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определяет понятие «здоровье» как состояние полного физического, душевного и социального благополучия, а не только следствие отсутствия болезней и физических дефектов [3]. Данное определение вызывает наименьшее число возражений и критических замечаний со стороны экспертного сообщества, исследователей медицинского, физиологического, социального и гуманитарного профилей.

Значимым направлением исследований состояния здоровья является оценка качества жизни (КЖ). Интерес к изучению качества жизни, связанного со здоровьем (КЖСЗ), обусловлен возможностью использовать надежный и эффективный метод оценки не только здоровья и благополучия населения, но и эффективности методов лечения (реабилитации), оказания медицинской помощи и в целом системы здравоохранения [4, 5].

Провозглашенный Правительством Российской Федерации рост КЖ в качестве общенациональной идеи является безусловным приоритетом всей государственной политики, а приближение КЖ россиян к параметрам, достигнутым развитыми странами, – ее важнейшей задачей. Чтобы решить эту проблему, необходимо разработать эффективный инструментарий оценки КЖ. Анализ большинства научных подходов к оценке КЖ показывает, что авторы в качестве базовых компонентов выделяют показатели, определяющие среду и систему жизнедеятельности населения.

В настоящее время имеется множество различных моделей и методов расчета КЖ, физического, психического и социального здоровья населения [6]. Факторы, определяющие состояние этих показателей, обычно объединяют в следующие группы: социально-экономические факторы (условия труда, жилищные условия, материальное благосостояние, уровень и качество питания, отдых), экологические и природно-климатические факторы (среда обитания, среднегодовая температура, наличие экстремальных природноклиматических факторов), организационные или медицинские факторы (обеспеченность населения медицинской помощью, качество медицинской помощи, доступность медико-социальной помощи), биологические факторы (возраст, пол, конституция, наследственность) [6].

В настоящей работе предпринята комплексная оценка социально-экономических параметров КЖ и КЖСЗ у обучающихся в высших учебных заведениях Сахалинской области, выявлена частота встречаемости

показателей КЖ, определены наиболее значимые факторы, влияющие на КЖСЗ.

Материалы и методы

На основании информированного согласия в исследовании приняли участие 114 человек в возрасте от 18 до 23 лет, которые были распределены в 2 группы: 1-я группа – 55 человек, обучающиеся по медицинским специальностям (ОМ) в образовательных организациях высшего образования, в том числе обучающиеся ФГОУ ВО ТГМУ Минздрава России и проходящие практическую подготовку в г. Южно-Сахалинске – ОМ, женщины составили 58,2% (32), мужчины 41,8% (23). 2-я группа – 59 человек, обучающиеся по немедицинским специальностям (ОНМ) в образовательных организациях высшего образования во ФГБОУ ВО «Сахалинский государственный университет», г. Южно-Сахалинск, женщины – 50,8% (30), мужчины – 49,28% (29).

Отобраны показатели (индикаторы) оценки сложно-структурированного показателя КЖ в соответствии с общепринятыми 4 критериями уровня здоровья. Оценен второй уровень – групповое здоровье (здоровье социальных и этнических групп) и третий уровень – региональное здоровье (здоровье людей, проживающих на конкретной административно-территориальной единице (области, города, района, страна и т. д.). Индивидуальный уровень здоровья оценивался с использованием показателя – комплексная оценка здоровья с определением группы здоровья, выставленной в результате проведения диспансеризации и профилактических осмотров в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27.04.2021 № 404н и приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26.10.2017 № 869н, и при самооценке. Мы провели сравнительный анализ валидности и рациональности использования различных инструментов изучения самооценки и использовали рекомендуемый ВОЗ русифицированный и валидизированный для использования в Российской Федерации вопросник MOS SF-36, краткая форма MOS SF-12, который валидизирован сотрудниками аналитического сектора Межнационального центра исследования качества жизни в Санкт-Петербурге (1998). По MOS SF-12 критериями оценки физического статуса были: физическая активность (ФА); роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности или ролевое функционирование (РФ); боль или телесная боль; общее здоровье или общее состояние здоровья (ОЗ), а психологического статуса: жизнеспособность или жизнестойкость (ЖС); социальная активность (СА);

эмоциональное функционирование или роль эмоциональных проблем в ограничении жизнедеятельности (ЭФ); психическое здоровье или психический комфорт (ПК). Каждый пункт анкеты MOS SF-12 оценивается по 100-балльной шкале. Учитывая специфику социальной группы для оценки КЖ, нами дополнительно использована комплексная анкета самооценки социально-экономического и медицинского статуса студента вуза, включающая демографический блок, экономический блок, блок условий проживания, блок отношения к своему здоровью и медицинской активности, блок условий обучения.

