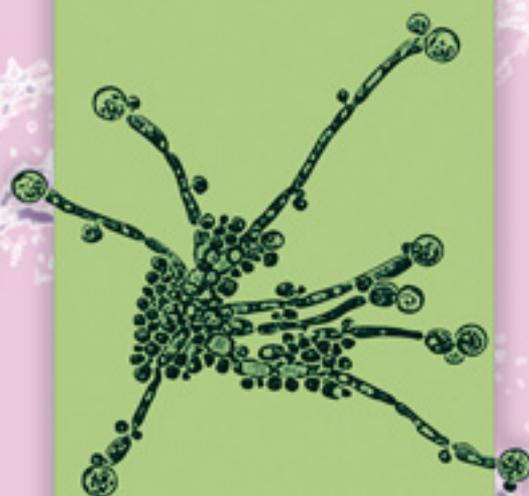


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 24 №4



Problems in medical mycology

Vol.24 №4

2022

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Honored Scientist of the Russian Federation, Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

Manager of Editorial Office —

E.S. Gukova (elena.gukova@szgmu.ru)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

Bennett J. — M.D. (USA), Dupont B. — M.D. (France), Hurzilava O.G. — M.D., prof. (Russia), Golubev V.I. — Ph.D. (Russia), Kashkin K.P. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Kolbin A.C. — M.D., prof. (Russia), Mazurov V.I. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Ozerskaya S.M. — Ph.D. (Russia), Polachek I. — M.D. (Israel), Samzov A.V. — M.D., prof. (Russia), Sidorenko S.V. — M.D., prof. (Russia), Raznatovsky K.I. — M.D., prof. (Russia), Shulgina M.V. — Ph.D. (Russia), Tietz H.-J. — M.D. (Germany), Viviani M.A. — M.D. (Italy), Zinzerling V.A. — M.D., prof. (Russia), Yamaguchi M. — Ph.D. (Japan), Zhang F. — M.D.&Ph.D. (China)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 24, № 4, 2022

Kashkin Research Institute of Medical Mycology
© North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov

Проблематика журнала: Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микробиологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 24, № 4, 2022

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
© ФГБОУ ВО Северо-Западный
государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова Минздрава России

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.В. Васильева — Заслуженный деятель науки Российской Федерации, д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

Н.Н. Климко — д.м.н., профессор (Россия)

А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

Зав. редакцией —

Е.С. Гукова (elena.gukova@szgmu.ru)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беннетт Дж. — доктор медицины (США), Вивиани М.А. — доктор медицины (Италия), Голубев В.И. — д.б.н. (Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция), Кашкин К.П. — д.м.н., академик РАМН, профессор (Россия), Колбин А.С. — д.б.н., профессор (Россия), Мазуров В.И. — д.м.н., акад. РАМН, профессор (Россия), Озерская С.М. — д.б.н. (Россия), Полачек И. — доктор медицины (Израиль), Самцов А.В. — д.м.н., профессор (Россия), Сидоренко С.В. — д.м.н., профессор (Россия), Разнатовский К.И. — д.м.н., профессор (Россия), Титц Х-Й. — доктор медицины (Германия), Хурцилава О.Г. — д.м.н., проф. (Россия), Цинзерлинг В.А. — д.м.н., профессор (Россия), Чжан Ф. — доктор медицины (Китай), Шульгина М.В. — д.б.н. (Россия), Ямагучи М. — доктор медицины (Япония)

Editorial policy: The Journal «Problems in Medical Mycology» specializes in original articles that describe innovative research on all aspects of Medical Microbiology — biology of pathogens, clinic, diagnostic, epidemiology, immunity, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Еноктаева О.В., Николенко М.В., Казакова А.В., Показаньева Л.Е., Давыдкина Н.С.</i> Классификация механизмов резистентности грибов рода <i>Candida</i> по отношению к флуконазолу (обзор литературы).....	4
<i>Кропотов В.С., Заславская М.И., Игнатова Н.И., Кряжев Д.В.</i> Современные методы исследования ультраструктуры бактериальных биопленок (обзор литературы)	10
<i>Лямин А.В., Ерещенко А.А., Жестков А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Исмагуллин Д.Д.</i> Особенности культивирования отдельных представителей порядка <i>Actinomycetales</i> (обзор литературы)	20
<i>Рябинин И.А.</i> Редкие возбудители кишечных и токсикоинфекций (краткий обзор)	26

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ И ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЯ

<i>Мелёхина Ю.Э., Гусев Д.А., Хостелиди С.Н., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Жукова С.В., Рысев А.В., Евсеева И.Д., Яковлев А.И., Шумакова Т.А., Савелло В.Е., Васильева Н.В., Клишко Н.Н.</i> Криптококкоз у больных COVID-19 (описание двух клинических случаев и обзор литературы).....	34
<i>Дмитриева Н.В., Мавлявиева Э.Р., Васютин К.А., Мирилашвили Т.Ш., Семерчев Д.П.</i> Таксономическая структура микроорганизмов, выделенных у послеоперационных больных с геморрагическим инсультом, имеющих различные инфекционные осложнения	41
<i>Мавлянова Ш.З., Алимхамедова Ю.А., Ибрагимова Г.Р., Закиров Б.Х.</i> Некоторые показатели гуморального иммунного ответа на <i>Candida albicans</i> у детей с атопическим дерматитом.....	47
<i>Вашкевич А.А., Суворова А.А., Разнатовский К.И., Резцова П.А., Гулордава М.Д., Левина Ю.В.</i> Перiorальный дерматит. Новые подходы к терапии.....	51
<i>Медведева Т.В., Леина Л.М., Петунова Я.Г., Милявская И.Р.</i> Поражение кожи при инфекции, вызванной SARS-CoV-2, особенности у детей и взрослых.....	58
<i>Гринева Е.М., Корнишева В.Г., Разнатовский К.И.</i> Патология щитовидной железы у пациентов, страдающих очаговой склеродермией.....	66
<i>Павлова А.Г., Ключарёва С.В., Новицкая Т.А.</i> Алгоритм дифференциальной диагностики невуса Сеттона и регрессирующей меланомы кожи.....	72
<i>Кукушкина К.С., Корнишева В.Г., Разнатовский К.И.</i> Дефицит витамина Д у больных гнездной алопецией и атопическим дерматитом.....	77

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

<i>Босак И.А., Выборнова И.В., Чилина Г.А., Павлова И.Э., Богомолова Т.С., Ковыришин С.В., Авдеенко Ю.Л., Карпов С.А., Оганесян Э.Г., Васильева Н.В.</i> Изучение вирулентности клинических изолятов <i>Candida auris</i> в экспериментальной модели на животных.....	82
<i>Выборнова И.В., Ковыришин С.В., Чилина Г.А., Босак И.А., Павлова И.Э., Игнатьева С.М., Богомолова Т.С., Васильев О.Д., Васильева Н.В.</i> Характеристика профилей чувствительности коллекционных штаммов возбудителей инвазивного кандидоза к противогрибковым лекарственным средствам <i>in vitro</i>	89

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

<i>Медведева Т.В., Леина Л.М.</i> XXXI Конгресс Европейской Академии Дерматовенерологии (EADV).....	96
---	----

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Enoktaeva O.V., Nikolenko M.V., Kazakova A.V., Pokazanieva L.E., Davydkina N.S.</i> Classification of fluconazole resistance mechanisms of the genus <i>Candida</i> (literature review).....	4
<i>Kropotov V.S., Zaslavskaya M.I., Ignatova N.I., Kryazev D.V.</i> Modern methods of studying the ultrastructure of bacterial biofilm (literature review)	10
<i>Lyamin A.V., Ereshchenko A.A., Zhestkov A.V., Gusyayakova O.A., Kozlov A.V., Ismatullin D.D.</i> Features of cultivation of individual representatives of the order <i>Actinomycetales</i> (literature review)	20
<i>Ryabinin I.A.</i> Rare causative agents of intestinal and toxic infections (brief review)	26

CLINICAL MYCOLOGY AND DERMATOVENEROLOGY

<i>Melekhina Y.E., Gusev D.A., Khostelidi S.N., Bogomolova T.S., Ignatyeva S.M., Zhukova S.V., Rysev A.V., Evseeva I.D., Yakovlev A.I., Shumakova T.A., Savello V. E., Vasilieva N.V., Klimko N.N.</i> Cryptococcosis in COVID-19 patients (two clinical cases and literature review).....	34
--	----

<i>Dmitrieva N.V., Mavlyavieva E.R., Vasyutin A.K., Mirilashvily T.S., Semerchev D.P.</i> Taxonomic structure of microorganisms isolated from postoperative patients with hemorrhagic stroke with various infectious complications...	41
<i>Mavlyanova Sh.Z., Alimukhamedova Yu.A., Ibragimova G.R., Zakirov B.Kh.</i> Some indicators of the humoral immune response for <i>Candida albicans</i> in children with atopic dermatitis.....	47
<i>Vashkevich A.A., Suvorova A.A., Raznatovsky K.I., Reztsova P.A., Gulordava M.D., Levina Yu.V.</i> Perioral dermatitis. New approaches to therapy.....	51
<i>Medvedeva T.V., Leina L.M., Petunova Ya.G., Milyavskaya I.R.</i> Skin damage in infection caused by SARS-CoV-2, features in children and adults.....	58
<i>Grineva E.M., Kornisheva V.G., Raznatovsky K.I.</i> Thyroid pathology in patients with localized scleroderma	66
<i>Pavlova A.G., Kluchareva S.V., Novitskaya T.A.</i> Algorithm for differential diagnostics of Setton's nevus and regressive skin melanoma.....	72
<i>Kukushkina K.S., Kornisheva V.G., Raznatovsky K.I.</i> Vitamin D deficiency in patients with alopecia areata and atopic dermatitis.....	77

EXPERIMENTAL MICROBIOLOGY

<i>Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Pavlova I.V., Bogomolova T.S., Kovyrshin S.V., Avdeenko Y.L., Karpov S.A., Oganesyana E.G., Vasilyeva N.V.</i> Virulence study of <i>Candida auris</i> clinical isolates in the experimental animal model	82
<i>Vybornova I.V., Kovyrshin S.V., Chilina G.A., Bosak I.A., Pavlova I.E., Ignatieva S.M., Bogomolova T.S., Vasilyev O.D., Vasilyeva N.V.</i> Characterization of in vitro antifungal susceptibilities profiles of invasive candidiasis etiological agents strains deposited in the collection.....	89

CHRONICLE AND INFORMATION

<i>Medvedeva T.V., Leina L.M.</i> XXXI Congress Of European Academy Of Dermatology And Venerology (EADV)	96
--	----



Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)
Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина (НИИ ММ) СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@szgmu.ru, elena.gukova@szgmu.ru. Заведующая редакцией: Е.С.Гукова.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute of Medical Mycology
Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA.
Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@szgmu.ru, elena.gukova@szgmu.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»
Per. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780
Журнал зарегистрирован ВАК,
с 2005 г. включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), в реферативный журнал и базы ВИНТИ.
Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».
Оригинал-макет — НИИ «Медицинской микологии им. П. Н. Кашкина СЗГМУ».
Подписано в печать 14.12.2022.

КЛАССИФИКАЦИЯ МЕХАНИЗМОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* ПО ОТНОШЕНИЮ К ФЛУКОНАЗОЛУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Еноктаева О.В. (ассистент кафедры)*, Николенько М.В. (профессор кафедры), Казакова А.В. (доцент кафедры), Показаньева Л.Е. (студент), Давыдкина Н.С. (ординатор кафедры)

Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень, Россия

*Обзор литературы посвящен изучению механизмов лекарственной устойчивости, которые позволяют условно-патогенным представителям рода *Candida* справляться со стрессом, индуцированным флуконазолом, и адаптироваться к нему. Приспосабливаясь к изменениям окружающей среды путем регулирования экспрессии генов и клеточного метаболизма, микромицеты в относительно короткие промежутки времени вырабатывают стратегии по снижению эффективности применения различных лекарственных препаратов, что является причиной терапевтических неудач. Несмотря на широкое применение флуконазола в медицинской практике, данный фунгистатический препарат не способен полностью подавлять жизнедеятельность клеток грибов, что является основополагающим фактором при развитии механизмов резистентности у патогенных видов.*

Ключевые слова: *Candida*, флуконазол, механизмы резистентности

CLASSIFICATION OF FLUCONAZOLE RESISTANCE MECHANISMS OF THE GENUS *CANDIDA* (LITERATURE REVIEW)

Enoktaeva O.V. (assistant of the department), Nikolenko M.V. (professor of the department), Kazakova A.V. (associate professor of the department), Pokazanieva L.E. (student), Davydina N.S. (resident of the department)

Tyumen State Medical University, Tyumen Russia

* Контактное лицо: Еноктаева Ольга Викторовна, e-mail: pechkanova@mail.ru

*The literature review is devoted to the study of drug resistance mechanisms, which admit opportunistic species of *Candida* to inhibit and regulate the stress induced by fluconazole. Responding to environmental changes due to gene expression and cellular metabolism regulating, micromycetes in a short time can develop different drug efficiency impairing strategy that can be the cause of treatment failures. Despite the widespread use of fluconazole in medical practice, this fungistatic drug is not able to completely suppress the vital activity of fungal cells, which is the main factor in the development of resistance mechanisms in pathogenic species.*

Key words: *Candida*, fluconazole, resistance mechanisms

В эпидемиологии кандидозных инфекций важное значение имеет первичная (врожденная) или вторичная (приобретенная) лекарственная резистентность микромицетов рода *Candida*. Условно-патогенные представители данного рода обладают потенциалом к успешному распространению в популяциях людей за счет реализации генетической информации, хранящейся в их клетках. Наблюдается тенденция снижения эффективности применения различных классов лекарственных препаратов, широко используемых в медицинской практике. Одной из причин данного явления стало бессистемное назначение антимикотиков в целях профилактики, повлекшее за собой увеличение рецидивов протекания инфекции и случаев с летальным исходом среди лиц с компрометированной иммунной системой. Чтобы в дальнейшем избежать терапевтических неудач при лечении кандидоза флуконазолом, необходимо изучить механизмы резистентности, демонстрируемые патогенными видами. Классификация механизмов резистентности позволит выработать новые подходы к антифунгальной терапии.

Цель исследования: систематизировать сведения о механизмах резистентности грибов рода *Candida* по отношению к флуконазолу.

Характеристика флуконазола.

Часто назначаемый и обычно хорошо переносимый триазольный противогрибковый препарат флуконазол используется при лечении кандидозных инфекций. Его история началась в 1989 г., когда он пополнил арсенал доступных антимикотиков для системного лечения микозов, вызванных *Candida* sp. Данный препарат ингибирует фермент цитохрома P450 в пути биосинтеза эргостерола – ланостеролдеметилазу (14 α -деметилазу), кодируемую геном ERG11. Эргостерол поддерживает целостность и текучесть клеточных мембран, влияет на морфологию, вирулентность и характеристики устойчивости

патогенных микромицетов. Токсичное воздействие флуконазола на организм гриба проявляется истощением запасов эргостерола в сочетании с накоплением его предшественников – метилированных стеролов, что приводит к задержке роста клеток.

Чувствительность штаммов к флуконазолу среди грибов рода *Candida* динамично изменяется на протяжении многих лет в зависимости от профиля клинических учреждений и социально-экономического развития региона [1, 2].

Классификация механизмов резистентности грибов рода *Candida* по отношению к флуконазолу.

В настоящее время очень сложно спрогнозировать развитие резистентных свойств для патогенных микроорганизмов человека, так как устойчивость к лекарственным препаратам может развиваться и без контакта с организмом хозяина. Интересен тот факт, что не только клинические изоляты *C. albicans*, но и его природные штаммы приобретают резистентность к антимикотикам из-за неконтролируемого сброса сточных вод из лечебных учреждений, содержащих неопределенное количество антифунгальных препаратов [3]. Данный факт может объяснить феномен появления и эффективного распространения новых патогенных видов с лекарственной устойчивостью. Более подробно механизмы резистентности к флуконазолу у грибов рода *Candida* будут разобраны ниже (Рис.).



Рис. Классификация механизмов резистентности грибов рода *Candida* по отношению к флуконазолу.

Изменение метаболизма лекарственной мишени.

А) Мутации в гене, кодирующем лекарственную мишень.

Комбинация генов в клетке определяет резистентность патогенных организмов к лекарственным веществам. Для некоторых азол-резистентных изолятов *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* и *C. auris*

характерны миссенс-мутации ERG11, приводящие к однонуклеотидному полиморфизму. Участок гена, в котором происходят частые мутации, называется «горячей точкой». При возникновении молчащих мутаций замены аминокислоты в белке не происходит. Примером противоположного процесса является клинический изолят из онкогематологического отделения – *C. kefyr*. У него благодаря нуклеотидному секвенированию в аллеле ERG11 были идентифицированы две аминокислотные замены: E123Q и K151E. Данные мутации защищают биосинтез эргостерола от фунгистатического воздействия флуконазола, так как наблюдается снижение аффинности между измененной структурой белка и лекарственным препаратом [4-6].

Амплификация и анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) гена ERG11 показали наличие обширного списка мутаций, возникающих в его полинуклеотидной последовательности. Продуктами трансляции, содержащими нонсенс-мутации или делецию, являются aberrантные формы белка с укороченной полипептидной цепью. У *C. tropicalis* был описан дефектный аллель ERG11 с делецией из 132 нуклеотидов, который также повышал резистентность данного патогена по отношению к флуконазолу [7].

Универсальной моделью для изучения устойчивости к противогрибковым препаратам являются виды с гаплоидным набором хромосом, для которых проще всего идентифицировать точечные мутации, повышающие устойчивость к антимикотикам. К ним относятся *C. albicans*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* [8-10].

Любые изменения в молекулярной конфигурации целевого фермента 14 α -деметилазы (Erg11p) вследствие мутаций в кодирующем гене ERG11 могут являться факторами, снижающими сродство между флуконазолом и белком. Возникновение данным путем устойчивости к лекарственному препарату приводит к увеличению минимальной ингибирующей концентрации (МИС) азолов.

Б) Геномные перестройки.

У микромицетов переход генов из гетерозиготного состояния в гомозиготное стал одним из факторов усиления механизмов устойчивости к лекарственным препаратам. В присутствии флуконазола у особи из первоначально клональной, чувствительной к лекарственным препаратам популяции, в одном из аллелей может возникнуть спорадическая мутация резистентности. Выступая в роли стрессового фактора, флуконазол запускает рекомбинационный процесс у видов с парасексуальным циклом размножения, а селективное давление окружающей среды способствует естественному отбору индуцированных геномных перестроек в новом поколении клеток. Формирующиеся субпопуляции будут давать

начало новым штаммам с разной степенью устойчивости. Чем дольше патоген контактирует с лекарственным препаратом, тем более широк его арсенал механизмов лекарственной устойчивости. Так вкратце можно описать гипотетический сценарий микроэволюции штаммов с высокой лекарственной резистентностью путем рекомбинации генетического материала [11].

Увеличение генетического разнообразия популяций *C. albicans* и *C. tropicalis* напрямую зависит от возможности вступать в парасексуальный цикл размножения. Переход из стерильного белого состояния в компетентное к спариванию непрозрачное состояние является основным механизмом смены плоидности. Слияние двух непрозрачных диплоидных (или близких по плоидности) клеток, содержащих генетические локусы *MTLa* и *MTLa*, приводит к образованию тетраплоидной клетки *MTLa/a*. Немейотическая парасексуальная программа согласованной потери гомологичных хромосом способствует возвращению в диплоидное или почти диплоидное состояние с образованием анеуплоидов. При этом количество особей не увеличивается, но происходит генерация большого пула генетически разнообразного потомства. Клетки *C. albicans* в зависимости от условий среды могут менять свою плоидность от гаплоидного до тетраплоидного состояния [10].

Если *C. albicans* и *C. tropicalis* могут проходить через бесполой и парасексуальный циклы размножения, то *C. lusitanae* – через бесполой и половой. Мейоз у этого вида регулируется биаллельными локусами *MATa* и *MATa*, необходимыми для спаривания и спорообразования в условиях стресса [9].