Результаты количественного анализа изученных параметров представляли в процентах от общего числа респондентов. Статистическая обработка произведена с помощью пакета программ Statistica 10. Анализ статистической значимости различий осуществляли с применением коэффициента корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты исследования

В настоящем исследовании понятие «качество жизни» раскрывается в рамках концепции устойчивого развития Сахалинской области. Мы установили систему факторов, определяющих привлекательность данной территории по уровню КЖ и КЖСЗ, и возможности повышения «притока» медицинских кадров.

Анализ показал, что до поступления для обучения и до начала трудовой деятельности 42,9% респондентов проживали в крупном городе с населением более 500 тыс. человек, наибольшее количество – 59,6% – в группе ОНМ. Большая часть респондентов, 64,4%, проживала в «домашних» условиях, а не в съемном жилье или общежитии. Чаще дома проживали ОНМ, что, вероятно, определило выбор организации для получения образования в Сахалинской области.

Семья имеет большое значение для КЖ, так как именно в семье закладываются и развиваются гигиенические навыки, формируется отношение к здоровью. Из полных семей происходили 61,1% респондентов. Респонденты в группах ОМ и ОПМ чаще проживали с одним поколением родственников в семье (50,9 и 62,8% соответственно). Свои бытовые условия удовлетворительными считали 50% респондентов, 40,9% были частично удовлетворены своими бытовыми условиями, и 9,1% считали свои бытовые условия неудовлетворительными.

Наиболее показательным критерием для оценки КЖ являются денежные доходы. Примерный средний доход домохозяйства (семьи) за предыдущий год (далее доход) в исследуемой группе составлял от 100 до 300 тыс. рублей у 65,5%. Доход в группе ОНМ в 50% случаев был менее 100 тыс. рублей, и только 9,4% из всей группы респондентов указали, что доход в их семье был более 500 тыс. рублей. Анализируя данный фактор, мы выявили, что до 20% ОМ и ОНМ экономят

на питании и предметах первой необходимости, 47,1% указали, что им хватает денег на текущие расходы, но приходится экономить на предметах долговременного использования, 40–50% ОМ и ОНМ хватает денег на питание, но на одежде и развлечениях им приходится экономить. Основой дохода в исследуемых группах были в 44,9% – работа, в 25,7% – помощь родителей, родственников, в 17,9% – стипендия. Важно отметить, что в группе ОМ преобладают респонденты, в основе дохода которых является работа (34,6%).

Нами проанализированы и так называемые «повседневные факторы добровольного выбора», воздействие которых на здоровье человека обусловлено его решением и сознательным выбором. К этим факторам мы отнесли: питание, употребление алкоголя, курение, занятия спортом, обращение к врачу и др. Так, удовлетворены своим питанием и считают его сбалансированным 50,9% участников опроса. Основные причины в группе неудовлетворенных своим питанием респондентов: в 10,3% – недостаточно средств, в 32,7% – отсутствие доступных и комфортных учреждений общественного питания. В 1,8% случаев обучающиеся указали неудобное расписание.

Фактор, определяющий отношение респондентов к своему здоровью, выявил, что проходят ежегодный медицинский осмотр всего 23,9% респондентов и 38,7% проходят медицинский осмотр не каждый год, что соответствует законодательству Российской Федерации.

Проведенный анализ частоты курения показал, что наибольшее количество курильщиков (67,2%) было в группе ОНМ, а некурящих – ОМ. От 58,3 до 86,1% респондентов употребляют алкоголь реже чем один раз в месяц. Более 50% ОМ и ОНМ указали, что занимаются спортом в настоящий момент. Большинство опрошенных регулярно занимаются фитнесом, со средней продолжительностью 1–2 раза в неделю. Причем таких респондентов в группе ОНМ было в 1,3 раза больше, чем в группах ОМ. Анализ по критериям «занятости» и «свободное время» показывает различные виды деятельности: рисование, занятие аниме, просмотр телепередач, компьютерные игры, при этом чтение не занимало ведущих рейтинговых позиций. Достаточный сон не менее 6–8 часов в сутки наблюдается у 54,9% респондентов, а 14,9% отмечают его недостаточность или низкое качество.

С целью дальнейшего анализа 49 социально-экономических параметров мы ранжировали КЖ по 10 признакам с частотой встречаемости 50% и более. В группе ОМ первое ранговое место с частотой встречаемости 74,5% принадлежит фактору отсутствия обращений к врачу (при недомогании, болезненных симптомах), второе (65,5%) – средний доход домохозяйства (семьи) за предыдущий год от 100 до 300 тыс. руб., третье (61,8%) – несбалансированное и нерациональное питание. В группе ОНМ первое ранговое место принадлежит критерию, встречающемуся в 86,1% – употребление алкоголя реже чем один раз в месяц, второе

и третье – проживание в период обучения дома (79,5%) и употребление кофе (одна чашка утром).

Нами проведена оценка состояния здоровья обучающихся в вузах Сахалинской области по данным диспансеризации. Установлено, что в группе ОМ респондентов с группой здоровья 2, 3А было больше, чем в группе ОНМ. Во всех случаях преобладали заболевания класса IX, болезни системы кровообращения (I00-I99) составляли среди ОМ 12,1%, ОНМ – 24,4%.

При анализе состояния здоровья в группе ОМ выявлено, что поступающие в медицинские вузы имеют отклонения в состоянии здоровья и/или заболевания, в том числе и хронические. Так, в группе ОМ 2-я и 3-я группы здоровья встречались в 38,2 и 34,5% соответственно (более 70%), что в дальнейшем приводит к формированию 3А и 3Б групп здоровья. Однако оценка критерия, характеризующего субъективную оценку общего состояния здоровья, показала, что пациенты недооценивают уровень своего здоровья и не занимаются профилактикой и реабилитацией.

Оценка физического здоровья (ФЗ) включала два критерия: оценка физического статуса и физической активности. Анализ критерия РФ подразумевает субъективную оценку респондентом степени ограничения своей повседневной деятельности, обусловленной проблемами со здоровьем и связанное с ними ограничение выполнения своей социальной роли. Оценка данных критериев проводилась по отдельным блокам вопросов. Значительное ограничение жизнедеятельности выявлено более чем у 3% ОНМ, в том числе и при преодолении нескольких пролетов лестницы. В исследуемой группе респонденты в 99% указали на то, что они выполняли меньше работы, чем хотели бы. Ограничения деятельности указали не более 2% ОМ, которые оставили отдельные комментарии, квалифицируя данный вопрос с медицинской точки зрения. Критерий Б дает оценку субъективным болевым ощущениям респондента и характеризует нарушение его привычной, повседневной деятельности за последнее время, связанное с болевыми ощущениями. Анализируя вопрос «Насколько боль влияла на Вашу привычную работу на протяжении последних четырех недель (как на работу вне дома, так и на домашнюю работу)?», определено, что различная интенсивность

боли встречались в группе ОМ в 44,5% случаев, в группе ОНМ – 56,4%.

Критерием оценки психологического статуса по MOS SF-12 был параметр ЖС (характеризует самооценку участником опроса своего жизненного тонуса: бодрость, энергия, жизнерадостность и т. д.) за текущий период. При оценке отмечается прямая связь: чем выше показатель, тем выше отвечающий оценивает свою жизнестойкость, то есть тем больше времени он ощущает себя бодрым и полным сил, жизнерадостным, активным и веселым; 56,4% – в группе ОМ, 70,2% – в ОНМ ответили, что не имели сил вообще.

Показателем, маркирующим уровень взаимоотношений респондента с друзьями, родственниками, коллегами и с другими значимыми за последнее время, является СА. Оценка показателя прямая: чем выше показатель, тем лучше респондент оценивает уровень своих социальных связей, взаимоотношений, взаимодействия с окружающими. В группах ОМ и ОНМ социальная активность составляла 45,5 и 41,4%.

Субъективная оценка ограничения повседневной рабочей и бытовой деятельности зависит от эмоциональной нестабильности респондента, показателей его психического здоровья или психологического комфорта. При оценке психологического статуса по MOS SF-12 самооценка текущего настроения респондента определяется по времени, в течение которого он чувствовал себя спокойным, умиротворенным и счастливым (таб.).

Психологический комфорт наиболее высоким (43,6%) был в группе ОМ, и только 3,9% респондентов отметили, что не испытывают психологического комфорта. Кроме того, сводные данные ответов респондентов на вопрос «Сколько времени на протяжении последних четырех недель Вы были подавлены и печальны?» показал, что 1,7% ОМ имели признаки депрессии.

Нами рассчитаны и ранжированы факторы, влияющие на КЖ и КЖСЗ у обучающихся. В первой группе факторов «Социально-экономические факторы» на КЖ и КЖСЗ влияли (первые три ранговые места): в группе ОМ: примерный средний доход домохозяйства (семьи) за предыдущий год от 100 до 300 тыс. руб. (65,5, $p = 0,999094313$), несбалансированное и нерациональное

Таблица

Оценка психологического статуса в исследуемой группе (ответы респондентов на вопросы, %)

Сколько времени на протяжении последних четырех недель Вы чувствовали себя спокойным и благодушным?							
	<i>n</i>	Все время	Большую часть времени	Значительную часть времени	Некоторое время	Незначительную часть времени	Нисколько по времени
ОМ	55	43,6	9,2	12,7	30,9	3,6	0
ОНМ	59	28,8	50,9	11,9	6,8	1,6	0
Сколько времени на протяжении последних четырех недель Вы были полны сил?							
ОМ	55	43,6	9,2	12,7	30,9	3,6	0
ОНМ	59	28,2	49,5	13,7	6,8	1,8	0