Результатом вышеописанных рекомбинационных процессов является наличие широкого спектра внутривидовых геномных вариаций. В их список входят: полиморфизм, изменение числа копий генов, инверсии хромосом, субтеломерная гипервариация, потеря гетерозиготности, а также целые или частичные хромосомные анеуплоидии – состояние кариотипа с несбалансированным числом копий хромосом [12].

Доказано, что трисомия по 4 хромосоме и наличие изохромосомы 5, включающей два левых плеча, придает *C. albicans* высокий уровень резистентности к азольным препаратам [13].

Кратное изменение уровня экспрессии гена *ERG11* зависит от фенотипической пластичности вида, когда один генотип способен генерировать ряд различных фенотипов в ответ на стимулы окружающей среды. Воздействие окислительного стресса, повышенной температуры, антимикотиков, а также прохождение микроорганизма через модель на животных приводят к усилению геномных перестроек у *C. albicans*, что обеспечивает данному виду способ-

ность быстро генерировать генетическое и фенотипическое разнообразие особей внутри популяции.

В) Сверхэкспрессия генов, ответственных за синтез лекарственной мишени.

Множественные мутации усиления функции *GOF* (*Gain-of-Function Mutations*) в факторах транскрипции, которые приводят к конститутивной активации генов биосинтеза эргостерола (*ERG11*) и насосов оттока лекарств (эффлюксные белки), повышают продуцирование целевого стерола.

У *C. albicans* фактор транскрипции цинкового кластера *UPC2* контролирует транскрипционную активацию генов *ERG2*, *ERG7*, *ERG11* и *ERG25*. При сверхэкспрессии указанных членов семейства *ERG* увеличивается концентрация ланостеролдеметиلاзы в клетке. Используемая доза лекарственного препарата не способна инактивировать все синтезированные молекулы белка-мишени в клетке, в результате чего применение флуконазола становится неэффективным. Наличие гена *UPC2* позволяет регулировать биогенез плазмолеммы и повышать концентрацию эргостерола при негативном воздействии на клетку.

Мутации типа *GOF* в *Urc2p* могут являться причиной повышенной продукции белка *Erg11p* с последующим формированием фенотипа, устойчивого к флуконазолу. В связи с этим ген *UPC2* можно рассматривать в качестве мишени для антифунгальной терапии при лечении кандидоза, вызванного *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* [1, 14].

Г) Развитие компенсаторных путей в метаболизме стеролов.

Инактивация гена *ERG3*

У штаммов *C. albicans* и *C. tropicalis* в результате мутации гена *ERG3* можно обнаружить инактивацию фермента Δ 5,6-стеролдес-сатуразы, ответственного за выработку токсичных метилированных стеролов. Данное явление благотворно влияет на накопление в клетке эргостерола и снижает эффективность применения флуконазола [1].

Поглощение экзогенных стеролов

Способность *C. glabrata* поглощать экзогенные стеролы как при блокировании пути биосинтеза эргостерола, так и при нормальных условиях существования объясняется наличием переносчика стеролов *Aus1p*, что помогает обойти ингибирование выработки эндогенных стеролов флуконазолом. Аналогичный механизм поглощения экзогенных стеролов был описан и у *C. albicans* [6].

Изменение стеролового состава клеточной мембраны у устойчивых к флуконазолу штаммов может негативно влиять на процессы жизнедеятельности грибной клетки в отсутствие препарата *in vitro* и в моделях колонизации при заражении животных. Но

дефекты клеточной мембраны, вызванные инактивацией ERG3 и мутациями в генах, обеспечивающих биосинтез эргостерола, также могут быть преодолены компенсаторными механизмами. Генетические основы этих механизмов еще предстоит уточнить [11].

2) Ограниченное проникновение лекарственного препарата в клетку.

Клеточные детерминанты, препятствующие проникновению лекарственного препарата в клетки грибов, способствуют экстррузии антимикотиков или их инактивации.

А) Отток лекарств.

Повышенная экспрессия основных классов эффлюксных белков обеспечивает экстррузию флуконазола из грибной клетки. Активный отток ксенобиотиков у *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* и *C. krusei* происходит благодаря работе членов суперсемейства АТФ-связывающих кассет (ABC). Ключевое значение имеют мутации GOF в гене TAC1, которые индуцируют сверхэкспрессию CDR1 и CDR2.

В свою очередь, суперсемейство основных фасилитаторов (MFS) характерно для *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*. Активация транскрипции MDR1 в ответ на введение лекарства в клетку происходит благодаря мутациям GOF в регуляторе множественной лекарственной устойчивости MRR1 [7].

У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом определяли паттерны экспрессии генов вирулентности 80 штаммов *C. albicans*, ассоциированных с генами резистентности к азолам. Результаты показали высокую встречаемость у всех исследуемых лиц штаммов генов CDR1 и MDR1, характерных для устойчивого к азолам фенотипа. Данный факт может способствовать хронизации воспалительного процесса в тканях пародонта и неэффективности приема препаратов в схеме лечения таких пациентов [15].

У штамма F13 *C. auris* была идентифицирована делеция кодона (ttc/|F15) в гене TAC1b. Данная мутация положительно влияет на работу насоса оттока флуконазола из клетки за счет повышенной экспрессии CDR1 [4].

Б) Сокращение импорта лекарств в клетку из окружающей среды.

Способность формировать биопленки на различных биотических и абиотических поверхностях вместе с бактериями является еще одним эффективным механизмом защиты от лекарственных препаратов, так как матрикс, образованный клеточным конгломератом, служит прекрасным барьером, задерживающим молекулы флуконазола [16].

Цитологической особенностью штамма РКПГУ-1821 *C. auris* является наличие липидного гало вокруг клетки. Возможно, данный слой выполняет функцию барьера для проникновения лекарственных препаратов в клетку [17].

Есть мнение, что секвестрация флуконазола во внутриклеточных вакуолях с последующим их выведением из клетки и изменение вязкости плазмолеммы у грибов рода *Candida* могут также вносить свой вклад в резистентность к лекарственным препаратам [18].

Флуконазол проникает в клетки *C. albicans* путем облегченной диффузии. Сокращение количества поглощенных молекул этого лекарственного препарата грибной клеткой может быть обеспечено гипотетической мутацией переносчика. Действительно, искусственная активация кальциневрина путем делеции его С-концевого аутоингибирующего домена приводила к повышенной резистентности по отношению к флуконазолу [11].

3) Медиаторы экологического стресса.

Постоянное появление новых профилей устойчивости к лекарственным препаратам у грибов рода *Candida* подчеркивает их способность адаптироваться к различным изменениям окружающей среды. Схожие механизмы по снижению токсичности лекарств при окислительном стрессе были описаны для видов *C. albicans* и *C. glabrata*. Например, у *C. albicans* транскрипционный фактор Cap1p является активатором экспрессии MDR1 в ответ на окислительный стресс, вызванный H₂O₂ [18].

Транскрипционный фактор Mrr1 регулирует не только сверхэкспрессию гена MDR1 у видов *Candida* при развитии резистентности к флуконазолу, но и гены, ответственные за биосинтез метилглиоксальредуктаз MGD1 и MGD2. Экзогенный метилглиоксаль повышает Mrr1-зависимую экспрессию MGD1, MGD2 и MDR1, в результате чего увеличивается экспорт флуконазола из клеток грибов. Можно смело утверждать, что диабет, уремия и сепсис являются факторами риска развития кандидоза, вызванного *C. lusitaniae*, так как при этих состояниях повышен биосинтез токсичного метаболита метилглиоксаля [19].

Еще предстоит оценить влияние на лекарственную резистентность микромицетов теплового и осмотического воздействия, изменения pH и ограничение питательных веществ в окружающей среде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пребывание микромицетов в популяциях людей на протяжении определенного времени приводит к появлению штаммов с различными комбинациями механизмов лекарственной устойчивости. Рези-

стенность к антифунгальным препаратам варьирует у представителей рода *Candida* в зависимости от экспрессии генов ортологов, а у некоторых видов остается по-прежнему неизученной. Так, например, для *C. krusei* характерна низкая аффинность между видоспецифичным белком Erg11 и флуконазолом. Этот феномен объясняет врожденную резистентность данного вида к изучаемому лекарственному препарату [20].

Особенный интерес представляют клинические изоляты, которые проявляют устойчивость к нескольким классам антимикотиков. Ярким примером данного феномена является выделенный штамм *C. albicans* от пациента, который проходил курс лечения флуконазолом, а затем – каспофунгином и амфотерицином В [21].

Это свидетельствует о том, что эмпирическое назначение антифунгальной терапии без видовой идентификации и определения молекулярной основы резистентности клинических изолятов к лекар-

ственным веществам не дает положительного эффекта в процессе лечения пациентов, особенно, если у них наблюдаются нарушения в работе иммунной системы.

В связи с этим целесообразным шагом в борьбе с микозами будет появление в медицинских учреждениях экономически доступных и простых в исполнении методов определения чувствительности к лекарственным препаратам у клинических изолятов микромицетов, которые позволят сделать антифунгальную терапию более эффективной.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. В данной работе не было никаких экспериментальных исследований, в которых были использованы в качестве объектов люди или животные.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berkow E.L., Lockhart S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. *Infection and Drug Resistance*. 2017; 10: 237. doi.org/10.2147/IDR.S118892
2. Quint T., Wöhrl S., Kinaciyan T. Fixed drug eruption caused by fluconazole – an underdiagnosed but recurrent problem. *Contact. Dermatitis*. 2019; 80 (3): 172. doi.org/10.1111/cod.13149
3. Imran Z.K., Al-Karrem Z.A. Evaluation natural cloning of azole-resistant genes CDR1, CDR2, MDR and ERG11 between clinical and soil isolates of *Candida albicans* based on gene expression. *International Journal of PharmTech Research*. 2016; 9 (11): 229-236.
4. Carolus H., Pierson S., Muñoz J.F., et al. Genome-wide analysis of experimentally evolved *Candida auris* reveals multiple novel mechanisms of multidrug resistance. *Mbio*. 2021; 12 (2): e03333-20. doi.org/10.1128/mBio.03333-20
5. Couzigou C., Gabriel F., Biteau N., et al. Two missense mutations, E123Q and K151E, identified in the ERG11 allele of an azole-resistant isolate of *Candida kefyr* recovered from a stem cell transplant patient for acute myeloid leukemia. *Medical Mycology Case Reports*. 2014; 5: 12-15. doi.org/10.1016/j.mmcr.2014.04.002
6. Whaley S.G., Berkow E.L., Rybak J.M., et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 7: 2173. doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173
7. Eddouzi J., Parker J.E., Vale-Silva L.A., et al. Molecular mechanisms of drug resistance in clinical *Candida* species isolated from Tunisian hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013; 57 (7): 3182-3193. doi.org/10.1128/AAC.00555-13
8. Rodrigues C.F., Silva S., Henriques M. *Candida glabrata*: a review of its features and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2014; 33 (5): 673-688. doi.org/10.1007/s10096-013-2009-3
9. Mendoza-Reyes D.F., Gómez-Gaviria M., Mora-Montes H.M. *Candida lusitanae*: Biology, Pathogenicity, Virulence Factors, Diagnosis, and Treatment. *Infection and Drug Resistance*. 2022: 5121-5135. doi.org/10.2147/IDR.S383785
10. Seervai R.N., Jones Jr S.K., Hirakawa M.P., et al. Parasexuality and ploidy change in *Candida tropicalis*. *Eukaryotic Cell*. 2013; 12 (12): 1629-1640. doi.org/10.1128/EC.00128-13
11. Morschhäuser J. The development of fluconazole resistance in *Candida albicans* – an example of microevolution of a fungal pathogen. *Journal of Microbiology*. 2016; 54 (3): 192-201. doi.org/10.1007/s12275-016-5628-4
12. Hirakawa M. P., Martinez D.A., Sakthikumar S., et al. Genetic and phenotypic intra-species variation in *Candida albicans*. *Genome Research*. 2015; 25 (3): 413-425. doi.org/10.1101/gr.174623.114
13. Anderson M.Z., Saha A., Haseeb A., Bennett R.J. A chromosome 4 trisomy contributes to increased fluconazole resistance in a clinical isolate of *Candida albicans*. *Microbiology*. 2017; 163 (6): 856. doi.org/10.1099/mic.0.000478
14. Vasicek E.M., Berkow E.L., Flowers S.A., et al. UPC2 is universally essential for azole antifungal resistance in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*. 2014; 13 (7): 933-946. doi.org/10.1128/EC.00221-13

15. Monroy-Pérez E., Rodríguez-Bedolla R.M., Garzón J., et al. Marked virulence and azole resistance in *Candida albicans* isolated from patients with periodontal disease. *Microbial Pathogenesis*. 2020; 148: 104436. doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104436
16. Еноктаева О.В., Николенко М.В., Трушников Д.Ю. и др. Механизм формирования биопленок грибов рода *Candida* при кандидозной инфекции (обзор литературы). *Проблемы медицинской микологии*. 2021; 23 (4): 3-8. [Enoktaeva O.V., Nikolenko M.V., Trushnikov D.Yu., et al. Fungal biofilms formation mechanism of the genus *Candida* fungi in *Candida* infection (literature review). *Problems in Medical Mycology*. 2021; 23 (4): 3-8. (In Russ.)]. doi: 10.24412/1999-6780-2021-4-3-8
17. Васильева Н.В., Круглов А.Н., Степанова А.А. и др. Цитологические особенности дрожжевых клеток мультирезистентного патогена *Candida auris*. *Проблемы медицинской микологии*. 2018; 20 (3): 3-7. [Vasilyeva N.V., Kruglov A.N., Stepanova A.A., et al. Cytological features of multi-resistance *Candida auris* yeast cells. *Problems in Medical Mycology*. 2018; 20 (3): 3-7. (In Russ.)].
18. Prasad R., Nair R., Banerjee A. Emerging mechanisms of drug resistance in *Candida albicans*. *Yeasts in Biotechnology and Human Health*. 2019: 135-153. doi.org/10.1007/978-3-030-13035-0_6
19. Biermann A.R., Demers E.G., Hogan D.A. Mrr1 regulation of methylglyoxal catabolism and methylgly-oxal-induced fluconazole resistance in *Candida lusitanae*. *Molecular microbiology*. 2021; 115 (1): 116-130. doi.org/10.1111/mmi.14604
20. Whaley S.G., Berkow E.L., Rybak J.M., et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 7: 2173. doi.org/10.3389/fmicb.2016.02173
21. Jensen R.H., Astvad K.M.T., Silva L.V., et al. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2015; 70 (9): 2551-2555. doi.org/10.1093/jac/dkv140

Поступила в редакцию журнала 10.11.2022

Рецензент: Т.С. Богомолова



СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Кропотов В.С. (с.н.с.)^{*}, ²Заславская М.И. (профессор кафедры), ²Игнатова Н.И. (доцент), ¹Кряжев Д.В. (в.н.с.)

¹Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной; ²Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

Обзор посвящен современным методам исследования бактериальных биопленок. Дана характеристика методов, позволяющих изучить топографию, структурные компоненты биопленок и особенности генетической регуляции процесса биопленкообразования.

Ключевые слова: биопленка, методы исследования, структурные компоненты, матрикс

MODERN METHODS OF STUDYING THE ULTRASTRUCTURE OF BACTERIAL BIOFILM (LITERATURE REVIEW)

¹Kropotov V.S. (senior scientific researcher), ²Zaslavskaya M.I. (professor of the department), ²Ignatova N.I. (associate professor), ¹Kryazev D.V. (leading scientific researcher)

¹Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Academician I.N. Blokhina; ²Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

The review is devoted to modern methods of bacterial biofilm research. The characteristic of methods allowing to study the topography, structural components of biofilms and features of the genetic regulation of the biofilm formation process is given.

Key words: biofilm, research methods, structural components, matrix

^{*} Контактное лицо: Кропотов Василий Сергеевич, e-mail: basilek@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Исследование биопленок является существенным элементом биомедицинских исследований, поскольку бактериальные биопленки, в силу своей феноменальной резистентности, создают проблемы при лечении инфекционных заболеваний. В клинической практике проблема оперативного обнаружения биопленок актуальна при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и хронических бактериальных инфекциях, трудно поддающихся лечению, в связи с возможностью распространения и переноса в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) бактериальных патогенов – биопленкообразователей.

Бактериальная биопленка – обладающая пространственной и метаболической структурой бактериальная популяция, заключенная в межклеточное вещество (матрикс) и расположенная на границе раздела сред (фаз). Бактериальная биопленка может состоять из одного или нескольких видов бактерий, где микробные клетки прикреплены друг к другу и к субстратам.

Способность к биопленкообразованию является важной частью жизненного цикла и успешной стратегией защиты бактерий от неблагоприятных факторов окружающей среды. Бактериальные клетки в планктонной культуре, несмотря на их высокую приспособляемость к меняющимся условиям внешней среды, достаточно уязвимы для агрессивных факторов. Возможным решением является создание микробного консорциума (биопленки) – системы, позволяющей клеткам успешнее защищаться от внешних воздействий. Форма существования микроорганизмов в виде биопленок – это эволюционно выгодный способ надклеточной организации прокариот при их персистенции в макроорганизме. Способность формировать биопленки выступает как дополнительный адаптационный фактор бактерий и эффективный способ их существования. В большинстве случаев биопленка представляет собой мультивидовые сообщества с высокой степенью толерантности к иммунной защите хозяина и повышенной устойчивости к антибиотикам и биоцидным агентам [1, 2].

Многочисленные исследования подтверждают ключевую роль биопленкообразователей в развитии острых и хронических бактериальных инфекций, которые характеризуются воспалением и повреждением тканей [3, 4]. С другой стороны, способность к биопленкообразованию может рассматриваться не только как усиление «агрессии», но и как механизм, позволяющий симбиотической микробиоте выполнять свою биологическую роль, поддерживая нор-

мальное функционирование макроорганизма.

Классическое бактериологическое исследование в изучении биопленок не позволяет в полной мере оценить биологические (как пробиотические, так и патогенные) свойства данной бактериальной популяции и ее отдельных клеток по следующим причинам:

- ключевую роль в поддержании структуры биопленки и обеспечении ее свойств играет матрикс – комплекс биополимеров, синтезируемый бактериальными клетками. В состав матрикса могут входить полисахариды, структурные белки, экзоферменты, нуклеиновые кислоты [5, 6], и его наличие невозможно оценить культуральными или тинкториальными методами, обычно применяемыми в практике микробиологического анализа;

- в составе биопленки бактериальные клетки приобретают иные фенотипические характеристики по сравнению с планктонными формами. Возникают субпопуляции «клеток-персистеров» со сниженной метаболической активностью [7] или метаболически неактивных [8]. Это затрудняет анализ роста и жизнеспособности субпопуляции метаболически инертных особей путем культивирования на питательных средах [9];

- развиваясь в условиях постоянного контроля иммунной системы и возможных агрессивных внешних воздействий (например, антибактериальных препаратов), эволюция бактериальной популяции в составе биопленки приводит к появлению клеток в состоянии «VBNC» (viable, but not cultivatable – жизнеспособные, но не культивируемые). VBNC не всегда удается выделить при стандартном бактериологическом анализе, однако эти клетки могут обладать патогенным потенциалом [10].

Вышеуказанные обстоятельства привели к поиску новых или адаптации уже известных методов, что позволило с высокой степенью достоверности исследовать как матрикс биопленок, так и входящие в него бактерии. Эти методики можно условно разделить на рутинные, предназначенные для диагностики в ЛПУ непосредственно «у постели больного» (экспресс-методы) и специализированных лабораториях, а также на исследовательские – для экспертной оценки или научных исследований.

1. Экспресс-методы детекции биопленок

На сегодняшний день имеется ряд запатентованных методик, в основе которых лежит применение красителя, взаимодействующего с компонентами матрикса и стабилизирующих агентов, позволяющих наносить красящий состав на поверхность. Оценка присутствия биопленки в данном случае проводится визуально по изменению цвета или флуоресценции красителя. Так, Баулер Ф.Г. с соавторами предлагают идентифицировать биопленки на ране-

вых поверхностях с помощью красителя Бенгалроз, разведенного в смеси воды и глицерина. В случае присутствия полисахаридного матрикса краситель начинает флуоресцировать под воздействием сильного источника света [11].