питание ($61,8, p = 0,999202411$), употребление кофе (2–3 чашки в течение дня) ($61,8, p = 0,999202411$). В группе ОНМ: употребление алкоголя реже чем один раз в месяц ($86,1, p = 0,998226607$), проживание в период обучения дома ($79,5, p = 0,99841943$), употребление кофе (одна чашка утром) ($79,5, p = 0,99841943$). Во второй группе – «Социально-биологические факторы»: в группе ОМ: полное отсутствие боли ($55,5, p = 0,99938647$). В группе ОНМ: подавленное состояние некоторое время ($57,6, p = 0,999059254$). В третьей группе факторов – «Организационные или медицинские факторы»: в группе ОМ: отсутствие обращений к врачу (при недомогании, болезненных симптомах) ($74,5, p = 0,998831372$) и не обращение к врачу, самолечение ($53,7, p = 0,999439058$), а в группе ОНМ данные факторы не выявлены. Экологические и природно-климатические факторы в данной исследуемой выборке не оказывали значимого достоверного влияния на КЖ и КЖСЗ.

Обсуждение полученных данных

В исследовании использованы формализованная методология измерения КЖ, построенная на базе объективных и субъективных показателей, рассматриваемых как равнозначные, что дало нам возможность определить стратегические цели, сравнивать эти показатели во времени и пространстве и сконструировать прогнозные критерии. Их условная оптимизация при различного рода климатических, политических и ресурсных ограничениях позволяет определять оптимальные траектории социально-экономического и демографического развития общества. В данной работе исследуемые индикаторы показывают высокую эффективность для оценки состояния КЖ в определенной социальной группе – обучающиеся в вузе [6].

Медицинское образование имеет специфические особенности подготовки и связано со значительными трудовыми затратами, сопряжено с избыточными психоэмоциональными нагрузками [7], когда происходит интенсивное углубление представлений о будущей специальности, ее особенностях, в том числе и связанных со спецификой потенциально конфликтогенных взаимоотношений с пациентами. В настоящее время имеются единичные сведения о влиянии состояния здоровья и КЖ обучающихся в медицинских вузах на качество образовательного процесса и развития феномена профессионального выгорания [8]. Это же касается возрастных, физиологических и психологических особенностей этой категории обучающихся.

Программы обучения по медицинским специальностям в медицинских вузах помимо федерального (обязательного) компонента основной образовательной программы содержат большое количество элективных дисциплин, позволяющих формировать индивидуальную образовательную траекторию, индивидуализация обучения тесно сопряжена с интегрированием научной составляющей в образование и выполнением научно-исследовательской работы. Современные тренды в обществе на повышение качества образования привели

к изменениям образовательного процесса, интенсификации обучения, увеличению учебной нагрузки, что не может не отражаться на состоянии здоровья участников образовательного процесса, особенно обучающихся по медицинским специальностям в медицинских вузах. Исследователи указывают на ухудшение состояния здоровья обучающихся, рост хронических заболеваний, увеличение отклонений психического и физического здоровья, высокую распространенность психоэмоционального «выгорания» и ухудшения КЖ среди студентов медицинских вузов [9–13]. Поэтому вопросы организации профилактической помощи обучающимся с учетом различий в уровнях и структуре заболеваемости, факторов риска, условий жизни остаются недостаточно изученными и приоритетными. Мониторинг и последующий анализ КЖ и КЖСЗ необходимы для принятия оптимальных административно-управленческих, организационных и профилактических решений, направленных на повышение качества оказания медицинской помощи и эффективность обучения.

Заключение

Полученные результаты показывают, что КЖ у ОМ ниже, чем в группе ОНМ, а недооценка состояния здоровья респондентами приводит к отсутствию надлежащего контроля за уровнем своего здоровья, включая профилактические и реабилитационные мероприятия.

Данные мониторинга КЖ позволяют разработать многоуровневую балльную систему оценки профилактики нарушений здоровья обучающихся в Сахалинской области. На этой основе внесены предложения по изменению менеджмента здорового образа жизни, дополнена модель динамического наблюдения здоровья обучающихся в высших образовательных организациях, имеющих факторы риска нарушения здоровья, разработан индивидуальный маршрут реабилитации и профилактики заболеваний для обучающихся высших учебных заведений на основе изучения качества жизни.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: научное исследование выполнено в рамках реализации Соглашения от 30.06.2022 № 2/2022 «О предоставлении из областного бюджета Сахалинской области гранта в форме субсидии образовательной организации высшего профессионального образования, осуществляющей подготовку медицинских работников и фармацевтических работников».

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – KBB, KEB
Сбор и обработка материала – KBB, KEB, КАА
Статистическая обработка – KBB, KEB
Написание текста – KBB, KEB, ТЛВ
Редактирование – ШВБ

Литература / References

1. Бабина В.С. Проблемы здоровья студенческой молодежи. *Молодой ученый*. 2015;11(91):572–5. [Babina VS. Health problems of the student youth. *Young Scientist*. 2015;11(91):572–5 (In Russ.)]. URL: <https://moluch.ru/archive/91/19414/> (дата обращения: 04.02.2023).
2. Горбаткова Е.Ю. Социально-гигиенические аспекты формирования здоровья современной студенческой молодежи. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;4:25. [Gorbatkova EYu. Socio-hygienic aspects of the formation of the health of modern student youth. *Modern problems of science and education*. 2017;4:25 (In Russ.)]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26600> (дата обращения: 04.02.2023).
3. Bombak AE. Self-rated health and public health: acritical perspective. *Front. Public Health*. 2013;1:15. doi: 10.3389/fpubh.2013.00015
4. Wu S, Wang R, Zhao Y, Ma X, Wu M, Yan X, He J. The relationship between self-rated health and objective health status: a population-based study. *BMC Public Health*. 2013;13:320. doi: 10.1186/1471-2458-13-320
5. Спиридонов С.П. Индикаторы качества жизни и методологии их формирования. *Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского*. 2010;10–12(31):208–22. [Spiridonov SP. Indicators of the quality of life and methodology for their formation. *Problems of Contemporary Science and Practice. Vernadsky University*. 2010;10–12(31):208–22 (In Russ.)].
6. Гушчин А.Г. Оценка психофизиологического состояния студентов с использованием разработанных диагностических средств. *Письма в Эмиссия. Оффлайн*. 2017;7:2539. [Gushchin AG. Evaluation of the psychophysiological state of students using the developed diagnostic tools. *The Emissia. Offline letters*. 2017;7:2539 (In Russ.)].
7. Заборина М.А. Педагогическая поддержка студентов первого года обучения в адаптации к образовательному процессу вуза. *Современные исследования социальных проблем*. 2018;2–2:77–83. [Zaborina MA. Pedagogical support for first-year students in their adaptation to the educational process at the university. *Modern Studies of Social Issues*. 2018;2–2:77–83 (In Russ.)].
8. Шестера А.А., Кикю П.Ф., Измайлова О.А., Сухова А.В., Каерова Е.В., Сабирова К.М. Комплексная оценка состояния здоровья студентов-медиков младших курсов. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2018;62(3):126–31. [Shestera AA, Kiku PF, Izmajlova OA, Suhova AV, Kaerova EV, Sabirova KM. Complex evaluation of the health of junior medical students. *Health Care of the Russian Federation*. 2018;62(3):126–31 (In Russ.)] doi: 10.18821/0044-197X-2018-62-3-126-131
9. Богданова Т.М., Белоброва А.П., Тумеркина А.Н., Блинова В.В. Здоровье будущих врачей или соблюдение ЗОЖ студентами-медиками. *Психосоматические и интегративные исследования*. 2020;6:201. [Bogdanova TM, Belobrova AP, Tumerkina AN, Blinova VV The health of future doctors or the observance of a healthy lifestyle by medical students. *Psychosomatic and Integrative Research*. 2020;6:201 (In Russ.)].
10. Boni RADS, Paiva CE, de Oliveira MA, Lucchetti G, Fregnani JHTG, Paiva BSR. Burnout among medical students during the first years of undergraduate school: Prevalence and associated factors. *PLoS One*. 2018 Mar 7;13(3):e0191746. doi: 10.1371/journal.pone.0191746
11. Хаблова А.А., Бондарь Г.Н., Кикю П.Ф., Туманова Н.С., Рассказова В.Н., Сухова А.В. Оценка состояния здоровья студентов-медиков. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2020;64(3):132–8. [Hablova AA, Bondar' GN, Kiku PF, Tumanova NS, Rasskazova VN, Suhova AV. Assessment of the health status of medical students. *Health Care of the Russian Federation*. 2020;64(3):132–8 (In Russ.)]. doi: 10.46563/0044-197X-2020-64-3-132-138
12. Голева О.А., Аверина Е.И., Мокашева Е.Н., Мокашева Е.Н. Взаимосвязь влияния внешних и внутренних факторов на здоровье студентов-медиков по гендерному признаку. *Смоленский медицинский альманах*. 2021;1:76–9. [Goleva OA, Averina EI, Mokasheva EN, Mokasheva E.N. The relationship of the influence of external and internal factors on the health of medical students by gender. *Smolensk Medical Almanac*. 2021;1:76–9 (In Russ.)].
13. Костычева Н.А., Перепелова А.В., Шулигина И.В. Физическое здоровье у студентов-медиков. *Современные тенденции развития науки и технологий*. 2017;1–3:55–7. [Kostycheva NA, Perepelova AV, Shuligina IV. Physical health in medical students. *Modern trends in the development of science and technology*. 2017;1–3:55–7 (In Russ.)].