Романова Ю.М. и коллеги предложили иной способ, предполагающий предварительное разрушение матрикса ферментами группы карбогидраз с последующей идентификацией бактерий по каталазной активности с помощью перекиси водорода [12]. На основе этой методики была разработана целая линейка составов для идентификации и удаления биопленок с абиотических поверхностей, утверждены методические указания Роспотребнадзора [13].

В стоматологии для идентификации биопленок широко применяется метод количественной светиндуцированной флуоресценции. Он основан на спектральной эмиссии порфиринов, производимых бактериальными клетками, возбуждаемых источником света с длиной волны 405 нм. В возбужденном состоянии они излучают в красном спектре, идентифицируя биопленку. Популярность этого метода объясняется легкостью применения и неинвазивностью, что позволяет проводить как рандомизированные исследования на пациентах [14], так и лабораторные исследования [15, 16].

Среди рутинных способов идентификации биопленок, используемых в лабораторных условиях, безусловно, доминирует методика, предложенная в 1998 г. George A. O'Tool. В этом методе биопленка идентифицируется с помощью окраски генциановым фиолетовым, который связывается с матриксом и бактериальной клеточной стенкой. В дальнейшем происходит отмывка не связавшегося красителя с последующим фотометрическим определением элюированного генцианвиолета [17].

В качестве практичных, дешевых и надежных методов идентификации бактериальных биопленок в различных очагах инфекции были предложены методики окрашивания гематоксилином и эозином, периодическое окрашивание по Шиффу и окрашивание по Граму в модификации Брауна и Бренна [18]. Обнаружение биопленки с помощью этих практичных и экономически эффективных методов окрашивания применяли также и для количественной оценки биомассы биопленки [19, 20].

Альтернативой окрашиванию может служить метод, основанный на иммобилизации микрогранул при формировании биопленки на поверхности. Бактериальную суспензию смешивают с парамагнитными микрошариками перед загрузкой в лунки микротитровального планшета. Затем планшет инкубируется, и прямые измерения могут быть выполнены в различные моменты времени без каких-либо этапов окрашивания и промывки. В основе анализа лежит блокирование гранул за счет развития матрикса био-

пленки – чем массивнее биопленка, тем меньше гранулы могут двигаться при приложении магнитного поля [21].

2. Методы изучения топографии биопленки

Зрелые биопленки, формируемые бактериальными клетками, отличаются строгой упорядоченностью и сложностью структуры, обусловленной физическими и биологическими особенностями клеток. Некоторые исследователи находят много общего у биопленок с тканями многоклеточных организмов. Это заставляет рассматривать биопленку как единое образование, структурные особенности которого отражают его свойства [22]. Основную роль в изучении структур биопленок играет оптическая и электронная микроскопия в различных модификациях.

2.1. Оптическая микроскопия

Современная оптическая микроскопия уже радикально отличается от микроскопии XX века. Благодаря новым технологиям она давно перешла из разряда субъективных методов в группу точных методик, позволяющих проводить верифицируемые количественные исследования пространственно-временных и физико-химических характеристик объектов. Кроме применения новых технологий освещения и совершенствования оптических схем, особую роль сыграло широкое использование машинных методов обработки изображения. Это позволило не только ускорить и автоматизировать процесс наблюдения, но и дало возможность получать новые, ранее недоступные, сведения об объекте, а глобальная сетевая интеграция и разработка стандарта SBML (язык маркировки системной биологии) помогли создавать и использовать международные базы данных с возможностью совместной, «облачной» обработки результатов.

Например, программный комплекс SMEIAS JFrad (Center for Microbial Ecology Image Analysis System) позволяет в автоматическом режиме идентифицировать 11 морфотипов бактерий. С помощью SMEIAS были изучены морфологическое разнообразие и популяционная динамика в биопленках пресноводных видов. Программное обеспечение обладает уникальной возможностью интеллектуального анализа данных и дает возможность создавать математические модели поведения отдельных бактериальных клеток, прогнозируя их взаимодействие, использование ресурсов и пространственное распределение *in situ* [23].

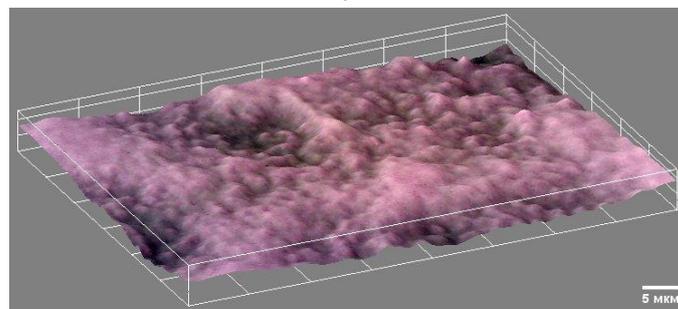
Программный пакет ImageJ (NIH–Bethesda, США) достаточно давно применяют для цифровизации и количественной оценки изображений. В настоящее время на веб-сайте ImageJ доступно более 325 макросов и 500 плагинов. Некоторые из них имеют функцию обработки трехмерных изображе-

ний, как, например, бесплатная коллекция плагинов McMaster Biophotonics Facility [24-26].

В наших исследованиях мы использовали пакет ImageJ для создания объемных изображений биопленок *Pseudomonas aeruginosa* (Рис. 1).



а



б

Рис. 1. Биопленка, сформированная *Pseudomonas aeruginosa*; 7 дней культивирования (окраска акридиновым оранжевым; увеличение $\times 1000$, масляная иммерсия). а – оригинальное изображение, б – 3D модель, созданная средствами программного пакета ImageJ).

Однако для того, чтобы проследить судьбу уже не клеток, а отдельных молекул, «классическая» оптическая микроскопия, даже с ее современным программным обеспечением и вычислительными возможностями, уже не может выступать в роли эффективного инструмента для изучения биопленок. Для этих целей необходимы более тонкие инструменты, одним из которых стала конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Существенным преимуществом конфокального микроскопа является наличие оптического сечения, которое позволяет выполнять трехмерную реконструкцию образца из серии изображений с высоким разрешением [27, 28].

2.2. Электронная микроскопия

Для изучения ультратонкой структуры биопленок широкое применение получила электронная микроскопия, которая подразделяется на трансмиссионную (ТЕМ) и сканирующую (SEM). При общих принципах исследования они имеют и существенные

различия. В ТЕМ пучок ускоренных электронов с энергией 50-200 кэВ полностью просвечивает объект и фокусируется с помощью магнитных линз на люминесцентном экране, формируя изображение с увеличением до $1,5 \times 10^{106}$ раз и разрешением 0,1 нм., но обратная зависимость глубины резкости и разрешения от толщины объекта не позволяет исследовать в ТЕМ рельефные поверхности [29]. С этой задачей прекрасно справляется SEM. В этом случае сфокусированный поток электронов «сканирует» объект, вызывая вторичную электронную эмиссию, которая преобразуется датчиками в видеосигнал. Разные углы падения сканирующего пучка, обусловленные неровностями поверхности, вызывают разную степень эмиссии, создавая высококонтрастное изображение рельефа объекта наблюдения [30].

При исследовании биопленок применяют оба варианта электронной микроскопии. ТЕМ используют в основном для получения изображения отдельных структурных компонентов, как, например, в работе Chen D. и коллег [30], посвященной роли амилоидных волокон в биопленке *Streptococcus mutans*. С помощью ТЕМ они получили изображения волокон, которые имели различную длину – от 50 нм до нескольких микрон. Авторы работы, применяя дополнительные методы анализа, аргументированно доказывают важную роль амилоидных волокон в формировании биопленок *S. mutans*. В то же время сканирующую электронную микроскопию более широко применяют для изучения биопленок с точки зрения возможности получить общую топографическую картину взаиморасположения бактериальных клеток, матрикса и других структур [31].

3. Методы исследования структурных компонентов биопленок

3.1. Атомно-силовая микроскопия

Для изучения межмолекулярных взаимодействий в биопленках широко применяется атомно-силовая микроскопия (AFM) (или иначе – сканирующая зондовая микроскопия). Она основана на измерении силового взаимодействия между поверхностью исследуемого образца и зондом микроскопа, закрепленного на конце упругой консоли, называемой кантилевером [32]. AFM позволяет количественно определять силу адгезии (сцепления), существующую между живыми клетками, а также между клетками и поверхностями, которые, в свою очередь, влияют на реологические свойства биопленок [33, 34]. Знание того, как адгезия и вязкоупругость могут влиять на развитие биопленки может быть важным при разработке механизмов контроля биопленки. Вязкоупругие свойства биопленок влияют на проникновение антимикробных препаратов и удаление биопленок с поверхностей и, следовательно, играют роль в их защите от механических и хи-

мических воздействий [35].

Развитие методических приемов AFM привело к появлению одноклеточной силовой спектроскопии (SCFS), при которой одна бактериальная клетка необратимо иммобилизуется на кантилевере AFM. Этот подход позволил изучить гомотипические взаимодействия с помощью пилей между отдельными бактериальными клетками *Lactococcus lactis* [36], получить данные о особенностях адгезии и формирования биопленок микроорганизмами в венозных катетерах [37]. Другой подход, основанный на AFM, силовая спектроскопия одиночных молекул (SMFS), был разработан для изучения межмолекулярных взаимодействий в биологических системах и широко применяется при изучении биопленок. В этом случае на кантилевере закрепляется не клетка, а отдельный лиганд. Это дало возможность исследовать, например, роль амилоидных волокон в формировании биопленок [38, 39].

3.2. Рентгеновская микроскопия

Для изучения распределения вещества в биопленке может быть использована сканирующая просвечивающая рентгеновская микроскопия (STXM). Как один из вариантов рентгеноструктурного анализа этот метод представляет собой мощный инструмент, который можно применять без обезвоживания объекта наблюдения, поскольку молекулы воды не вызывают дифракции излучения в рентгеновском диапазоне. Метод позволяет получить информацию о различных составляющих вещества, таких как химическая связь, состояние заряда и магнитного поля. С помощью STXM можно идентифицировать композиционные формы различных видов углерода, например, белки, полисахариды, липиды, нуклеиновые кислоты и другие элементы и наблюдать их распространение в биопленке без добавления зондов. Подобные методики применяют при исследованиях влияния различных веществ на биопленки, таких как частицы серебра, селена, цинка и прочих металлов [40, 41].

3.3. Томография биопленок

Томография (др.-греч. τομή – сечение) – получение послойного изображения внутренней структуры объекта. Для исследования биопленок широко применяются оптико-когерентная и микро-томография, более редко – поверхностная плазменно-резонансная томография.

Оптическая когерентная томография (ОКТ; англ. – OCT) – это неинвазивный метод оптической томографии, который все чаще используют в медицинской диагностике. OCT выявляет фотонотражающие структуры в тканях с латеральным и осевым разрешением в диапазоне 10 мкм [42], т.е. с помощью этого метода невозможно различить отдель-

ные клетки, однако для анализа изменений и морфологии матрикса, а также изучения явлений массопереноса и динамического сдвига при росте биопленки в реальном времени этот метод может быть применим. Тем более, что современные приборы ОСТ позволяют получать как 2D, так и 3D изображения [6, 43]. В исследовании, проведенном Нои J. и коллегами, была продемонстрирована возможность наблюдения за биопленками моно- и мультивидового состава на разных поверхностях и разработана методика адаптации ОСТ для анализа объема и толщины биопленок [44].

Для получения изображений более высокого разрешения возможно применение МИКРО-томографии. Метод микро-КТ (micro-СТ) характеризует структуры в зависимости от различия степени поглощения рентгеновских лучей, позволяет точно отображать структуры, максимально приближенные к их естественному состоянию, и особенно популярен в стоматологии. Идет постоянный поиск новых способов повышения качества изображения за счет введения рентгеноконтрастных веществ (сульфата бария, нитрата серебра [45, 46]) или изменения техники процесса. Так, применение двухэнергетической микро-КТ позволило подтвердить роль биопленки в деминерализации дентина [47].

3.4. Спектроскопия биопленок

Основы спектроскопии лежат в уникальности спектра отражения или поглощения для каждого химического элемента и вещества. В настоящее время в исследованиях биопленок используется как классическая спектроскопия, так и Рамановская, основанная на неупругом (нерэлеевском) рассеянии фотонов.

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (FTIR) – это метод, применяемый для визуализации пространственного распределения химических связей в образцах, а также для анализа матриц биопленок без дополнительного маркирования. С помощью FTIR изучают распределение и влияние ионов меди, наночастиц серебра, модифицированных танниновой кислотой, и других веществ на деградацию биопленки [48]. Однако молекулы воды, содержащиеся в биопленке или культуральной среде, обладают сильным поглощением в инфракрасном диапазоне. Это резко снижает разрешающую способность метода. Одним из способов уменьшения фонового сигнала от воды является применение FTIR на основе синхротронного излучения. Благодаря своей сверхвысокой яркости, более высокому пространственному разрешению и относительно простой пробоподготовке особенную популярность этот метод получил в области исследования биопленок в природе, позволив охарактеризовать некоторые аспекты их физиологии и взаимо-

действия с субстратами [49].

Изучение сложной пространственной структуры и расположения биологических молекул требует применения других методов, таких как спектроскопия с Рамановским распределением. Рамановская спектроскопия основывается на регистрации так называемого неупругого рассеяния фотонов в образце когерентного лазерного излучения. С помощью этих методик проанализировано развитие биопленок *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* и *Candida albicans* на поверхностях полиметилакрилата и доказана зависимость биопленкообразования от структуры поверхности [50].

3.5. Проточная цитофлуорометрия

Проточную цитофлуорометрию (FCM) давно и успешно используют в микробиологических исследованиях. Несмотря на то, что метод требует серьезной и дорогостоящей технической базы, он приобрел широкую популярность из-за высокой скорости анализа – до 50 000 клеток в секунду с регистрацией до 20 параметров одновременно для каждой популяции. Современные варианты метода: проточная цитофлуорометрия с визуализацией и проточная цитометрия с сортировкой (FACS) дают возможность не только получить статистические данные, но проанализировать изображения каждой клетки и физически выделить необходимые популяции [51].

В исследованиях биопленок варианты проточной цитометрии применяют в основном как дополнительный метод, позволяющий на большом объеме данных подтвердить выводы, сделанные по результатам конфокальной или флуоресцентной микроскопии, а также определить долю агрегировавших [52] или жизнеспособных бактерий [53]. Особенно часто этот прием используют в исследованиях, посвященных воздействию на биопленки различных химических соединений, таких как антибиотики [54, 55] или другие вещества синтетического и природного происхождения [44, 56]. С другой стороны, потенциальные возможности проточной цитометрии заставляют ученых постоянно искать новые подходы и методики. Так, например, в работе Grainha T. и коллег [57] рассматривается вопрос о применимости FCM для анализа мультивидовых биопленок до и после воздействия противомикробных препаратов. Так, на основе модели, состоящей из *P. aeruginosa* и *C. albicans*, авторы делают вывод, что, используя только красители PI и SYTO BC, подтверждающие жизнеспособность, микробные культуры легко дифференцируются по параметрам прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния, а также возможен подсчет жизнеспособных клеток в каждой субпопуляции.

В работе Shields R.C. и коллег внедрение флуоресцентных белков суперсемейства GFP в репор-

терные плазмиды позволило визуализировать и разделить в биопленке с помощью технологии FACS *S. mutans* UA159, *Streptococcus gordonii* DL1 и *Streptococcus* spp. штамм A12. Эксперименты показали возможность наблюдать за ростом популяций и их взаимодействие *in situ*, а также фиксировать различия между бактериями разных видов, растущими в биопленках [58].

4. Генетические методы исследования биопленок

Фенотипический переход от «свободного плавания» планктонного образа жизни к «сидячему» существованию в биопленке – это строго регулируемый процесс развития, зависящий от множества генетических факторов, которые варьируются от вида к виду. В процессе формирования биопленки изменяется активность до 40% бактериального генома, появляются новые фенотипы и субпопуляции клеток [59, 60]. Этот феномен и определяет широкую распространённость генетических методов в исследованиях биопленок.

4.1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Реакция, основанная на полимеризации цепей нуклеотидов, ПЦР, востребована практически во всех микробиологических исследованиях, посвященных биопленкам. Метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка нуклеиновой кислоты при помощи ферментов и специфических праймеров. При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. Основным недостатком ранних вариантов ПЦР была невозможность количественной оценки материала в образце. Ситуация изменилась с появлением количественной ПЦР (qPCR; ПЦР в реальном времени – Real-time PCR; qRT-PCR). В этом методе количество ДНК пропорционально флуоресценции, которая отслеживается в каждом цикле ПЦР [61]. Такие возможности позволили количественно оценивать экспрессию генов в популяционном масштабе экологических исследований. Например, в работе Sultana M. и соавт., использовали qPCR для обнаружения специфичных для *Vibrio cholerae* O1 генов *rfbO1*, кодирующих поверхностный антиген O, и *ctxA*, кодирующего субъединицу A холерного экзотоксина [62], а также в рамках отдельно взятой культуры и даже клетки. С помощью qPCR особенно эффективно оценивать воздействие различных препаратов на биопленки: количественное представление об ингибировании генов, участвующих в биопленкообразовании, является серьезным доказательством эффективности препарата. Применение qPCR также открывает широкие возможности в изучении влияния

различных генов на фенотипические особенности биопленкообразователей [63]. В то же время, несмотря на все преимущества, метод qPCR имеет серьезные недостатки, которые в основном связаны с высокими требованиями к чистоте образца [64, 65]. Попытки улучшить ситуацию привели к появлению капиллярной или цифровой ПЦР (ddPCR): этот метод предполагает разделение образца на капли и учет результатов в каждой капле индивидуально. Таким образом, дискретное представление пробы дает возможность оперировать статистическими данными и снизить влияние посторонних факторов. Цифровую ПЦР активно используют там, где чистоте образца трудно обеспечить, например, при оценке экспрессии генов в мультивидовых сообществах экосистем [66].

4.2. Секвенирование биополимеров

Определение нуклеотидной или аминокислотной последовательности биополимеров (ДНК, РНК, белков) – секвенирование – широко используется в научных исследованиях. Появление методов секвенирования нового поколения (NGS) привело к автоматизации и упрощению протокола исследования, что немедленно сказалось на популярности метода [67]. Секвенирование в бактериологии дает возможность охарактеризовать совокупность генов микроорганизма (геномика), определить их родство и место в генеалогическом дереве (филогенетика), позволяет выявить экспрессию генов (транскриптомика) и установить связь между функционированием генов и фенотипическими свойствами бактерий в популяции (метагеномика и метатранскриптомика сообщества).

На сегодняшний день для идентификации бактерий широко применяется таргетное ДНК-секвенирование таксономически значимых локусов генома, основанное на секвенировании коротких ампликонов (~ 400 п.н.) из гена рибосомной РНК 16S (16S рРНК), которым затем присваивается таксономическая идентичность путем сравнения с базами данных. Известно, что ген 16S рРНК включает комбинацию медленно развивающихся регионов вместе с 9 быстро развивающимися (вариабельными) регионами, которые различаются между бактериальными таксонами и, следовательно, становятся ценными мишенями для таксономического определения [68].

Подобный подход также позволяет проводить широкий спектр метагеномных исследований. Например, применением NGS выявили неоспоримую актуальность мониторинга биопленкообразования для изучения экосистем ротовой полости, которые включают более 700 видов бактерий, из которых около 30% еще не культивировались. Этот метод помог исследователям всесторонне каталогизировать разнообразие бактерий в различных нишах полости

рта и связать эти сообщества со здоровым или болезненным состоянием хозяина, изучить популяции продуцентов биопленок в морской воде и бытовых стоках [69].

Секвенирование всего генома дает возможность не только проводить идентификацию бактерий, но также является эффективным инструментом для сравнения вирулентных и авирулентных штаммов. Так, применение полногеномного секвенирования *K. pneumoniae* позволило исследовать механизмы вирулентности, лекарственной устойчивости и образования биопленки бактериями на уровне генома [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование биопленок является сложной комплексной научной задачей. Учитывая многообразие средств и форм, которые используют бактерии для создания этих структур, невозможно себе представить монополизацию схемы исследования каким-либо одним или ограниченной группой методов. Кроме реальной задачи, нацеленной на элиминацию биопленок в сфере практического здравоохранения, а также их культивирования для фундаментальных исследований [21], неоспорима значимость управления развитием биопленочного процесса, что вынуждает расширять спектр применяемых методов и, соответственно, усложняет создание доказательной базы.

Ранее «золотым стандартом» исследования био-

пленок являлась конфокальная микроскопия, однако сейчас акцент смещается в сторону изучения молекул и генов; применение одной лишь микроскопии считается явно недостаточным. В настоящее время широко используют сочетание микроскопических и генетических методов совместно с методами исследования структурных компонентов биопленок. При этом для скрининга (экспресс-метод) применяют различные модификации метода George A. O'Tool.

Представляется, что современная поэтапная схема изучения микробных биопленок и их активности должна выглядеть следующим образом:

1. Первичный скрининг микроорганизмов для определения их способности к биопленкообразованию.

2. Подтверждение биопленкообразования с помощью микроскопических методов.

3. Реализация задач исследования с помощью методов, предназначенных для изучения структурных компонентов биопленок.

4. Подтверждение происходящих в биопленке процессов с помощью генетических методов.

Таким образом, современная методическая база позволяет получить достаточно цельную картину событий, происходящих в процессе развития биопленки, создать и интерпретировать модель ее формирования, изучить способы воздействия на биопленку и предложить варианты ее деструкции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аджиева А.А., Данилова Т.А., Данилина Г.А. и др. Влияние антибиотиков на образование биопленки *Streptococcus pyogenes* в условиях *in vitro*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021; 98: 59-64. [Adzhieva A.A., Danilova T.A., Danilina G.A., et al. Influence of antibiotics on biofilm formation by *Streptococcus pyogenes* *in vitro*. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2021; 98: 59-64. (In Russ.)]. doi.org/10.36233/0372-9311-64
2. Ramos J.N., Souza C., Faria Y.V., et al. Bloodstream and catheter-related infections due to different clones of multidrug-resistant and biofilm producer *Corynebacterium striatum*. BMC Infect. Dis. 2019; 19 (1): 672. doi.org/10.1186/s12879-019-4294-7
3. Hathroubi S., Servetas S.L., Windham I., et al. *Helicobacter pylori* biofilm formation and its potential role in pathogenesis. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2018; 82 (2): e00001-18. doi: 10.1128/MMBR.00001-18
4. Roy R., Tiwari M., Donelli G., Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. Virulence. Taylor and Francis Inc. 2018; 9 (1): 522-554. doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372
5. Schilcher K., Horswill A.R. Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2020; 84 (3). doi.org/10.1128/MMBR.00026-19
6. Depetris A., et al. Automated 3d optical coherence tomography to elucidate biofilm morphogenesis over large spatial scales. J. Vis. Exp. 2019; 2019 (150). doi.org/10.3791/59356
7. Balaban N.Q., Helaine S., Lewis K., et al. Definitions and guidelines for research on antibiotic persistence. Nat. Rev. Microbiol. 2019; 17 (7): 441-448. doi.org/10.1038/s41579-019-0196-3
8. Zhang S., Guo L., Yang K., et al. Induction of *Escherichia coli* into a VBNC state by continuous-flow UVC and subsequent changes in metabolic activity at the single-cell level. Front. Microbiol. 2018; 9: 2243. doi: 10.3389/fmicb.2018.02243
9. Davey H.M. Life, death, and in-between: meanings and methods in microbiology. Appl. Environ. 2011; 77 (16): 5571-5576. doi.org/10.1128/AEM.00744-11

10. Di Gregorio L., Congestri R., Tandoi V., et al. Biofilm diversity, structure and matrix seasonality in a full-scale cooling tower. *Biofouling*. Biofouling, 2018; 34 (10): 1093-1109. doi.org/10.1080/08927014.2018.1541454
11. Баулер Ф.Г. и др. Композиция и способ для обнаружения биопленок на жизнеспособных тканях: pat. 2 650 803 USA. Россия, 2018. [Bauler F.G. et al. Composition and method for detecting biofilms on viable tissues: pat. 2 650 803 USA. Russia, 2018.(In Russ.)].
12. Романова Ю.М., Тутельян А.В., Сеницын А.П. и др. Ферменты из группы карбогидраз разрушают структуру матрикса биопленок грамположительных и грамотрицательных бактерий. *Медицинский алфавит*. 2019; 4 (34): 40-45. [Romanova Yu.M., Tutelyan A.V., Sinityn A.P., et al. Enzymes from carbohydrase group destroy biofilm matrix of gram-positive and gram-negative bacteria. *Medical alphabet*. 2019; 4 (34): 40-45. (In Russ.)] doi.org/10.33667/2078-5631-2019-4-34(409)-40-45
13. МР 4.2.0161-19 Методы индикации биологических пленок микроорганизмов на абиотических объектах. М., 2019. [MP 4.2.0161-19 Methods of indication of biological films of microorganisms on abiotic objects. Moscow, 2019.(In Russ.)].
14. Shin N.R., Choi J.S. Manual dexterity and dental biofilm accumulation in independent older adults without hand disabilities: A cross-sectional study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019; 25: 74-83. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.11.007
15. Lee E.-S., de Josselin de Jong E., Jung H-I, Kim B-I. Red fluorescence of dental biofilm as an indicator for assessing the efficacy of antimicrobials. *J. Biomed. Opt*. 2018; 23 (1): 1-6. doi: 10.1117/1.JBO.23.1.015003
16. Felix Gomez G.G., Lippert F., Ando M., et al. Effect of violet-blue light on *Streptococcus mutans*-induced enamel demineralization. *Dent. J. Dent J (Basel)*. 2018; 6 (2): 6. doi: 10.3390/dj6020006
17. O'Toole G.A. Microtiter dish Biofilm formation assay. *J. Vis. Exp*. 2011; (47): 2437. doi: 10.3791/2437
18. Parnell-Turner H., Griffin C.E., Rosenkrantz W.S., et al. Evaluation of the use of paired modified Wright's and periodic acid Schiff stains to identify microbial aggregates on cytological smears of dogs with microbial otitis externa and suspected biofilm. *Vet. Dermatol*. 2021; 32 (5): 448-e122. doi.org/10.1111/vde.13009
19. Nickerson K.P., Faherty C.S. Bile salt-induced biofilm formation in enteric pathogens: techniques for identification and quantification. *J. Vis. Exp*. 2018; (135): 57322. doi: 10.3791/57322
20. Grossman A.B., Burgin D.J., Rice K.C. Quantification of *Staphylococcus aureus* biofilm formation by crystal violet and confocal microscopy. *Methods Mol. Biol*. 2021; 2341: 69-78. doi: 10.1007/978-1-0716-1550-8_9
21. Azeredo J., Azevedo N.F., Briandet R., et al. Critical review on biofilm methods. *Crit. Rev. Microbiol*. 2017; 43 (3): 313-351. doi: 10.1080/1040841X.2016.1208146
22. Lade H., Park J.H., Chung S.H., et al. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates is differentially affected by glucose and sodium chloride supplemented culture media. *J. Clin. Med*. 2019; 8 (11): 1853. doi: 10.3390/jcm8111853
23. Ji Z., Card K.J., Dazzo F.B. CMEIAS JFrad: A digital computing tool to discriminate the fractal geometry of landscape architectures and spatial patterns of individual cells in microbial biofilms. *Microb. Ecol*. 2015; 69 (3): 710-20. doi: 10.1007/s00248-014-0495-1
24. Mushashe A.M. et al. Effect of biofilm exposure on marginal integrity of composite restorations. *Am J. Dent*. 2020; 33 (4): 201-205. PMID: 32794395
25. Rocha M.P., Santos M.S., Rodrigues P.L.F., et al. Photodynamic therapy with curcumin in the reduction of enterococcus faecalis biofilm in bone cavity: rMicrobiological and spectral fluorescence analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021; 33: 102084. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.102084
26. Garcez A.S., Barrosa L.C., Fernandes M.R.U., et al. Fluorescence image and microbiological analysis of biofilm retained around healthy and inflamed orthodontic miniscrews. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020; 30: 101707. doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101707
27. Elliott A.D. Confocal microscopy: principles and modern practices. *Curr. Protoc. Cytom*. 2020; 92 (1): e68. doi: 10.1002/cpcy.68
28. Bayguin P.O., Oakley D.M., Shih C-C., et al. Modern laser scanning confocal microscopy. *Curr. Protoc. Cytom*. 2018; 85 (1):e39. doi: 10.1002/cpcy
29. Franken L.E., Grünwald K., Boekema E.J., et al. A Technical introduction to transmission electron microscopy for soft-matter: imaging, possibilities, choices, and technical developments. *Small*. 2020; 16 (14): 1906198. doi.org/10.1002/sml.201906198
30. Chen D., Cao Y., Yu L., et al. Characteristics and influencing factors of amyloid fibers in *S. mutans* biofilm. *AMB Express*. 2019; 9 (1): 31. doi: 10.1186/s13568-019-0753-1
31. Relucenti M., Familiari G., Donfrancesco O., et al. Microscopy methods for biofilm imaging: focus on sem and VP-SEM pros and cons. *Biology (Basel)*. 2021; 10 (1):51. doi: 10.3390/biology10010051
32. Парфенов В.А., Юдин И.А. Атомно-силовая микроскопия и ее применения в науке, технике и реставрации.

- Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ». 2015; 9: 61-70. [Parfenov V.A., Yudin I.A. Atomic force microscopy and its applications in science, technology and restoration. Izvestiya SPbSETU "LETT". 2015; 9: 61-70. (In Russ.)].
33. Berne C., Ellison C.K., Ducret A., Brun Y.V. Bacterial adhesion at the single-cell level. *Nature Reviews Microbiology*. 2018; 16: 616-627. doi.org/10.1038/s41579-018-0057-5
34. Beaussart A., El-Kirat-Chatel S. Microbial adhesion and ultrastructure from the single-molecule to the single-cell levels by Atomic Force Microscopy. *The Cell Surface*. 2019; 5: 100031. doi.org/10.1016/j.tcs.2019.100031
35. Grzeszczuk Z., Rosillo A., Owens Ó., Bhattacharjee S. Atomic Force Microscopy (AFM) as a surface mapping tool in microorganisms resistant toward antimicrobials: a mini-review. *Front Pharmacol*. 2020; 11: 517165. doi: 10.3389/fphar.2020.517165.
36. Dramé I., Formosa-Dague C., Lafforgue C., et al. Analysis of homotypic interactions of *Lactococcus lactis* pili using single-cell force spectroscopy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2020; 12 (19): 21411-21423. doi.org/10.1021/acsami.0c03069
37. Jung P., Mischo C.E., Gunaratnam G., et al. *Candida albicans* adhesion to central venous catheters: Impact of blood plasma-driven germ tube formation and pathogen-derived adhesins. *Virulence*. 2020; 11 (1): 1453-1465. doi: 10.1080/21505594.2020.1836902
38. Lester-Zer N., Ghrayeb M., Chai L. Nanomechanical properties of steric zipper globular structures. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2019; 116 (45): 22478-22484. doi.org/10.1073/pnas.1908782116
39. Ho V., Herman-Baustier P., Shaw C., et al. An amyloid core sequence in the major *Candida albicans* adhesin Als1p mediates cell-cell adhesion. *mBio*. 2019; 10 (5): e01766-19. doi: 10.1128/mBio.01766-19
40. Divya M., Govindarajan M., Karthikey S., et al. Antibiofilm and anticancer potential of β -glucan-binding protein-encrusted zinc oxide nanoparticles. *Microb. Pathog*. 2020; 141: 103992. doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103992
41. Leoney A., Karthigeyan S., Asharaf A.S., Felix A.J.W. Detection and categorization of biofilm-forming *Staphylococcus aureus*, *Viridans streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* isolated from complete denture patients and visualization using scanning electron microscopy. *J. Int. Soc. Prev. Community Dent*. 2020;10 (5): 627-633. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_256_20
42. Haisch C., Niessner R. Visualisation of transient processes in biofilms by optical coherence tomography. *Water Res*. 2007; 41 (11): 2467-72. doi: 10.1016/j.watres.2007.03.017
43. Wagner M., Horn H. Optical coherence tomography in biofilm research: A comprehensive review. *Biotechnol Bioeng*. 2017; 114 (7): 1386-1402. doi: 10.1002/bit.26283
44. Hou J., Wang C., Rozenbaum R.T., et al. Bacterial density and biofilm structure determined by optical coherence tomography. *Sci. Rep*. 2019; 9: 9794. doi.org/10.1038/s41598-019-46196-7
45. Keleş A., Keskin C., Kalkan M., et al. Visualization and characterization of *Enterococcus faecalis* biofilm structure in bovine dentin using 2D and 3D microscopic techniques. *Arch. Microbiol*. 2021; 203: 269-277. doi.org/10.1007/s00203-020-02031-6
46. Soares A.P., Blunck U., Bitter K., et al. Hard X-ray phase-contrast-enhanced micro-CT for quantifying interfaces within brittle dense root-filling-restored human teeth. *J. Synchrotron. Radiat*. 2020; 27 (Pt 4): 1015-1022. doi: 10.1107/S1600577520005603
47. Pires P.M., Dos Santos T.P., Fonseca-Gonçalves A., et al. A dual energy micro-CT methodology for visualization and quantification of biofilm formation and dentin demineralization. *Arch. Oral. Biol*. 2018; 85: 10-15. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.09.034
48. Zhang Z., Liu Y., Lu M., et al. *Rhodiola rosea* extract inhibits the biofilm formation and the expression of virulence genes of cariogenic oral pathogen *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral. Biol*. 2020; 116: 104762. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104762
49. Reuben S., Banas K., Banas A., Swarup S. Combination of synchrotron radiation-based Fourier transforms infrared microspectroscopy and confocal laser scanning microscopy to understand spatial heterogeneity in aquatic multispecies biofilms. *Water Res*. 2014; 64: 123-133. doi: 10.1016/j.watres.2014.06.039
50. Keleştemur S., Çobandede Z., Çulha M. Biofilm formation of clinically important microorganisms on 2D and 3D poly (methyl methacrylate) substrates: A surface-enhanced Raman scattering study. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2020; 188: 110765. doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110765
51. Пучков Е.О. Методы количественного анализа единичных клеток микроорганизмов. *Микробиология*. 2019; 88 (1): 3-18. [Puchkov E.O. Methods of quantitative analysis of single cells of microorganisms. *Microbiology*. 2019; 88 (1): 3-18. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0026365619010130
52. Yu J., Jiang F., Zhang F., et al. Thermonucleases contribute to *Staphylococcus aureus* biofilm formation in implant-associated infections—a redundant and complementary story. *Front. Microbiol*. 2021; 12: 687888. doi: 10.3389/fmicb.2021.687888
53. Chen G., Lin M., Chen Y., et al. Induction of a viable but nonculturable state, thermal and sanitizer tolerance,

and gene expression correlation with desiccation-adapted biofilm and planktonic *Salmonella* in powdered infant formula. *J. Food Prot.* 2021; 84 (7): 1194-1201. doi: 10.4315/JFP-20-402

54. Hou Z., Zhang B., She P., et al. Anti-planktonic and anti-biofilm effects of two synthetic anti-microbial peptides against *Staphylococcus epidermidis*. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2021; 46 (5): 481-487. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2021.200360

55. Do Av Sá L.G., da Silva C.R., de A Neto J.B., et al. Etomidate inhibits the growth of MRSA and exhibits synergism with oxacillin. *Future Microbiol.* 2020; 15: 1611-1619. doi: 10.2217/fmb-2020-0078

56. Usmani Y., Ahmed A., Faizi S., et al. Antimicrobial and biofilm inhibiting potential of an amide derivative [N-(2', 4'-dinitrophenyl)-3 β -hydroxyurs-12-en-28-carbonamide] of ursolic acid by modulating membrane potential and quorum sensing against colistin resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Pathog.* 2021; 157: 104997. doi: 10.1016/j.micpath.2021.104997

57. Grainha T., Magalhães A.P., Melo L.D.R., Pereira M.O. Pitfalls associated with discriminating mixed-species biofilms by flow cytometry. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9 (11): 741. doi: 10.3390/antibiotics9110741

58. Shields R.C., Kaspar J.R., Lee K., et al. Fluorescence tools adapted for real-time monitoring of the behaviors of *Streptococcus* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85 (15):e00620-19. doi: 10.1128/AEM.00620-19

59. Hall C.W., Mah T.F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017; 41 (3): 276-301. doi: 10.1093/femsre/fux010

60. Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ, 2017. 301 с. [Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibacterial therapy. Vitebsk: VSMU, 2017. 301 p.(In Russ.)].

61. Forero D.A., González-Giraldo Y., Castro-Vega L.J., Barreto G.E. qPCR-based methods for expression analysis of miRNAs. *BioTechniques.* 2019; 67 (4): 192-199. doi.org/10.2144/btn-2019-0065

62. Sultana M., Nusrin S., Hasan N.A., et al. Biofilms comprise a component of the annual cycle of *Vibrio cholerae* in the bay of bengal estuary. *MBio.* 2018; 9 (2). doi.org/10.1128/mBio.00483-18

63. Uribe-García A., Paniagua-Contreras G.L., Monroy-Pérez E., et al. Frequency and expression of genes involved in adhesion and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* strains isolated from periodontal lesions. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2021; 54 (2): 267-275. doi: 10.1016/j.jmii.2019.05.010

64. Grudlewska-Buda K., Skowron K., Gospodarek-Komkowska E. Comparison of the intensity of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* using classical culture-based method and digital droplet PCR. *AMB Express.* 2020; 10: 75. doi.org/10.1186/s13568-020-01007-5

65. Taylor S.C., Laperriere G., Germain H. Droplet digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: From variable nonsense to publication quality data. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1). doi.org/10.1038/s41598-017-02217-x

66. Kitajima M., Cruzc M.C., Williamsd R.B.H., et al. Microbial abundance and community composition in biofilms on in-pipe sensors in a drinking water distribution system. *Sci. Total Environ.* 2021; 766: 142314. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142314

67. Ребриков Д.В. NGS Высокопроизводительное секвенирование. М.: Лаборатория знаний, 2020. 235 с. [Rebrikov D.V. NGS High-performance sequencing. M.: Laboratory of Knowledge, 2020. 235 p. (In Russ.)].

68. Belibasakis G.N., Manoil D. Microbial community-driven etiopathogenesis of peri-implantitis. *Journal of Dental Research.* 2021; 100 (1): 21-28. doi.org/10.1177/0022034520949851

69. Wade W.G., Prosdocimi E.M. Profiling of oral bacterial communities. *Journal of Dental Research.* 2020; 99 (6): 621-629. doi.org/10.1177/0022034520914594

70. Wang G., Zhao G., Chao X., Xie L., Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Aug 28; 17 (17): 6278. doi: 10.3390/ijerph17176278

Поступила в редакцию журнала 22.09.2022

Рецензент: И.А. Рябинин



ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОРЯДКА АСТИНОМУСЕТАLES (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Лямин А.В. (профессор кафедры)*, Ерещенко А.А. (ассистент кафедры), Жестков А.В. (зав. кафедрой), Гусякова О.А. (зав. кафедрой), Козлов А.В. (старший преподаватель кафедры), Исмагуллин Д.Д. (ассистент кафедры)

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Кислотоустойчивые представители порядка Actinomycetales в последние годы все чаще выделяются в качестве этиологической причины инфекционных процессов различной локализации. Многообразие данной группы прокариот требует определенных знаний в их метаболической активности и потребности в условиях культивирования, соблюдение которых значимо повысит частоту их выделения из клинического материала и значительно улучшит диагностику. Особый интерес среди кислотоустойчивых актиномицетов представляют нетуберкулезные микобактерии, которые чаще попадают в поле зрения врачей-бактериологов лабораторий противотуберкулезной службы. В обзоре представлены данные о возможности культивирования нетуберкулезных микобактерий и других актиномицет на агаризованных средах, что расширяет возможность их обнаружения при работе с материалом в непрофильных по туберкулезным микобактериями лабораториях.