УДК 616.62-022+614.446

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-100-102



Совершенствование профилактических мероприятий инфекций мочевыводящих путей, связанных с оказанием медицинской помощи

К.И. Сурсякова, Т.В. Сафьянова

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

Цель: создание алгоритма комплексной оценки эндогенных и экзогенных факторов и риска развития инфекций мочевыводящих путей (ИМП) для оптимизации профилактических мероприятий, в многопрофильных медицинских организациях. **Материалы и методы.** Все пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на 2 группы. Группа 1 сформирована на базе КГБУЗ «Алтайский краевой госпиталь для ветеранов войн» (КГБУЗ «АКГВВ») (700 историй болезни). Группа 2 – на базе КГБУЗ «Краевая клиническая больница (КГБУЗ «ККБ»)» (500 историй болезни). У пациентов, вошедших в исследование, проведена оценка эндогенных и экзогенных факторов риска. **Результаты.** На основе комплексной оценки экзогенных и эндогенных факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи среди пациентов различных возрастных групп, разработан алгоритм оптимизации профилактических мероприятий. **Заключение:** алгоритм профилактических мероприятий экспертной оценки определения групп и факторов риска ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, позволяет оптимизировать систему профилактики данной группы инфекций. Создание баз данных факторов риска, способствующих инфицированию, необходимо для экспертной оценки стандартных операционных процедур и внутреннего аудита качества медицинских манипуляций и определяет оптимальный объем профилактических мероприятий по снижению заболеваемости ИМП.

Ключевые слова: профилактические мероприятия, факторы риска, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, экспертная оценка

Поступила в редакцию: 11.12.22. Получена после доработки: 18.12.22, 24.12.22. Принята к печати: 26.01.23

Для цитирования: Сурсякова К.И., Сафьянова Т.В. Совершенствование профилактических мероприятий инфекций мочевыводящих путей, связанных с оказанием медицинской помощи. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;1:100–102. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-100-102

Для корреспонденции: Сурсякова Ксения Ивановна – канд. мед. наук, преподаватель кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета (656031 г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126); ORCID: 0000-0003-2811-2533; e-mail: boydika@yandex.ru

Improving prevention measures for healthcare-associated urinary tract infections

K.I. Sursyakova, T.V. Safyanova

Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Aim. To develop an algorithm for a comprehensive assessment of endogenous and exogenous factors and risks of urinary tract infections (UTI) to improve prevention measures in multidisciplinary healthcare organizations. **Materials and methods.** All patients included in the study were divided into two groups. Group 1 was formed on the basis of the Altai Regional Hospital for War Veterans (700 medical histories). Regional Clinical Hospital provided 500 medical histories. Endogenous and exogenous risk factors were assessed in patients included in the study. **Results.** Following a comprehensive assessment of exogenous and endogenous risk factors of healthcare-associated UTI among patients of different ages, an algorithm for improving prevention measures has been developed. **Conclusions.** The algorithm of prevention measures for expert evaluation of risk factors and groups of healthcare-associated UTI enables the prevention of these infections to be improved. The creation of databases of risk factors that contribute to infection is essential for providing expert evaluation of standard operating procedures and internal quality audits of medical activities, as well as for determining the optimal prevention measures reducing the incidence of UTIs.

Keywords: prevention measures, risk factors, healthcare-associated infections, expert evaluation

Received 11 December 2022. Revised 18, 24 December 2022. Accepted 26 January 2023

For citation: Sursyakova K.I., Safyanova T.V. Improving prevention measures for healthcare-associated urinary tract infections. *Pacific Medical Journal*. 2023;1:100–102. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-100-102

Corresponding author: Ksenia I. Sursyakova, Cand. Sci. (Med.), lecture of the department of the Department of Epidemiology, Microbiology and Virology, Altai State Medical University (126 Papanintsev str., Barnaul, 656038, Altai Region, Russia); ORCID: 0000-0003-2811-2533; e-mail: boydika@yandex.ru

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), – одна из острейших проблем здравоохранения. Существующая в России система учета ИСМП не отражает их фактической распространенности, а их структура дезориентирует специалистов в части актуальности отдельных нозологических форм [1–3].

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) широко распространены в популяции и занимают третье место в структуре инфекционной заболеваемости населения. Для них характерно хроническое течение с частыми обострениями. Вне обострения процесса у этих пациентов может быть бессимптомная бактериурия,

что делает их активными источниками инфекции для окружающих [4, 5].

При госпитализации в медицинские организации, с одной стороны, для пациентов существуют высокие риски суперинфекции, которые коррелируют с частотой проведения различных медицинских манипуляций, с другой – перекрестное инфицирование, источником которого могут быть другие пациенты, а факторами передачи – объекты больничной среды и руки медицинского персонала [6].