Ключевые слова: кислотоустойчивые актиномицеты, нетуберкулезные микобактерии, культивирование, питательные среды

FEATURES OF CULTIVATION OF INDIVIDUAL REPRESENTATIVES OF THE ORDER ACTINOMYCETALES (LITERATURE REVIEW)

Lyamin A.V. (professor of the department), Ereshchenko A.A. (assistant of the department), Zhestkov A.V. (head of the department), Gusyakova O.A. (head of the department), Kozlov A.V. (senior lecturer of the department), Ismatullin D.D. (assistant of the department)

Samara State Medical University, Samara, Russia

* Контактное лицо: Лямин Артем Викторович,
e-mail: avlyamin@rambler.ru

Acid-resistant representatives of the Actinomycetales order in recent years have been increasingly identified as the etiological cause of infectious processes of various localization. The diversity of this group of prokaryotes requires certain knowledge of their metabolic activity and the need for cultivation conditions, the observance of which will significantly increase the frequency of their isolation from clinical material and significantly improve diagnostics. Of particular interest among acid-resistant actinomycetes are non-tuberculous mycobacteria, which more often come to the attention of bacteriologists of anti-tuberculosis laboratories. The review presents data on the possibility of cultivating non-tuberculous mycobacteria and other actinomycetes on agar media, which expands the possibility of their detection when working with the material in laboratories that are not specialized in tuberculosis mycobacteria.

Key words: acid-resistant actinomycetes, nontuberculous mycobacteria, cultivation, nutrient media

Современные методы медицинской микробиологии существенно расширили возможности выделения большинства микроорганизмов с различными потребностями в ростовых факторах [1-3]. Широкое внедрение в практику применения селективных и хромогенных сред в большей мере увеличило возможности выделения и идентификации как сложно культивируемых, так и эпидемиологически значимых микроорганизмов [4, 5].

В последние годы также появляются литературные данные о возможности применения питательных сред для выделения микроорганизмов с отдельными механизмами антибиотикорезистентности [6, 7]. Расширение наименований питательных сред отразилось и на проведении стандартных микробиологических исследований, и на специфичных направлениях медицинской микробиологии. Так, возможность применения жидкой питательной среды Миддлбрук 7Н9 в практике противотуберкулезных лабораторий позволила сократить сроки выделения микобактерий и повысить чувствительность культурального метода исследования на туберкулез [8].

Цель работы: проанализировать данные научной литературы о возможностях расширения использования питательных сред для выделения кислотоустойчивых актиномицетов.

Приведенные выше преимущества современных питательных сред формируют новые задачи перед врачами-бактериологами и медицинскими микробиологами. Основные подходы к проведению лабораторной диагностики туберкулеза были сформированы еще в XX веке. Первостепенной задачей представлялось выделение облигатно-патогенной группы микроорганизмов *Mycobacterium tuberculosis* complex (МТВс). Выделение остальных представителей рода *Mycobacterium* являлось второстепенным с точки зре-

ния дифференциальной диагностики, не говоря о других кислотоустойчивых актиномицетах (КУА). Данный диагностический подход обоснован с точки зрения приоритетных эпидемиологической и клинической задач – выделение патогенного микроорганизма. Разработанные и внедренные в рутинную практику питательные среды на основе яичной эмульсии включают в свой состав значительный перечень эссенциальных веществ для выявления патогенных микобактерий: комплексы минеральных солей и компоненты желтка куриного яйца [9]. В Российской Федерации широко используются среды Левенштейна-Йенсена, Финн-П, Школьниковой, применение которых регламентировано соответствующей нормативной базой [10]. Однако стоит учитывать и тот факт, что неорганические компоненты, липиды, аминокислоты и белки куриного яйца, входящие в состав данных сред, также могут влиять на условия для культивирования других КУА, в связи с этим необходим анализ их культуральных особенностей: сроков и условий начала роста колоний, возможности выделения чистых культур из клинического материала при применении данных сред.

Лабораторная тактика, основанная на создании благоприятных условий культивирования для одной группы микроорганизмов, также может быть применена для обнаружения иных групп. Для подтверждения данного предположения требуется проведение соответствующих исследований. В качестве одного из таких примеров можно рассмотреть алгоритм выделения и предварительной идентификации нетуберкулезных микобактерий (НТМ) на питательных средах для МТВс, который был разработан в 1971 г. Ranyon E. и Grange J.M. [11]. Согласно данному алгоритму, все НТМ по культуральным свойствам условно можно разделить на четыре подкласса. Первые три подкласса НТМ имеют преимущественно медленный характер роста и зачастую являются клинически значимыми [12]. К ним относятся фотохромогенные НТМ, образующие на свету пигмент (чаще желтых цветов); скотохромогенные, образующие пигмент в темноте; нефотохромогенные, не образующие пигментов либо имеющие слабовыраженную окраску колоний. В четвертую группу входят быстрорастущие НТМ, не способные образовывать пигмент на свету. Характерными признаками данной группы являются наличие видимого роста и отсутствие пигмента на 7-10 сутки при посеве на яичные среды [13].

Сформированная во второй половине XX века классификация микобактерий до настоящего времени значительно не изменилась, несмотря на накопление большого количества литературных сведений о новых видах НТМ, их признаках и свойствах. Однако в зарубежной литературе появляются сведения о скорости роста НТМ на стандартных питательных сре-

дах, не используемых для выделения МТВс [14]. При этом временной критерий разделения видов на медленно и быстрорастущие снижен до 7-и суток при посеве на среду Левенштейна-Йенсена [15]. Также отметим, что быстрорастущие НТМ могут демонстрировать видимый рост значительно позже 7-и суток при первичном посеве биологического материала, что определяется рядом факторов: проводимой антибактериальной химиотерапией, используемыми методами деконтаминации материала, соблюдением правил преаналитического этапа при транспортировке биоматериала в лабораторию; а медленно растущие НТМ могут дать видимый рост ранее 7-и суток [16].

Применение жидких питательных сред для посева клинического материала также обуславливает характер роста как медленно, так и быстрорастущих НТМ. Данный факт также необходимо учитывать при проведении бактериологических исследований. В литературе представлены сведения о значительном сокращении сроков культивирования представителей МТВс при применении автоматических бактериологических анализаторов при исследованиях на туберкулез [17]. Однако отсутствуют данные о комплексных исследованиях влияния способов культивирования при применении иных сред на рост КУА и возможности их предварительной идентификации, что может иметь приоритетный характер при выборе антибактериальной тактики лечения.

Исходя из вышесказанного, подход к дифференцировке НТМ на медленно и быстрорастущие на основе их культуральных свойств может быть применен лишь при строгом соблюдении критериев оценки скорости появления видимого роста. Данный подход не следует использовать при анализе результатов первичных посевов клинического материала, поскольку может привести к неправильному дальнейшему выбору методов идентификации выявленных культур и получению ложноотрицательных результатов в случаях, когда скорость роста НТМ является «нетипично» быстрой или медленной. Помимо этого, необходимо учитывать данную особенность при проведении выбраковки образцов, поскольку зачастую при появлении видимых колоний микобактерии спустя 24-48 часов образец чаще интерпретируется как контаминированный посторонней микробиотой, и дальнейшее его исследование не проводится, что приводит к ложноотрицательной интерпретации посева. Различные интервалы появления видимого роста на плотных средах характерны и для других КУА [18].

В литературных данных также имеется достаточное количество описанных способов культивирования МТВс, НТМ и других КУА на «традиционных» питательных средах: мясо-пептонном, кровяном, шоколадном агаре, агаре с сердечно-мозговым экстрактом, агаре Сабуро, средах для выделения *Burkholderia*

serasia complex (BCC) и других элективных средах [19, 20]. Такие способы описаны и для первичных, и для вторичных посевов представителей КУА. Данный факт является немаловажным, его необходимо учитывать при изучении возможности применения имеющихся питательных сред как при первичном посеве, так и для выделения и предварительной идентификации микроорганизмов из группы КУА.

Дополнительной задачей при выборе питательных сред является выявление и анализ их лимитирующих компонентов, избыток или недостаток которых может приводить к замедлению или полному прекращению роста микроорганизмов группы КУА. Такими примерами являются нехватка ионов железа или переизбыток белка в питательной среде, что в свою очередь приводит к подавлению роста сапрофитных микроорганизмов, для естественных условий обитания которых характерно низкое содержание пептидных молекул [21]. Данные факторы могут повлиять на искажение результатов при оценке первичных посевов в том случае, если предварительная классификация основана лишь на оценке скорости роста микроорганизмов.

На наш взгляд, перспективным с точки зрения практического применения в работе бактериологических лабораторий является изучение возможностей применения универсальных хромогенных питательных сред для первичного посева и возможной предварительной идентификации КУА при работе с биоматериалом и коллекционными культурами. Данные среды разнообразны по своему составу, поскольку должны обеспечить потребность различных групп бактерий и грибов в питательных компонентах. Помимо этого, в их составе отсутствует избыток белковых соединений, следовательно, они могут использоваться и для культивирования сапрофитных микроорганизмов, естественными условиями колонизации которых является окружающая среда. К этой группе относятся практически все представители условно-патогенных КУА. С другой стороны, данные среды имеют широкий химический состав, а значит являются перспективным объектом исследования с точки зрения анализируемой группы микроорганизмов.

На российском рынке представлен широкий перечень универсальных хромогенных сред, применяющихся для выделения патогенов как из одного типа биологического материала (например, моча), так и из различных локусов (классические универсальные хромогенные среды). Таким образом, изучение возможностей использования классических и жидких сред для выделения МТВс, а также универсальных хромогенных сред для культивирования микроорганизмов из группы КУА позволит сформировать новый блок данных для повышения эффективности обнаружения НТМ и других КУА в рамках микробиологического метода.

Установлено, что в МТВс протекают достаточно сложные процессы обмена веществ, характеризующиеся широкими потребностями в макро- и микрокомпонентах для обеспечения роста на искусственных питательных средах [22]. НТМ длительное время культивировались на средах, предназначенных в первую очередь для выделения МТВс (среды Левенштейна-Йенсена и Финн-II). В последнее время все чаще поднимается вопрос о возможности использования синтетических сред для культивирования НТМ. Широкое практическое применение получили «модифицированные» среды Миддлбрук, демонстрирующие высокий показатель продуктивности для НТМ и МТВс [23].

Ранее авторами была проведена работа по сравнению приемлемости различных видов питательных сред для выделения НТМ и других КУА [24]. Среда Левенштейна-Йенсена оказалась оптимальной для выявления всех видов НТМ, включенных в исследование. В то же время данная среда не продемонстрировала достаточных показателей продуктивности для культивирования других видов КУА (выражающееся в отсутствии роста или значительном изменении среды). При сравнении характера роста основных видов НТМ на различных питательных средах обнаружено, что при использовании универсальной хромогенной среды наблюдаются более выраженные количественные ростовые свойства для всех исследуемых НТМ (за исключением *M. peregrinum*) по сравнению с кровяным агаром. Для штаммов *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. septicum*, культивируемых на хромогенной среде, также отмечены более высокие критерии продуктивности («более 70%»). При этом статистически значимой разницы в средних сроках появления роста основных видов НТМ на универсальной хромогенной среде и среде Левенштейна-Йенсена отмечено не было, однако они оказались достоверно ниже, чем при использовании кровяного агара.

Помимо этого, установлено, что применение универсальной хромогенной среды расширяет возможности проведения предварительной идентификации НТМ и других КУА по культуральным свойствам, а использование селективной добавки не оказывает отрицательного воздействия на ростовые свойства КУА, что обуславливает возможность их использования как при работе с клиническим материалом, так и для выделения чистых культур КУА из микст-культур.

Для обеспечения жизнедеятельности микобактерий, а также других аэробных актиномицетов необходимы эссенциальные минеральные вещества, являющиеся факторами роста для данных микроорганизмов. К таким веществам относится в том числе и железо [25]. В состав яичных сред входят органические формы железа (овотрансферрин) [26]. Согласно данным департамента сельского хозяйства США,

концентрация железа в яичной массе равна 0,0175 мг/г. Данная концентрация удовлетворяет потребности большинства легко культивируемых микроорганизмов в железе, составляющая 0,002 мг/мл [25]. Однако необходимо принимать во внимание то, что железо может существовать в различных формах (свободной или связанной) и, соответственно, иметь разную биодоступность. Так, в курином яйце молекулы железа связаны с белком, за счет чего, вероятно, формируется депо данного микроэлемента. Эта форма позволяет снизить вероятность токсического воздействия железа на микроорганизмы с одной стороны, а с другой – обеспечить их рост и размножение [27]. Помимо этого, приведенная концентрация железа рассчитана на основании ее содержания в неорганической соли сульфат железа гептагидрат, что также может влиять на способность микобактерий получать железо из данной формы.

Дефицит доступных форм железа в природе привел к появлению и развитию у микобактерий в ходе эволюции ряда механизмов, позволяющих им получать данный микроэлемент в достаточном количестве для обеспечения жизнедеятельности. Одним из наиболее ярких примеров таких механизмов является способность синтезировать сидерофоры – молекулы, обеспечивающие захват и транспорт железа в бактериальную клетку [28]. Для сапрофитных микроорганизмов характерно получение железа сидерофорами из его малорастворимых и нерастворимых соединений, в свою очередь патогенные микроорганизмы чаще получают этот микроэлемент из металлопротеинов [29]. В связи этим возникает вопрос о том, какая форма железа является более выгодной и доступной для НТМ и других КУА – неорганические соли железа или железосодержащие белки? Учитывая, что большинство КУА относятся к сапрофитам, можно предположить, что основным источником железа для них все же являются нерастворимые неорганические формы. Данные формы железа широко представлены в окружающей среде, что исключает его дефицит для микроорганизма. Однако получение железа из неорганических солей сопряжено со значительными энергетическими и временными затратами, что может отразиться на скорости роста микобактерий на питательных средах.

В состав модифицированных сред Миддлбука входит железо в форме аммонийного цитрата с концентрацией 0,04 г/л [30]. Данные среды являются оптимальными для культивирования МТВс и НТМ. По результатам исследования, проведенного авторами, достоверно установлено, что и другие представители КУА демонстрируют наибольшую скорость роста в бульоне Миддлбука 7Н9 [24].

Несмотря на сопоставимые данные по содержанию железа в средах на яичной основе и Миддлбука, остается открытым вопрос о доступности железа в

яичных средах для обеспечения роста сапрофитных НТМ и других КУА, которые могут принимать участие в патологических процессах у человека, особенно с учетом отсутствия у микобактерий протеолитических ферментов, обеспечивающих высвобождение железа, что создает оптимальные условия для роста и размножения микроорганизмов. С другой стороны, следует учитывать, что избыток ионов железа способен подавить рост микроорганизмов, в связи с этим при выявлении ассоциации двух и более микроорганизмов на яичных средах протеолитическая активность одного из них способна ингибировать рост другого [31].

На скорость роста сапрофитных микроорганизмов также могут влиять и избыток содержания определенных компонентов среды. Известно, что в средах на яичной основе содержится достаточное количество общего белка, что в целом является закономерным [11]. При этом в научной литературе имеются данные об ингибировании роста сапрофитной биоты при избытке нативных белков в питательной среде [21]. В то же время полное отсутствие в компонентном составе белков также отразится на ростовых свойствах питательных сред.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Искусственные питательные среды, в том числе и хромогенные, широко используемые в работе микробиологических лабораторий, могут применяться для культивирования редких и прихотливых микроорганизмов из группы КУА, что подтверждено значительным количеством исследований, проведенных в Российской Федерации и за рубежом. Внедрение культуромных технологий в рутинную микробиологическую практику должно проходить не только с учетом селективности сред, но и с обязательной оценкой их состава. Анализ эссенциальных компонентов питательных сред может значительно расширить возможности культурального метода в медицинской микробиологии, что становится особенно актуальным с учетом широкого использования в современных лабораториях MALDI-TOF масс-спектрометрии (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) как основного метода для идентификации классических и нетривиальных патогенов. Поиск новых методов культивирования различных групп микроорганизмов является одним из самых перспективных направлений в современной медицинской микробиологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. В данной работе не было никаких экспериментальных исследований, в которых были использованы в качестве объектов люди или животные.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шевцов А.А., Дранников А.В., Пономарев А.В. и др. Алгоритм микропроцессорного управления параметрами культивирования автотрофных микроорганизмов. Автоматизация и современные технологии. 2011; 8: 33-35. [Shevtsov A.A., Drannikov A.V., Ponomarev A.V., et al. Parameters microprocessor-based control algorithm for autotrophic microorganisms cultivation. Automation and modern technologies. 2011; 8: 33-35. (In Russ)].
2. Кокиева Г.Е. Исследование аппарата для культивирования микроорганизмов. Научно-технический вестник Поволжья. 2014; 4: 123–125. [Kokieva G.E. Study of the cultivation of the microorganism. Scientific and technical bulletin of the Volga region. 2014; 4: 123-125. (In Russ)].
3. Нагызбеккызы Э., Молдагулова Н.Б., Сембаева Д.Ж. и др. Подбор оптимальных параметров культивирования штаммов молочнокислых бактерий, перспективных в качестве стартерных культур при разработке закваски прямого внесения. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019; 7: 14-18. [Nagyzbekkyzy E., Moldagulova N.B., Sembaeva D.Zh., et al. Selection of optimal parameters for cultivating the lactic acid bacteria strains perspective as a starter cultures for development the starter of direct application. International journal of applied and fundamental research. 2019; 7: 14-18. (In Russ)].
4. Полухина О.В., Суборова Т.Н., Егорова С.А. и др. Алгоритм ускоренного бактериологического исследования с использованием хромогенных питательных сред. Справочник заведующего КДЛ. 2015; 1: 3-8. [Poluhina O.V., Suborova T.N., Egorova S.A., et al. The algorithm of accelerated bacteriological research using chromogenic nutrient media. Directory of the head of Laboratory. 2015; 1: 3-8. (In Russ)].
5. Исаева Г.Ш., Поздеев О.К. Отечественная хромогенная среда для выделения *Helicobacter pylori*. Клиническая лабораторная диагностика. 2009; 8: 35-37. [Isayeva G. Sh., Pozdeyev O.K. The russian chromogenic medium for isolation of *Helicobacter pylori*. Clinical laboratory diagnostics. 2009; 8: 35-37. (In Russ)].
6. Коробова А.Г., Фролова И.Н., Клясова Г.А. Использование селективной хромогенной среды для детекции энтеробактерий с продукцией бета-лактамаз. Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (11): 53-57. [Korobova A.G., Frolova I.N., Klyasova G.A. The application of selective chromogenic agar for detecting enterobacteria with production of beta-lactamases. Clinical laboratory diagnostics. 2015; 60 (11): 53-57. (In Russ)].
7. Graveland H., van Duijkeren E., van Nes A., et al. Evaluation of isolation procedures and chromogenic agar media for the detection of MRSA in nasal swabs from pigs and veal calves. Vet Microbiol. 2009;139 (1-2):121-5. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.05.019
8. Севастьянова Э.В., Черноусова Л.Н. Современные алгоритмы микробиологической диагностики туберкулеза. Туберкулез и болезни легких. 2018; 96 (7): 11-17. [Sevastjanova E.V., Chernousova L.N. Modern algorithms of microbiological diagnosis of tuberculosis. Tuberculosis and lung diseases. 2018; 96 (7): 11-17. (In Russ)]. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-7-11-17
9. Radomski N., Cambau E., Moulin L., et al. Comparison of culture methods for isolation of nontuberculous mycobacteria from surface waters. Appl. Environ Microbiol. 2010; 76 (11): 3514-3520. doi: 10.1128/AEM.02659-09
10. Приказ № 109 МЗ РФ от 21 марта 2003 года «О предупреждении распространения туберкулеза в Российской Федерации». [Order of the MH RF No. 109. March 21, 2003. «On the prevention of the spread of tuberculosis in the Russian Federation». (In Russ)].
11. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Ковалева Е.П. Руководство по медицинской микробиологии : в 3 томах. Т. 2. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты. М.: Бином, 2014; 880 с. [Labinskaya A.S., Kostyukova N.N. Kovaleva E.P. Guide to medical microbiology. Opportunistic infections: clinical and epidemiological aspects. М.: Beanom, 2014; 880 pp. (In Russ.)]
12. Макарова М.В., Краснова М.А., Фрейман Г.Е. и др. Частота обнаружения разных видов нетуберкулезных микобактерий в Москве. Туберкулез и болезни легких. 2009; 9: 29-32. [Makarova M.V., Krasnova M.A., Frejman G.E. et al. The frequency of detection of different types of nontuberculosis mycobacteria in Moscow. Tuberculosis and lung diseases. 2009; 9: 29-32. (In Russ.)]
13. Koh W.J., Kwon O.J., Lee K.S. Nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases in immunocompetent patients. Korean J. Radiol. 2002; 3 (3): 145-157. doi: 10.3348/kjr.2002.3.3.145
14. Plongla R., Preece C.L., Perry J.D., et al. Evaluation of RGM medium for isolation of nontuberculous mycobacteria from respiratory samples from patients with cystic fibrosis in the United States. J. Clin. Microbiol. 2017; 55 (5): 146961477. doi: 10.1128/JCM.02423-16
15. Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C. Manual of clinical microbiology. 11th ed. Washington: ASM Press, 2015; 2730 p.
16. Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Жестков А.В. и др. Контаминирующая микрофлора при обследовании на туберкулез: сапрофиты или потенциальные патогены? Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2019; 3: 63-