Несмотря на то что ряд эпидемиологических исследований был посвящен изучению факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, в них в основном определяли значимость отдельных медицинских манипуляций и рекомендовали стандартные операционные процедуры, обеспечивающие их эпидемиологическую безопасность [7–8].

В настоящее время опыт и технологии эпидемиологического надзора за ИСМП должны быть использованы для более широких целей: от определения резистентности к антимикробным препаратам и осложнений антимикробной терапии, к разработке математических моделей оценки факторов риска и алгоритмирования профилактических мероприятий [9, 10].

Цель исследования: создание алгоритма комплексной оценки эндогенных и экзогенных факторов и риска развития инфекций мочевыводящих путей (ИМП) для оптимизации профилактических мероприятий в многопрофильных медицинских организациях.

Материалы и методы

С целью определения основных экзогенных и эндогенных факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи среди пациентов различных возрастных групп, все пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на 2 группы. Группа 1 сформирована на базе КГБУЗ «Алтайский краевой госпиталь для ветеранов войн» (КГБУЗ «АКГВВ») (700 историй болезни). Группа 2 – на базе КГБУЗ «Краевая клиническая больница (КГБУЗ «ККБ»). Все критерии, использованные при описании исследуемых групп, первоначально были подвергнуты проверке на принципиальную возможность их применения для прогноза развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи. Это было сделано методом ANOVA – однофакторного дисперсионного анализа с помощью статистического компьютерного пакета IBM SPSS 23. После полученного подтверждения возможности использования всех предлагаемых показателей был применен метод дискриминантного анализа.

Результаты исследования

Наибольшую прогностическую силу для развития ИМП, связанных с оказани-

ем медицинской помощи, имеют следующие признаки:

- нарушение дезинфекции и стерилизации медицинского инструментария (asept) – 8,4%;
- резкие позывы к мочеиспусканию (posyv) – 6,9%;
- положительный высеv одного уropатогенного микроорганизма в количестве $> 10^5$ КОЕ/мл у пациента, получающего антибактериальную терапию, эффективную в отношении ИМП (vysev) – 5,2%;
- обнаружение $> 10^5$ микроорганизмов в 1 см³ мочи (не более двух видов микроорганизмов (microbes) – 5,2%;
- дизурия (disur) – 5,1%;
- выделение ПМФ (внешняя среда) (vydPMF) – 4,5%;
- установленный диагноз в анамнезе N11 Хронический тубулоинтерстициальный пиелонефрит (turbolo) – 3,3%;
- установленный диагноз в анамнезе D51 Витамин B₁₂-дефицитная анемия (b12anem) – 2,9%;
- установленный диагноз в анамнезе N41 Воспалительные болезни предстательной железы (predstat) – 2,7%.

Результаты проведенного нами исследования определили необходимость оптимизации профилактических мероприятий ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, в многопрофильных медицинских организациях.

На основе комплексной оценки экзогенных и эндогенных факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи среди пациентов

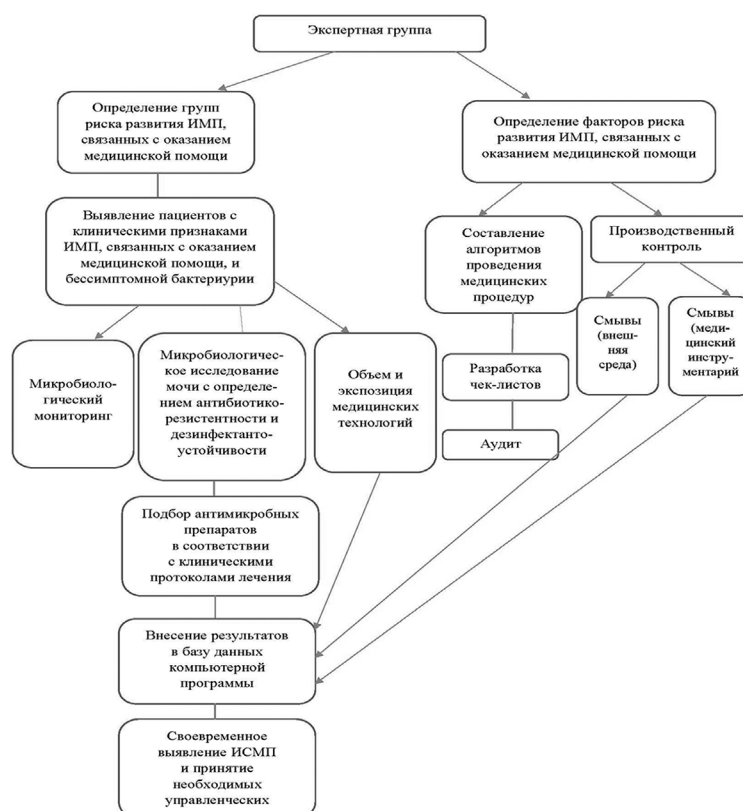


Рис. Алгоритм экспертной оценки определения групп и факторов риска ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи.

различных возрастных групп, разработан алгоритм оптимизации профилактических мероприятий.

Под руководством главных врачей медицинских учреждений сформированы экспертные группы, состоящие из врачей-специалистов, врача-эпидемиолога, врача – клинического фармаколога, врача-бактериолога, старшей медицинской сестры операционного блока, старшей медицинской сестры централизованного стерилизационного отделения, главной медицинской сестры (рис.).

Состав экспертов позволяет провести комплексную оценку определения групп и факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи. Каждый эксперт в рамках своих профессиональных компетенций оценивает влияние того или иного фактора на риск развития ИСМП. Кроме того, каждый специалист из экспертной группы может участвовать в формировании коллективного решения по оценке конкретного пациента. Работа экспертов осуществляется на основании использования баз данных, специальной компьютерной программы для расчета вероятности развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, стандартных операционных процедур, алгоритмах оценки эндогенных и экзогенных факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи.

Обсуждение полученных данных

Оценка эндогенных факторов риска позволяет оптимизировать подбор медицинских процедур, их экспозицию, частоту лабораторных диагностических исследований, схем антибактериальной терапии индивидуально и для данной группы пациентов. Применение данного алгоритма позволит повысить эффективность оказания медицинской помощи, определить качество лечебно-диагностических, профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Алгоритм экспертной оценки определения групп экзогенных факторов риска ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи, направлен на обеспечение адекватности профилактических мероприятий и оптимизацию системы внутреннего аудита качества различных медицинских манипуляций.

Выводы

Применение комплексной оценки эндогенных и экзогенных факторов риска развития ИМП, связанных с оказанием медицинской помощи среди пациентов разных возрастных групп, позволяет оптимизировать систему профилактики данной группы инфекций. Создание баз данных факторов риска, способствующих

инфицированию, необходимо для экспертной оценки стандартных операционных процедур и внутреннего аудита качества различных медицинских манипуляций и определяет оптимальный объем профилактических мероприятий по снижению заболеваемости ИМП.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Бузолева Л.С. Характеристика штаммов бактерий, выделенных от больных с инфекциями мочевыводящих путей. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2011;1:51–3. [Buzoleva LS. Characteristics of bacterial strains isolated from patients with urinary tract infections. *Pacific Medical Journal*. 2011;1:51–3 (In Russ.).]
2. Каприн А.Д. Катетер-ассоциированные инфекции мочевых путей. *Справочник врача общей практики*. 2016;3:34–8. [Kaprin AD. Catheter-associated urinary tract infections. *General Practitioner's Handbook*. 2016;3:34–8 (In Russ.).]
3. Перепанова Т.С. Нозокомиальные инфекции мочевыводящих путей. Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей. Послеоперационные инфекционные осложнения. Москва: «Практическая медицина». 2013, 251–70. [Perepanova TS. Nosocomial urinary tract infections. Catheter-associated urinary tract infections. Postoperative infectious complications. Moscow: *Practical Medicine*. 2013, 251–70 (In Russ.).]
4. Сергеев В.И. Факторы риска и профилактика внутрибольничных катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей. *Заместитель главного врача*. 2016;4(119):82–5. [Sergeev V I. Risk factors and prevention of nosocomial catheter-associated urinary tract infections. *Deputy Chief Physician*. 2016;4(119):82–5 (In Russ.).]
5. Сушинский В.Э. Инфекции мочевыводящих путей у пациентов старших возрастных групп: особенности микробного статуса. *Клиническая геронтология*. 2010;9–10:83. [Sushinsky VE. Urinary tract infections in patients of younger age groups: peculiarities of microbial status. *Clinical gerontology*. 2010;9–10:83 (In Russ.).]
6. Урология: клинические рекомендации. – 3-е изд., переработанное. Москва: *Практическая медицина*. 2014, 320–369 с. [Urology: clinical recommendations. – 3rd ed., revised. Moscow: *Practical Medicine*. 2014, 320–369 с. (In Russ.).]
7. Ярец Ю.И. Хронические инфекции мочевыводящих путей: состояние проблемы *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*. 2015; 2 (14): 18–23. [Yarets YI. Chronic urinary tract infections: the state of the problem. *Medical and biological problems of life activity*. 2015; 2 (14): 18–23 (In Russ.).]
8. Little P. Effectiveness of five different approaches in management of urinary tract infection: randomised controlled trial. *The BMJ*. 2010;(340):199. doi: 10.1136/bmj.c199
9. Flores-Mireles A.L. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*. 2015;13(5):269–84. doi: 10.1038/nrmicro3432
10. Matty L. Urinary Tract Infections: How New Findings Create New Research Questions *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2016;29(1):70–2. doi: 10.1097/QCO.0000000000000232

ISSN 1609-1175



9 771609 117000