70. [Lyamin A.V., Ismatullin D.D., Zhestkov A.V., et al. Contaminating microflora at a tuberculosis test: saprophytes or potential pathogens? Immunopathology, Allergology, Infectology. 2019; 3: 63-70. (in Russ.)]. doi: 10.14427/jipai.2019.3.63
17. *Pena J.A., Ferraro M.J., Hoffmann C.G., et al.* Growth detection failures by the non-radiometric Bactec MGIT 960 mycobacterial culture system. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 2092-2095. doi: 10.1128/JCM.00108-12
18. *Staneck J.L., Roberts G.D.* Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *Appl. Microbiol.* 1284; 28 (2): 226-231. doi: 10.1128/am.28.2.226-231.1974
19. *Paulose R.M., Joseph J., Narayanan R., et al.* Clinical and microbiological profile of non-tuberculous mycobacterial endophthalmitis-experience in a tertiary eye care centre in Southern India. *J. Ophthalmic. Inflamm. Infect.* 2016; 6 (1): 27. doi: 10.1186/s12348-016-0096-x
20. *Coban A.Y., Akgüneş A., Durupınar B.* Evaluation of blood agar medium for the growth of mycobacteria. *Mikrobiyol. Bul.* 2011; 45 (4): 617-622.
21. *Лабинская А.С., Волина Е.Г.* Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. М.: БИНОМ, 2008; 1080 с. [Labinskaya A.S., Volina E.G. Guide to medical microbiology. General and sanitary microbiology. М.: Beanom, 2008; 1080 pp. (In Russ.)]
22. *Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова С.М.* Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. М.: БИНОМ, 2010; 1152 с. [Labinskaya A.S., Kostyukova N.N. Ivanova S.M. Guide to medical microbiology. Private medical microbiology and etiological diagnosis of infections. М.: Beanom, 2010; 1152 pp. (in Russ.)]
23. *Jindal N., Gainer S., Dhaliwal L.K. et al.* The Role of MGIT 960 culture medium in resolving the diagnostic dilemma for genital tuberculosis patients presenting with infertility. *J. Obstet. Gynaecol. India.* 2018; 68 (2): 123-128. doi: 10.1007/s13224-017-1077-1
24. *Лямин А.В.* Новые подходы к культивированию и идентификации кислотоустойчивых представителей порядка *Actinomycetales*, выделенных из клинического материала: автореф. дис... док. мед. наук. Челябинск, 2020; 47 с. [Lyamin A.V. New approaches to the cultivation and identification of acid-resistant representatives of the order *Actinomycetales* isolated from clinical material: Abstract. diss... Doctor of Medical Sciences. Chelyabinsk, 2020; 47 pp. (In Russ.)].
25. *Козлов А.В., Лямин А.В., Кондратенко О.В. и др.* Микобактериозы у пациентов с муковисцидозом: причина или следствие микрoэкологических изменений в бронхолегочной системе. Астраханский медицинский журнал. 2020; 15 (1): 57-65. [Kozlov A.V., Lyamin A.V., Kondratenko O.V., et al. Mycobacteriosis in patients with cystic fibrosis: the cause or effect of microecological changes in the bronchopulmonary system. Astrakhan medical journal. 2020; 15 (1): 57-65. (in Russ.)]. doi: 10.17021/2020.15.1.57.65
26. *Giansanti F., Leboffe L., Angelucci F., et al.* The nutraceutical properties of ovotransferrin and its potential utilization as a functional food. *Nutrients.* 2015; 7 (11): 9105-9115. doi: 10.3390/nu7115453
27. *Julien L.A., Baron F., Bonnassie S., et al.* The anti-bacterial iron-restriction defence mechanisms of egg white; the potential role of three lipocalin-like proteins in resistance against *Salmonella*. *Biomaterials.* 2019; 32: 453-467. doi: 10.1007/s10534-019-00180-w
28. *Nairz M., Schroll A., Sonnweber T., et al.* The struggle for iron a metal at the host-pathogen interface. *Cellular Microbiology.* 2010; 12 (12): 1691-1702. doi: 10.1111/j.1462-5822.2010.01529.x
29. *Ленгелер Й., Древис Г., Шлегель Г.* Современная микробиология. Прокариоты: в 2 томах. Т. 1 : пер. с англ. М.: Мир, 2005; 656 с. [Lengeler J., Drevis G., Shlegel' G. Modern microbiology. Prokaryotes. Vol. 1. – М.: Mir, 2005; 656 pp. (In Russ.)].
30. *Snyder J.W., Atlas R.M.* Handbook of media for clinical microbiology. 2-nd ed. CRC Press, 2006; 544 p.
31. *Wang F., Yao J., Tian L., et al.* Microcalorimetric investigation of the toxic action of ammonium ferric (III) sulfate on the metabolic activity of pure microbes. *Environmental toxicology and pharmacology.* 2008; 25: 351-357. doi: 10.1016/j.etap.2007.11.004

Поступила в редакцию журнала 17.10.2022

Рецензент: Л.А. Кафтырева



РЕДКИЕ ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ И ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ (КРАТКИЙ ОБЗОР)

Рябинин И.А. (ассистент кафедры, н.с.)*

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

В обзоре представлены краткие характеристики избранных возбудителей кишечных инфекций – *Clostridioides difficile*, *Brachyspira aalborgi* и *Cronobacter* spp., а также пищевых токсикоинфекций – *Proteus* spp. и *Bacillus cereus*. Рассматриваемые возбудители разнородны по своим биологическим свойствам, их выбор для обзора обусловлен сравнительно небольшим объемом времени, отведенного для их изучения в образовательных программах. Помимо биологических особенностей и роли в патологии человека, описано их взаимодействие с грибами рода *Candida*. Для иллюстрации свойств бактерий, которым посвящена статья, дополнительно приведены MALDI-масс-спектры кислотно-травленных клеток, снятые автором.

Сообщение будет полезным в качестве дополнительной литературы для студентов специалитета, осваивающих частную медицинскую бактериологию, а также ординаторов, обучающихся по специальностям «Бактериология» и «Медицинская микробиология».

Ключевые слова: антибиотик-ассоциированная диарея, кишечные инфекции, кишечный спирохетоз, пищевые токсикоинфекции, псевдомембранозный колит, *Bacillus cereus*, *Brachyspira*, *Clostridioides difficile*, *Cronobacter*, *Proteus*

RARE CAUSATIVE AGENTS OF INTESTINAL AND TOXIC INFECTIONS (BRIEF REVIEW)

Ryabinin I.A. (assistant of the department, scientific researcher)

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

The review presents brief characteristics of selected causative agents of intestinal infections – *Clostridioides difficile*, *Brachyspira aalborgi* and *Cronobacter* spp., as well as food-borne diseases – *Proteus* spp. and *Bacillus cereus*. The pathogens under consideration are heterogeneous in their biological properties; their choice for review is due to the relatively small

amount of time allotted for their consideration in educational programs. In addition to biological features and role in human pathology, interaction with micromycetes of the genus *Candida* is described. MALDI-mass-spectra of acid-treated cells taken by the author are additionally given to illustrate the properties of the bacteria to which the communication is devoted.

The review will be useful as additional literature for undergraduate students which are studying special medical bacteriology, as well as for residents studying in the specialties «Bacteriology» and «Medical microbiology».

Key words: antibiotic-associated diarrhea, intestinal infections, intestinal spirochetosis, food toxic infections, pseudomembranous colitis, *Bacillus cereus*, *Brachyspira*, *Clostridioides difficile*, *Cronobacter*, *Proteus*

ВВЕДЕНИЕ

Клинические проявления острых кишечных инфекций складываются из синдромов, связанных с нарушением функции конкретного пораженного отдела алиментарного канала (гастритический, энтеральный, колитический синдромы, их комбинация), интоксикационного синдрома, в ряде случаев – проявлений со стороны других органов, если возбудитель склонен к генерализованному распространению. Круг возбудителей данных состояний включает вирусы (пикорна-, рота-, адено-, астро- и коронавирусы), бактерии (группа энтеробактерий / *Enterobacteriales*, семейства *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae*, *Campylobacteraceae*) и простейших (*Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Dientamoeba fragilis*, *Cystoisospora belli*). В стационарах у ослабленных пациентов с определенными факторами риска (включая антибиотикотерапию) острую кишечную патологию вызывает *Clostridioides difficile*, иногда – некоторые стафилококки и синегнойная палочка. Среди возбудителей хронических кишечных инфекций фигурируют некоторые представители вышеназванных групп в случае хронизации острой инфекции, но также известны и первично хронические инфекции и протозойные инвазии, связанные с *Helicobacter pylori*, *Brachyspira* spp., *Tropheryma whipplei*, *Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis* и *Cryptosporidium* spp. Что касается пищевых токсикоинфекций, перечень возможных микроорганизмов-возбудителей здесь чрезвычайно широк, однако следует понимать, что представители конкретных групп имеют трофические предпочтения к определенным «виновным» продуктам.

Ряд особо опасных бактериальных инфекций также может вызывать поражение пищеварительного тракта при некоторых вариантах течения – абдоминальной форме туляремии, кишечных формах сибирской язвы и чумы, но эти заболевания традици-

* Контактное лицо: Рябинин Игорь Андреевич, e-mail: Igor.Ryabinin@szgmu.ru

онно рассматриваются в обособленном разделе микробиологии.

Современный врач, работающий как в сфере клинической, так и профилактической медицины, должен владеть представлениями об особенностях отдельных возбудителей кишечных инфекций и пищевых токсикоинфекций, которые отражаются в своеобразии течения связанных с ними патологий, подходах к лабораторной диагностике и лечению. В связи с этим обстоятельством необходима работа по формированию свода базовой информации о конкретных возбудителях, который позволит в дальнейшем вести упорядоченное изучение отдельных микробных патогенов в сложившихся условиях профессиональной деятельности.

Цель сообщения: представить краткие характеристики возбудителей кишечных инфекций, ассоциированных с антибиотикотерапией (*C. difficile*), фульминантного энтероколита новорожденных детей

с генерализацией (*Cronobacter* spp.), хронического кишечного спирохетоза (*Brachyspira* spp.) и пищевых токсикоинфекций (*Proteus* spp. и *B. cereus*).

СОКРАЩЕНИЯ

- ААД** – антибиотик-ассоциированная диарея;
- ЛПС** – липополисахарид;
- ПМК** – псевдомембранозный колит;
- ПТИ** – пищевая токсикоинфекция;
- CD-инфекция** – инфекция, обусловленная *Clostridioides difficile*;
- MALDI-TOF-MS** – *англ.* Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, матрично-активированная лазерная ионизационно-десорбционная времяпролетная масс-спектрометрия;
- MDR** – *англ.* multidrug resistance, множественная устойчивость к антимикробным препаратам.

ХАРАКТЕРИСТИКА РАССМАТРИВАЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

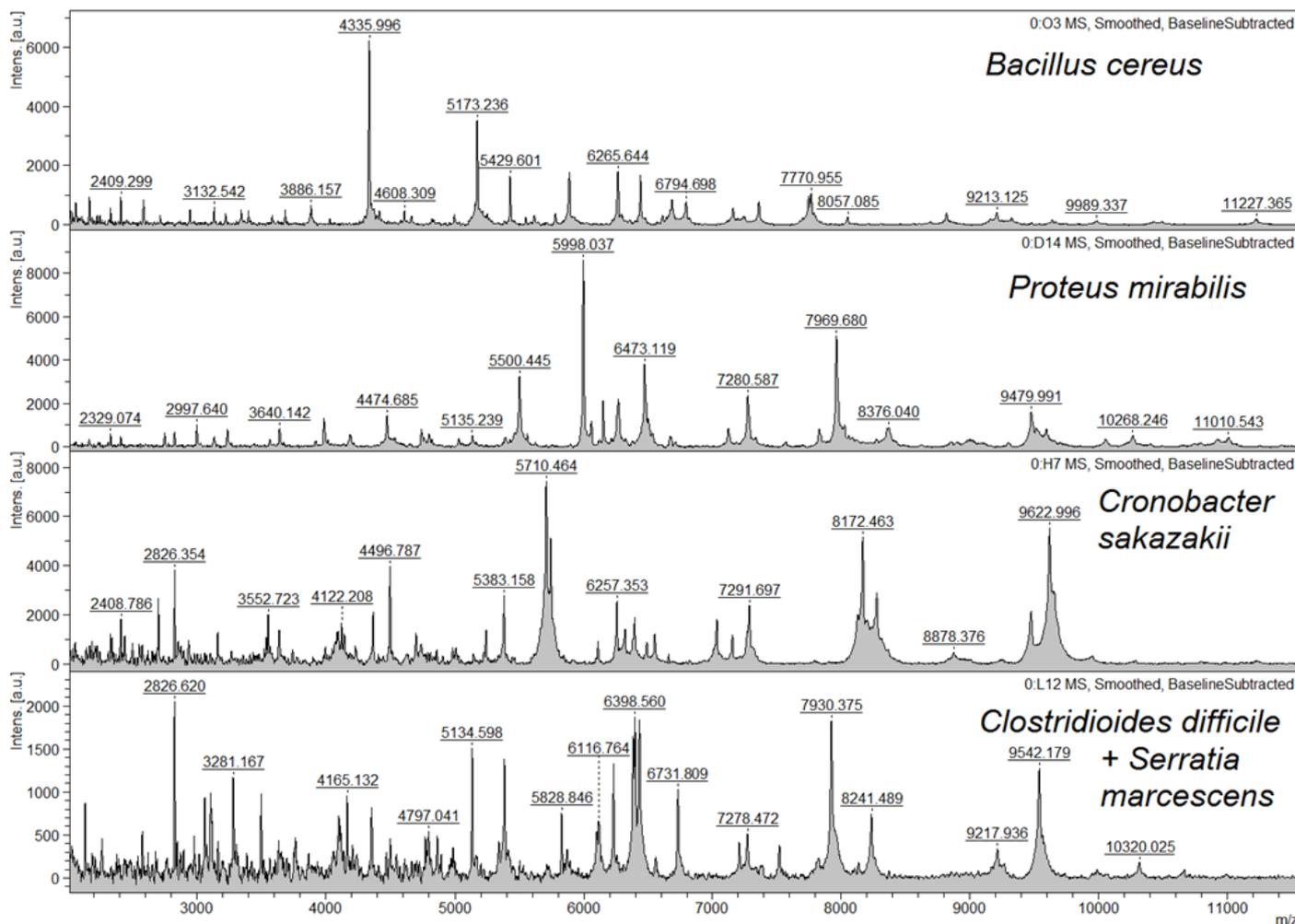


Рис. Идентификационные MALDI-масс-спектры клеток рассматриваемых в обзоре кишечных патогенов, обработанных муравьиной кислотой и снятых в режиме «МВТ».

***Cronobacter* spp. (Рис.).**

Род грамотрицательных бактерий семейства (группы) кишечных. Средних размеров палочки (как *Escherichia coli*), неприхотливые, легко культивируются. Большинство видов подвижны, перитрихи. Уникальное свойство – устойчивость к высушиванию, способность обитать в среде с низкой активностью воды (нехарактерно для грамотрицательных бактерий в целом). Предполагаемый механизм – запасание трегалозы в клетках. При 25 °С на неселективных средах образуют характерный светло-желтый пигмент [1, 2]. Кронобактеров выделяли из различных объектов внешней среды: почвы, воды, личинок мух, многих видов пищевых продуктов, но основной природный резервуар остаётся невыясненным [3]. Самый известный вид – *C. sakazakii*. Наиболее опасны для детей первого года жизни: вызывают некротический энтероколит, сепсис, часто – с гнойным менингоэнцефалитом. Быстротекущая патология с коротким инкубационным периодом. Может привести к гибели за несколько суток, иногда – несколько часов. У выживших остаются глубокие неврологические дефекты [5]. Факторы патогенности кронобактеров: белки наружной мембраны, секретируемая металлопротеаза, энтеротоксин, ДНКаза, ЛПС. Фактор передачи – сухие молочные смеси для детского питания. Возбудитель размножается в них до инфекционной дозы, если смесь после регидратации слишком долго, нежели это рекомендовано, оставляют при комнатной температуре. Эти бактерии встречаются в патологии взрослых, в частности при раневых инфекциях, уроинфекциях, тяжёлые системные поражения редки. Стандартный протокол терапии кронобактерной инфекции еще не разработан. По данным некоторых наблюдений *in vitro*, наиболее эффективны против кронобактеров ципрофлоксацин и триметоприм/сульфаметоксазол. Встречается устойчивость к ампициллину, амоксициллин-клавулонату, некоторым цефалоспорином. Разработан протокол выявления кронобактеров в пищевых продуктах культуральным (бактериологическим) методом, а также ПЦР-тест-система [1, 2]. Разрабатывают способы предотвращения размножения кронобактеров в молочных продуктах (сухих молочных смесях), для этого разные авторы предлагают использовать бактериофаги против *Cronobacter* spp., обрабатывать смеси на производстве с помощью гамма-излучения, добавлять некоторые химические агенты. Еще не один из этих подходов не исследовали на предмет безопасности.

Группа корейских исследователей обнаружила, что метаболиты заквасочных микроорганизмов для производства кефира – *Candida kefyr* (*Kluyveromyces marxianus*) и *Lactobacillus kefir* обладают способностью ингибировать рост *C. sakazakii*. Авторы работа-

ли с кефирным супернатантом и обнаружили, что его добавка для регидратации сухой молочной смеси до 30% предотвращает рост кронобактера в модельном опыте с контаминацией, даже если смесь инкубировать в течение часа при комнатной температуре [6].

***Proteus* spp. (Рис.).**

Род бактерий семейства (группы) кишечных. Исторически первый род семейства. Грамотрицательные палочки средних размеров, иногда (в неблагоприятных условиях: действие желчных солей, старение культуры) – коккобактерии и кокки. Неприхотливы к условиям культивирования. Подвижны, перитрихи. На плотных питательных средах образуют колонии, распространяющиеся в форме плёнки, нередко с рисунком из концентрических кругов («кольца роения»). Колонии источают характерный запах тухлой рыбы. Наиболее известные виды: *P. vulgaris* и *P. mirabilis*. Обитатели кишечника различных животных. Известные вредители мясных и рыбных продуктов, особенно пресервов, возбудители пищевых токсикоинфекций [7]. Иногда колонизируют кишечник человека в качестве транзитного компонента при функциональных расстройствах. Также могут вызывать гнойно-септические инфекции различной локализации, уроинфекции, катетер-ассоциированные инфекции. Факторы патогенности протеев: ЛПС, фимбрии, белки наружной мембраны, полисахарид микрокапсулы, дезаминазы аминокислот, уреазы, протеазы, иммуноглобулиназа, гемолизины, цитотоксин, системы захвата ионов железа, цинка и фосфат-аниона, активная подвижность, способность к образованию биопленок, способность к формированию пузырьков из наружной мембраны [8, 9]. При выделении на плотных средах из-за роения протеи препятствуют получению чистых культур других бактерий. Чтобы остановить роение, микробиологи прибегают к специальным приемам: посев на среды с желчными солями, обработка поверхности среды перед посевом тампоном со спиртом, добавление в среды детергента «тергитол-4», посев на среды без NaCl (способ Г.Н. Чистовича).

Proteus spp., как оказалось, способны ингибировать у *C. albicans* переход из дрожжевых клеток в filamenty, тем они препятствуют образованию грибковой биопленки. Интересно, что таким эффектом обладают живые клетки протеев, их метаболиты из культуральной жидкости, и в несколько меньшей степени – убитые клетки [10].

***Clostridioides difficile* (ранее *Clostridium*) (Рис.).**

Грамположительная палочка сравнительно крупных размеров. Строгий анаэроб. Образует центральные или субцентральные эндоспores. Подвижны, имеют несколько перитрихальных жгутиков.

Сравнительно прихотлива, требует питательных сред с богатыми источниками азота, хороший эффект на рост *C. difficile* оказывает добавление желточной эмульсии. Разработаны селективные плотные среды для выделения этого микроорганизма из испражнений. При освещении длинноволновым ультрафиолетом колонии флуоресцируют желтоватым светом. Обитает в кишечнике человека, но в норме содержание *C. difficile* крайне мало в сравнении с другими представителями микробиоты. Исключение составляют дети первого года жизни, от которых даже иногда получают токсигенные культуры в отсутствие характерной клиники. Доказана передача *C. difficile* в стационарах через эндоспоры, которые отличаются азотолерантностью [11]. *C. difficile* является возбудителем антибиотик-ассоциированной диареи (ААД) и псевдомембранозного колита (ПМК). В качестве основного фактора риска для развития этих заболеваний выступает антибиотикотерапия, в особенности длительная и комбинированная. В данном случае антибиотики подавляют размножение многих представителей нормальной микробиоты кишечника, тем самым, снижаются концентрации микробных метаболитов, в норме сдерживающих рост *C. difficile*. У самого возбудителя ААД и ПМК очень своеобразная чувствительность к антимикробным препаратам, многие широко применяемые антибиотики не действуют на *C. difficile* [12]. Таким образом начинается неконтролируемое размножение *C. difficile*, одновременно ее клетки продуцируют сигнальные метаболиты – «автоиндукторы». Когда концентрация автоиндукторов достигает определённого критического уровня, происходит дерепрессия генов вирулентности. Главными факторами вирулентности *C. difficile* являются экзотоксины – энтеротоксин А и цитотоксин В. После интернализации в энтероцит (колоноцит) экзотоксины вызывают повреждение межклеточных контактов, из образовавшихся «щелей» выходит в просвет кишки вода и электролиты, также токсины вызывают апоптоз эпителия кишечника. Так реализуется диареогенный эффект. При массивном размножении *C. difficile* под действием токсинов на поверхности слизистой оболочки толстого кишечника образуются обширные эрозии, язвы, микробные метаболиты и продукты разрушения собственных тканей вызывают сильный воспалительный ответ, отек, на обнажившихся поверхностях образуются фибриновые плёнки – «псевдомембраны» [13]. Это жизнеугрожающее состояние – псевдомембранозный колит. В случае низкой эффективности антимикробной терапии возможна перфорация кишечника. Летальность при своевременном и эффективном лечении ПМК составляет около 2%, но у ослабленных фоновым состоянием больных возрастает до 20%, а при тяжёлом течении ПМК с развитием токсического мегаколона погибает до 35% пациентов. Различ-

ные антибиотики в разной степени провоцируют ААД и ПМК, наиболее часто такие осложнения наблюдаются при использовании линкозамидов, фторхинолонов, некоторых бета-лактамов (амоксциллин, амоксициллин, ингибиторзащищенные полусинтетические пенициллины, кроме тикарциллин-клавулоната и пиперациллин-тазобактама, цефалоспорины II и III поколений). Для этиотропной терапии ПМК применяют метронидазол, пероральный ванкомицин (необычная форма, в других случаях его применяют парентерально), фидаксомицин, рифаксимин [14].

Для лабораторной диагностики заболеваний, вызванных *C. difficile*, используют иммунологические экспресс-тесты: обнаружение в испражнениях антигена возбудителя – специфической глутаматдегидрогеназы, а также токсинов А и В. Помимо этого, из приёмов быстрой диагностики применяют полимеразную цепную реакцию. Возможно выделение *C. difficile* из биоматериала в культуре, в этом случае целесообразно определение лекарственной чувствительности изолята. Среди штаммов *C. difficile* встречается устойчивость к метронидазолу и ванкомицину, иногда – к другим препаратам. Описаны изоляты типа «MDR» с устойчивостью к антибиотикам трёх и более групп. Резистентность к фидаксомицину фактически отсутствует, находили единичные устойчивые изоляты. Лабораторную диагностику ПМК необходимо проводить, комбинируя микробиологические методы, поскольку ни один метод в отдельности не обладает оптимальными показателями эффективности [14]. Диагноз ПМК ставят обязательно по сочетанию лабораторных и клинических данных, в том числе (если состояние пациента позволяет) с помощью ректороманоскопии. В тяжёлых случаях применяют хирургическое пособие, которое может включать илеостомию, гемиколонэктомию или субтотальную колэктомию (с сохранением прямой кишки). Альтернативным способом терапии инфекций, обусловленных *C. difficile*, особенно в случае рецидивирующего ПМК, является «фекальная трансплантация». Принцип этого подхода состоит в следующем: значительную часть бактерий кишечника, которые оказывают ингибирующий эффект на рост *C. difficile*, невозможно масштабным образом культивировать в промышленных и даже лабораторных условиях, тогда как препараты кондиционированных испражнений здорового донора позволяют восстановить их популяции, уничтоженные предшествующей антибиотикотерапией. Предпочтение отдают родственникам пациента, однако этот критерий не является решающим: важно соматическое состояние донора и особенности рациона. Доноров обследуют на наличие ряда инфекционных патологий, а микробное разнообразие в испражнениях оценивают средствами метагеномики. Как показала практика обслед-

дования, более разнообразен состав кишечной микробиоты при смешанном рационе питания, а у приверженцев вегетарианства и веганства он более скудный. Испражнения подвергают фильтрации. Введение осуществляют по-разному, например, с помощью колоноскопа либо путем инстилляций; удобными оказались капсулы с кишечнорастворимой оболочкой для приёма *per os*. Препарат испражнений для капсул лиофилизируют. При «фекальной трансплантации» лечебный эффект оказывают не только бактерии донора, но и их метаболиты [15]. Вокруг процедуры «фекальная трансплантация» ведутся ожесточённые дебаты как в аспекте ее эффективности, так и в этическом аспекте. Важная сторона проблемы заключается в том, что кондиционированные испражнения невозможно стандартизировать, как иммунобиологический препарат.

У *C. difficile* своеобразные взаимоотношения с *C. albicans*. У инфекций, вызванных обоими микроорганизмами, общие факторы риска, включая пребывание пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии, антибиотикотерапию, а также тяжелую фоновую соматическую патологию. Известны случаи сочетанной инфекции, обусловленной *C. difficile*, и кандидемии. Предположили, что изменения микробиоты, которые приводят к развитию *C. difficile*-обусловленных патологий, также стимулируют инвазивность у *Candida spp.* В эксперименте оказалось, что *C. difficile* ингибирует образование псевдогиф у *C. albicans* за счет продукции сигнального вещества – *p*-крезола из тирозина, в то же время *C. albicans* оказывает необычный протективный эффект на *C. difficile*, позволяет этому микроорганизму *in vitro* выживать в аэробных условиях [16].

В практике НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина изоляты *C. difficile* выявляли только в ассоциации с другими микроорганизмами, как это видно в примере на рисунке.

***Bacillus cereus* (Рис.).**

Грамположительная спорообразующая палочка сравнительно крупных размеров. Подвижная, перитрих. Эндоспоры в клетке располагаются центрально. Очень неприхотлива к условиям обитания и культивирования, адаптируется в широком диапазоне температур, в оптимальных условиях ведёт себя, как психрофил. Типичный представитель микробиоты почвы, встречается в жилых помещениях, может колонизировать и размножаться практически в любых пищевых продуктах. У человека вызывает пищевые токсикоинфекции (ПТИ) двух типов: (1) с преобладанием тошноты и рвоты, более коротким инкубационным периодом и (2) с преобладанием диареи, более длинным инкубационным периодом [17, 18]. Как правило, в случаях ПТИ, вызванных *B. cereus*, «ви-

новый» пищевой продукт на длительное время оставляли храниться при комнатной температуре, оптимальной для размножения *B. cereus*. При рвотных отравлениях основную роль в патогенезе играет циклический пептид цереулид, синтез которого кодируется плазмидой. Чаще всего рвотные отравления связаны с пищевыми продуктами, содержащими растительный крахмал: блюда из риса, картофеля и др., поскольку продукция цереулида у штаммов *B. cereus* сочетается со способностью гидролизовать крахмал. Изредка «рвотные» отравления с участием *B. cereus* бывают смертельными. Это происходит при поступлении очень большой дозы цереулида, который в этом случае вызывает острую печеночно-клеточную недостаточность. «Диарейные» отравления обусловлены действием гемолизина (цереолизина), негемолитического энтеротоксина и ряда фосфолипаз. Помощь пациенту традиционная, как при большинстве ПТИ: приём энтеросорбентов, восстановление водно-электролитного баланса, при необходимости – промывание желудка. Разработаны протоколы культурального (бактериологического) обнаружения *B. cereus* в пищевых продуктах [19], имеется тест латекс-агглютинации для выявления диарейного токсина (для цереулида тест-система разработана, но еще не поставлена на промышленное производство).

Иногда *B. cereus* является возбудителем инфекций, в частности – это один из важнейших агентов посттравматических эндофтальмитов, наряду со *Staphylococcus epidermidis* [20]. Пациенту выполняют итравитреальные инъекции антибиотиков, витреоректомию, нередко приходится прибегать к эквисцерации или энуклеации орбиты. Прогноз в отношении сохранения зрения здесь неблагоприятный: обычно в успешных случаях у поражённого глаза сохраняется светоощущение или ощущение движения. На экспериментальных моделях эндофтальмита (кролик) показана эффективность некоторых фторхинолонов (моксифлоксацин, гатифлоксацин) и ванкомицина. Очень редко у крайне ослабленных пациентов *B. cereus* вызывает раневые инфекции, сепсис, эндокардит, пневмонию, менингит, остеомиелит [21]. *B. cereus* способна к продукции бета-лактамаз, встречается вторичная устойчивость к рифампицину.

Опасения вызывают случаи заболеваний, напоминающих сибирскую язву, которые обусловлены особыми штаммами *B. cereus*, несущими плазмиду вирулентности. В генотипе этих штаммов сочетаются элементы геномов *B. cereus* и *B. anthracis*. Необходим мониторинг таких штаммов как возбудителей особо опасных инфекций [22].

B. cereus выделяет антимикробное соединение канозамин, которое блокирует процесс энергетического использования глюкозы у *C. albicans* [23].

Brachyspira aalborgi – небольшая анаэробная спирохета. Для визуализации используют темнопольную микроскопию. Тонкая клетка имеет всего 1-2 завитка, иногда только лёгкий изгиб, в движение ее приводят 4 эндожутика. Движения у *B. aalborgi* 2-х типов: плавающие с вращением клетки и извивающиеся, когда один конец клетки прикреплен к субстрату. Это вид спирохет культивируют в анаэробных условиях (атмосфера из углекислого газа и водорода) на кровяном агаре, но рост происходит очень медленно (минимум 2 недели) [24]. *Brachyspira* spp. являются возбудителями кишечного спирохетоза человека, а также многих млекопитающих и птиц. Спирохетоз кишечника – хроническая инфекция, проявляющаяся повторными эпизодами диареи, но возможно и бессимптомное носительство. Манифестные формы спирохетоза наблюдают у детей, а среди взрослых – при ВИЧ-инфекции, у мужчин, практикующих гомосексуальные контакты. Симптоматическое течение спирохетоза бывает ассоциировано с ювенильными поливами кишечника. Спирохетоз может сочетаться с другими кишечными инфекциями. Наряду с *B. aalborgi*, у человека эту патологию вызывает *B. pilosicoli*, которая часто колонизирует кишечник и других млекопитающих. *B. aalborgi* более характерна для западного полушария, а *B. pilosicoli* – для восточного. Манифестное течение спирохетоза проявляется неспецифическими симптомами: болью в животе, диареей, иногда – чередованием эпизодов диареи и констипации. Кишечник спирохетоз известен уже более века, однако до сих пор нет достоверно эффективных клинических и лабораторных подходов для оценки этиологической значимости обнаружения брахиспир. Инфицированность населения в разных регионах Мира варьирует сильно – от нескольких процентов до 100% [25]. Для их выявления используют биопсию толстого кишечника (в биоптате клетки брахиспир густо покрывают колоноциты, закрепляясь на их поверхности одним концом, а второй обращён в просвет кишки; иногда видны интраэпителиальные лейкоциты), а также полимеразную цепную реакцию. Биоптаты ипрегнируют серебром по Вартину-Старри.

Novind-Hougen K., et al. (1982) в статье «Intestinal spirochetosis: morphological characterization and cultivation of the spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov.» показано, что на колоноците брахиспиры закрепляются между микроворсинками, обычно ближайšie к ним микроворсинки оказываются заглубленными и укороченными, в месте прикрепления брахиспир к мембране при электронной микроскопии видна некая гранула. Сам же колоноцит, кроме некоторых изменений микроворсинок, никаких патологических особенностей не приобретает. Брахиспиры не поступают внутрь клеток

Стандартные протоколы терапии кишечного

спирохетоза еще не разработаны, у пациентов использовали метронидазол, клиндамицин или препараты группы макролидов, после чего наблюдали улучшение клинической картины [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из характеристик, рассмотренные возбудители отличаются разнообразными стратегиями поражений органов пищеварения, зачастую с диаметрально противоположными особенностями. Так, при возникновении колита *C. difficile* и *C. sakazakii* сильно повреждают слизистую оболочку, в случае кронеобактерного колита она практически утрачивает типичную гистоархитектонику. Напротив, при хроническом колите, вызванном *Brachyspira* spp., кроме появления клеток самого возбудителя, минимальные изменения эпителия имеются только на уровне ультраструктуры. В пищевых отравлениях, обусловленных *B. cereus*, ведущее значение имеют белковые экзотоксины возбудителя, тогда как при токсикоинфекциях, связанных с *Proteus* spp., участвуют комплекс компонентов клеток (эндотоксинов) и секретруемые протеями низко- и высокомолекулярные метаболиты (*Proteus* spp. не считают типичными экзотоксигенными бактериями).

Все рассмотренные микроорганизмы, за исключением брахиспир, где этот процесс ещё не описан, специфически взаимодействуют с *Candida* spp. как с одним из компонентов резидентной микробиоты тела человека. Примечательно, что во взаимодействии *Candida albicans* с *B. cereus*, *C. sakazakii* и *Proteus* spp. бактерии играют, по-видимому, доминирующую роль, а в случае пары *C. albicans* – *C. difficile* взаимодействие имеет явный двусторонний характер. Вопросы взаимодействия грибов рода *Candida* и возбудителей рассматриваемой группы требуют более пристального внимания, поскольку известно, что ряд прокариот может своими метаболитами стимулировать экспрессию факторов патогенности *Candida* spp. [25].

Микробиологические исследования при пищевых токсикоинфекциях (отравлениях) бактериальной этиологии стандартны, включают анализ «подозреваемого» пищевого продукта, рвотных масс, промывных вод желудка, образцов стула (+/-) с целью выделения возбудителя в культуре либо экспресс-обнаружения его токсинов, генетического материала. В отношении острых и хронических кишечных инфекций значение отдельных методов микробиологической диагностики очень неравнозначно. Так, в случае кронеобактериоза у новорождённых детей культуральная диагностика, даже с применением современных средств исследования, оказывается крайне медленной; при кишечном спирохетозе эффективность культурального исследования практи-

чески не изучена, *a priori* получение положительного результата здесь затруднено в силу отсутствия селективных сред и очень медленного роста возбудителя. Выделение культуры *C. difficile* обязательно следует сопоставить с клинической картиной заболевания, а также с прямым определением экзотоксинов возбудителя. Для сравнения при «классических» кишечных инфекциях (тифо-паратифозных заболеваниях, сальмонеллезах, шигеллезе, кишечном иерсиниозе и псевдотуберкулезе) культуральная диагностика является «золотым стандартом».

Тест-системы для метода ПЦР разработаны в отношении *C. difficile*, *C. sakazakii* и *Brachyspira* spp., но для *C. difficile* положительный результат теста следует рассматривать вместе с другими критериями *C. difficile*-инфекции; ПЦР-тест для *C. sakazakii* валидирован только для пищевых продуктов и идентификации культур этих бактерий, а тесты для диагностики брахиспирохетоза – только для ветеринарии (диагностика диареи свиней).

Серодиагностика брахиспирохетоза доступна также при обследовании животных, хотя известно обнаружение антител к брахиспирам у пациентов с помощью реакции агглютинации (Abe Y., et al. The specific antibody to *Brachyspira aalborgi* in serum obtained from a patient with intestinal spirochetosis. 2006). Серодиагностика CD-инфекции не входит в группу типичных тестов для этой патологии, однако показано, что выработка антител против *C. difficile* в высоком титре ассоциирована с клиническим выздоровлением и отсутствием в дальнейшем рецидивов (в оригинальном исследовании использовали для

детекции антител мультиплексный иммунологический анализатор) [26]. Для кронобактериоза серодиагностика не имеет большого практического значения в силу быстрого развития патологического процесса. Однако у детей, переживших тяжёлые инфекции, вызванные *Enterobacter cloacae*, определение антител к *C. sakazakii* было бы интересно для ретроспективной диагностики, поскольку два этих вида энтеробактерий очень схожи по биохимическим признакам.

Тесты обнаружения антигенов в биоматериале важны в диагностике CD-инфекции, а для брахиспирохетоза не разработаны тесты, работающие по принципу иммунохроматографии, полученные для детекции *C. sakazakii*, однако они предназначены только для исследования пищевых продуктов.

Таким образом, рассмотренные патогены требуют разнообразных, неоднотипных диагностических подходов, и ключевое условие, чтобы они были применены – знание врача об этиологии различных клинических вариантов острых кишечных инфекций.

Автор благодарит сотрудников отделения лабораторной диагностики микологической клиники СЗГМУ им. И.И. Мечникова Н.П. Ремневу, В.М. Кашубу и Г.В. Цветкову за предоставление штаммов рассматриваемых в обзоре возбудителей для масс-спектрометрического исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические указания МУК 4.2.2428-08 «Методы определения бактерий *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) в продуктах для питания детей раннего возраста». Утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 29.10.2008. [Methodological guidelines of MUC 4.2.2428-08 "Methods for the determination of bacteria *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) in foods for young children". Approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on 29.10.2008. (In Russ.)].
2. Методические указания МУК 4.2.3144-13 «Метод определения бактерий *Enterobacter sakazakii* в продуктах для питания детей раннего возраста. Дополнения и изменения к МУК 4.2.2428-08», утверждены вр. и. о. Главного государственного санитарного врача РФ 26.11.2013. [Methodological guidelines of MUC 4.2.3144-13 "Method for the determination of *Enterobacter sakazakii* bacteria in foods for young children. Additions and amendments to the MUC 4.2.2428-08", approved by the Acting Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on 26.11.2013. (In Russ.)].
3. Cechin C.D.F., Carvalho G.G., Bastos C.P., Kabuki D.Y. *Cronobacter* spp. in foods of plant origin: occurrence, contamination routes, and pathogenic potential. Crit. Rev. Food Sci Nutr. 2022; 22: 1-15. doi: 10.1080/10408398.2022.2101426
4. Yan Q.Q., Condell O., Power K., et al. *Cronobacter* species (formerly known as *Enterobacter sakazakii*) in powdered infant formula: a review of our current understanding of the biology of this bacterium. J. Appl. Microbiol. 2012; 113 (1): 1-15. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05281
5. Hunter C.J., Bean J.F. *Cronobacter*: an emerging opportunistic pathogen associated with neonatal meningitis, sepsis and necrotizing enterocolitis. J. Perinatol. 2013; 33 (8): 581-5. doi: 10.1038/jp.2013.26
6. Kim D.H., Chon J.W., Kang I.B., et al. Growth inhibition of *Cronobacter sakazakii* in experimentally contaminated powdered infant formula by kefir supernatant. J. Food Prot. 2015; 78 (9): 1651-5. doi: 10.4315/0362-028X

7. Hamilton A.L., Kamm M.A., Ng S.C., Morrison M. *Proteus* spp. as putative gastrointestinal pathogens. Clin. Microbiol. Rev. 2018; 31 (3): e00085-17. doi: 10.1128/CMR.00085-17
8. Armbruster C.E., Mobley H.L.T., Pearson M.M. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* infection. EcoSal Plus. 2018; 8 (1): 10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0009-2017
9. Rocha S.P., Pelayo J.S., Elias W.P. Fimbriae of uropathogenic *Proteus mirabilis*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2007; 51 (1): 1-7. doi: 10.1111/j.1574-695X.2007.00284.x
10. Lee K.H., Park S.J., Choi S.J., Park J.Y. *Proteus vulgaris* and *Proteus mirabilis* decrease *Candida albicans* biofilm formation by suppressing morphological transition to its hyphal form. Yonsei Med. J. 2017; 58 (6): 1135-1143. doi: 10.3349/ymj.2017.58.6.1135
11. Abad C.L.R., Safdar N. A Review of *Clostridioides difficile* infection and antibiotic-associated diarrhea. Gastroenterol. Clin. North Am. 2021; 50 (2): 323-340. doi: 10.1016/j.gtc.2021.02.010
12. Carlson T.J., Gonzales-Luna A.J., Garey K.W. Fulminant *Clostridioides difficile* infection: a review of treatment options for a life-threatening infection. Semin. Respir. Crit. Care Med. 2022; 43 (1): 28-38. doi: 10.1055/s-0041-1740973
13. Rao K., Malani P.N. Diagnosis and treatment of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection in adults in 2020. JAMA. 2020; 323 (14): 1403-1404. doi: 10.1001/jama.2019.3849
14. Gu T., Li W., Yang L.L., et al. Systematic review of guidelines for the diagnosis and treatment of *Clostridioides difficile* infection. Front. Cell Infect. Microbiol. 2022; 12: 926482. doi: 10.3389/fcimb.2022.926482
15. Terveer E.M., Vendrik K.E., Ooijevaar R.E., et al. Faecal microbiota transplantation for *Clostridioides difficile* infection: four years' experience of the Netherlands Donor Feces Bank. United European Gastroenterol. J. 2020; 8 (10):1236-1247. doi: 10.1177/2050640620957765
16. van Leeuwen P.T., van der Peet J.M., Bikker F.J., et al. Interspecies Interactions between *Clostridium difficile* and *Candida albicans*. mSphere. 2016; 1 (6): e00187-16. doi: 10.1128/mSphere.00187-16
17. Jovanovic J., Ornelis V.F.M., Maddar A., Rajkovic A. *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. Compr. Rev. Food Sci Food Saf. 2021; 20 (4): 3719-3761. doi: 10.1111/1541-4337.12785
18. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 2010; 23 (2): 382-98. doi: 10.1128/CMR.00073-09
19. ГОСТ 10444.8-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета презумптивных бактерий *Bacillus cereus*. Метод подсчета колоний при температуре 30 °С. М.: Стандартиформ, 2014; 19 С. [GOST 10444.8-2013. Microbiology of food and animal feed. Horizontal method of counting presumptive bacteria *Bacillus cereus*. The method of counting colonies at a temperature of 30 °C. М.: Standartinform, 2014; 19 p. (In Russ.)].
20. Mursalin M.H., Livingston E.T., Callegan M.C. The cereus matter of *Bacillus endophthalmitis*. Exp. Eye Res. 2020; 193: 107959. doi: 10.1016/j.exer.2020.107959
21. Glasset B., Herbin S., Granier S.A., et al. *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections: epidemiologic and genetic survey. PLoS One. 2018; 13 (5): e0194346. doi: 10.1371/journal.pone.0194346
22. Baldwin V.M. You can't *B. cereus* – A review of *Bacillus cereus* strains that cause anthrax-like disease. Front Microbiol. 2020; 11: 1731. doi: 10.3389/fmicb.2020.01731
23. Tran C., Cock I.E., Chen X., Feng Y. Antimicrobial *Bacillus*: metabolites and their mode of action. Antibiotics (Basel). 2022; 11 (1): 88. doi: 10.3390/antibiotics11010088
24. Tsinganou E., Gebbers J.O. Human intestinal spirochetosis – a review. Ger. Med. Sci. 2010; 8: Doc01. doi: 10.3205/000090
25. Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И. Взаимодействие *Candida albicans* и бактерий-ассоциантов при кандидозах различной локализации. Проблемы медицинской микологии. 2013; 15 (2): 40-43. [Lisovskaya S.A., Khaldeeva E.V., Glushko N.I. Interaction of *Candida albicans* and associated bacteria in candidosis of various localization. Problems of medical mycology. 2013; 15 (2): 40-43. (In Russ.)].
26. Haddad N.S., Nozick S., Kim G., et al. Detection of newly secreted antibodies predicts nonrecurrence in primary *Clostridioides difficile* infection. J. Clin. Microbiol. 2022; 60 (3):e0220121. doi: 10.1128/jcm.02201-21

Поступила в редакцию журнала 30.09.2022.

Рецензент: Л.А. Кафтырева



КРИПТОКОККОЗ У БОЛЬНЫХ COVID-19 (ОПИСАНИЕ ДВУХ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Мелёхина Ю.Э. (доцент)*, ²Гусев Д.А. (главный врач), ¹Хостелиди С.Н. (доцент), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Игнатьева С.М. (в.н.с.), ²Жукова С.В. (врач-инфекционист), ³Рысев А.В. (доцент), ²Евсеева И.Д. (врач-инфекционист), ³Яковлев А.И. (врач-невролог), ³Шумакова Т.А. (доцент), ³Савелло В.Е. (зав. кафедрой), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина; ³Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе Санкт-Петербург, Россия

*Криптококкоз – оппортунистическая инфекция, вызываемая *Cryptococcus spp.* и возникающая преимущественно у больных с Т-клеточным иммунодефицитом. Основными факторами риска являются СПИД, применение глюкокортикостероидов и иммуносупрессоров, трансплантация органов и тканей, саркоидоз, коллагенозы и гемобластозы (острый лимфобластный лейкоз, лимфома, хронический лимфолейкоз и пр.). С начала пандемии COVID-19 представлены многочисленные случаи развития инвазивного аспергиллеза, кандидоза и мукормикоза при инфекции SARS-CoV-2. Однако описания криптококкоза у больных COVID-19 единичны. Мы приводим два случая криптококкоза у больных COVID-19, а также обзор литературы.*

Ключевые слова: криптококкоз, криптококкоз лёгких, COVID-19, SARS-Cov-2, *Cryptococcus neoformans*, криптококковый менингит, диссеминированный криптококкоз

CRYPTOCOCCOSIS IN COVID-19 PATIENTS (TWO CLINICAL CASES AND LITERATURE REVIEW)

¹Melekhina Y.E. (associate professor), ²Gusev D.A. (chief physician), ¹Khostelidi S.N. (associate professor), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Ignatyeva S.M. (leading scientific researcher), ²Zhukova S.V. (infectious disease physician), ³Rysev A.V. (associate professor), ²Evseeva I.D. (infectious disease physician), ³Yakovlev A.I. (neurologist), ³Shumakova T.A. (associate professor), ³Savello V. E. (head of the department), ¹Vasilieva N.V. (director of the Institute, head of the department), ¹Klimko N.N. (head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin; ³Institute of Emergency Medicine named after I.I. Dzhanelidze, St. Petersburg, Russia

*Cryptococcosis is an opportunistic infection caused by *Cryptococcus spp.* and occurring predominantly in patients with T-cell immunodeficiency. The main risk factors are AIDS, long-term use of glucocorticosteroids and immunosuppressants, organ and tissue transplantation, sarcoidosis, collagenoses and hemoblastoses (acute lymphoblastic leukemia, lymphoma, chronic lymphocytic leukemia). Since the beginning of the COVID-19 pandemic, numerous cases of invasive fungal infections in patients after infection with SARS-CoV-2 have been described in the scientific literature. However, descriptions of cryptococcosis in COVID-19 patients are rare. We present two cases of cryptococcosis in COVID-19 patients, as well as a review of the literature.*

Key words: cryptococcosis, pulmonary cryptococcosis, COVID-19, infection, SARS-Cov-2, *Cryptococcus neoformans*, cryptococcus meningitis, disseminated cryptococcosis

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19 – актуальная проблема [1-4]. Инфекция SARS-CoV-2 влияет на врожденный и адаптивный иммунный ответ, что приводит к дисрегуляции иммунной системы [4-6]. Вызванные SARS-CoV-2 нарушения иммунного ответа увеличивают вероятность развития оппортунистических инфекций, обычно возникающих у пациентов с тяжелой иммунодепрессией, таких как синдром приобретенного

* Контактное лицо: Мелехина Юлия Эммануиловна, e-mail: uliya.melekhina@szgmu.ru

иммунодефицита (СПИД) и гематологические злокачественные новообразования [7, 8]. В связи с широким применением иммуномодулирующей терапии, включая высокие дозы кортикостероидов, ингибиторов интерлейкина IL-1 и IL-6, а также ингибиторов янус-киназы при тяжёлом течении COVID-19, зарегистрирован рост числа больных инвазивными микозами [9-11]. О коинфекции SARS-CoV-2 и криптококковой инфекции в литературе встречаются лишь единичные сообщения. Известно, что инфекцию, вызываемую *Cryptococcus spp.*, обычно выявляют среди пациентов с ослабленным иммунитетом, а менингоэнцефалит является основным проявлением криптококкоза среди ВИЧ-лиц. *Cryptococcus neoformans* – основной возбудитель криптококкоза у больных COVID-19, при этом описаны различные формы заболевания: криптококкоз лёгких, криптококковый менингит и диссеминированный криптококкоз [12-17]. У иммунокомпетентных пациентов инфекция может быть субклинической, а диагноз нередко устанавливают посмертно [18, 19].

Мы приводим описание двух случаев криптококкоза у больных COVID-19, а также обзор литературы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлено описание двух случаев криптококкоза с поражением лёгких и центральной нервной системы (ЦНС) у больных COVID-19. Для постановки диагноза криптококкоза использовали критерии EORTC/MSGERC, 2020. Провели анализ литературы в базах PubMed и Wiley Interscience (на октябрь 2022 г.). Поиск информации осуществляли по ключевым словам: *cryptococcosis*, *pulmonary cryptococcosis*, *COVID-19*, *infection*, *SARS-Cov-2*, *Cryptococcus neoformans*, *cryptococcus meningitis*, *disseminated cryptococcosis*.

Клинический случай №1

Пациент Г., 52 лет, был госпитализирован с жалобами на головные боли давящего характера, галлюцинации и повышение температуры до 39 °С. Из анамнеза заболевания известно, что неделю назад почувствовал слабость и повышение температуры до 37,5 °С, к врачам не обращался, самостоятельно принимал жаропонижающие средства.

Из анамнеза жизни выяснено, что из перенесенных ранее заболеваний пациент отмечал частые респираторные заболевания, в 2003 г. были выявлены гепатиты В и С, лечения не получал, обследование проходил нерегулярно. За последние 6 месяцев за пределы Российской Федерации не выезжал, контакта с инфекционными больными не было.

При объективном осмотре: общее состояние тяжелое. Конституция нормостеническая, рост – 180 см, вес – 66 кг. Сознание спутанное, контакт огра-

ничен, дезориентирован в пространстве и времени. Температура тела – 39 °С. При обследовании по органам и системам – без патологии, за исключением наличия менингеальных симптомов.

Клинический анализ крови: гемоглобин – 129 г/л, эритроциты – $4,92 \cdot 10^9$ /л, лейкоциты – $6,8 \cdot 10^9$ /л, нейтрофилы – $5,4 \cdot 10^9$ /л, эозинофилы – $0 \cdot 10^9$ /л, моноциты – $0,4 \cdot 10^9$ /л, базофилы – $0 \cdot 10^9$ /л, лимфоциты – $1,1 \cdot 10^9$ /л. В биохимическом анализе крови отмечали повышение С-реактивного белка до 11,6 мг/л, клинический анализ мочи – без патологии. При исследовании мазков из носоглотки и ротоглотки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) обнаружена РНК SARS-CoV-2. Проведен экспресс-тест на ВИЧ-инфекцию – результат положительный; реакция ИФА (иммуноферментный анализ), ПЦР на ВИЧ – также положительные. Вирусная нагрузка ВИЧ – 1631321 коп/мл. Установлен диагноз: Новая коронавирусная инфекция, вирус идентифицирован (ПЦР+), средне-тяжёлая форма. ВИЧ-инфекция, 4В стадия, впервые выявленная, прогрессирование без антиретровирусной терапии (АРВТ). Пациент в течение 5 дней получал азитромицин 500 мг/сутки с незначительной положительной динамикой.

При иммунологическом обследовании выявили выраженное снижение CD3+CD4+ клеток до 24 кл/мкл. При исследовании спинномозговой жидкости (СМЖ): глюкоза – 1,09 ммоль/л, цитоз – 334/3. При исследовании СМЖ методом ПЦР на цитомегаловирус, микобактерии туберкулеза и токсоплазму получили отрицательный результат. Больному неоднократно выполняли исследование мокроты для выявления кислотоустойчивых микобактерий. Анализ мокроты методом ПЦР-RT – данных за туберкулёз не получено. При микроскопии СМЖ обнаружены криптококки – 3-8 в п/зр., при посеве крови получен рост *C. neoformans*.

При обследовании на компьютерной томографии (КТ) органов грудной полости наблюдали парамедиастинальные образования в обоих лёгких, образования в верхней доле правого лёгкого и нижней доле левого лёгкого (Рис. 1).



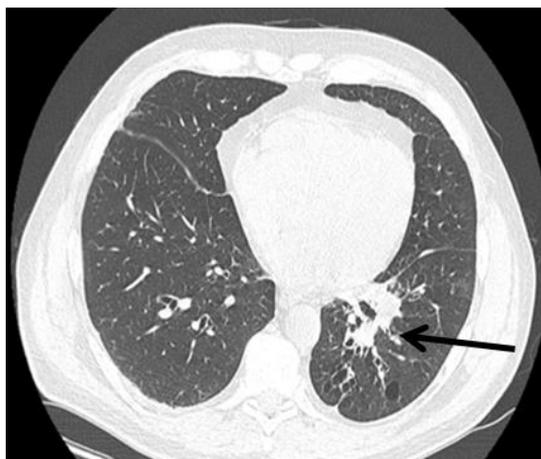


Рис.1. Пациент Г., 52 лет. КТ ОГК, апрель 2021 г.

Заподозрили диссеминированный криптококкоз и рекомендовали консультацию в микологической клинике. Пациенту было проведено обследование в микологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова. При исследовании СМЖ результат теста «*Crypto-Plus*» – положительный, при микроскопии обнаружили измененные дрожжевые клетки с капсулой, при посеве – рост *C. neoformans*. Результат теста «*Crypto-Plus*» в сыворотке крови также был положительным.

При магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга выявили признаки мультифокального поражения, единичных очаговых изменений, наружной заместительной гидроцефалии и энцефалопатии. (Рис 2).

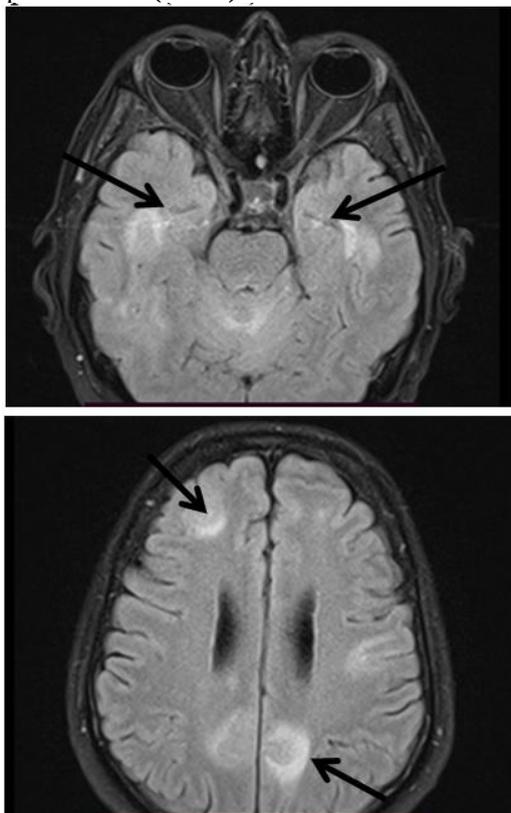


Рис. 2. Пациент Г., 52 лет. МРТ головного мозга, апрель 2021 г.

На основании данных МРТ головного мозга, положительного теста «*Crypto-Plus*» в СМЖ, положительного результата при посеве и микроскопии СМЖ был установлен диагноз: Диссеминированный криптококкоз с поражением ЦНС и лёгких. Новая коронавирусная инфекция, вирус идентифицирован (ПЦР+), средне-тяжёлая форма. Левосторонняя S8 пневмония. ВИЧ-инфекция, 4В стадия, ВИЧ-энцефалит. Хронический вирусный гепатит В+С (HВcorAb, HCVAb), вне обострения.

Провели терапию амфотерицином В (0,6-1 мг/кг/сут.), которую отменили из-за нефротоксичности, назначили флуконазол в дозе 6 мг/кг/сут. Пациента выписали с улучшением.

В сентябре 2021 г. больной был повторно госпитализирован в плановом порядке. При поступлении предъявлял жалобы на головные боли. При объективном осмотре: общее состояние удовлетворительное, температура – 37 °С.

При МРТ головного мозга отмечали положительную динамику в виде уменьшения количества и размеров очагов поражения (Рис. 3).

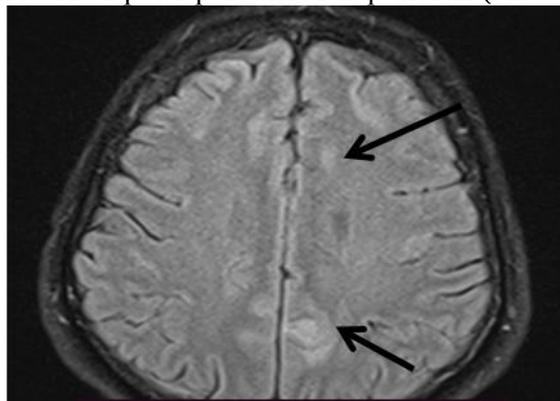


Рис 3. Пациент Г., 52 лет. МРТ головного мозга, сентябрь 2021 г.

При КТ ОГК также наблюдали положительную динамику – уменьшение размеров очагов поражения (Рис. 4).



Рис. 4. Пациент Г., 52 лет. КТ ОГК сентябрь 2021 г.

При обследовании в микологической клинике результат теста «Crypto-Plus» в СМЖ – отрицательный, при микроскопии СМЖ дрожжевые клетки не обнаружили, при посеве роста не выявили. Рекомендовано продолжить флуконазол (3 мг/кг/сут.), плановая госпитализация в микологическую клинику.

Клинический случай №2

Больная Б., 36 лет, была госпитализирована в мае 2022 г. Из анамнеза заболевания выяснено, что почувствовала ухудшение самочувствия в апреле 2022 г., когда появились слабость, малопродуктивный кашель, головные боли, косоглазие, снижение массы тела на 10 кг, шаткость походки, рецидивирующие кровотечения из полости носа, повышение температуры тела до 38 °С.

Анамнез жизни: перенесенные заболевания – детские инфекции (корь, краснуха), хронический бронхит вне обострения. За последние 6 месяцев за пределы Российской Федерации не выезжала, контакта с инфекционными больными не было.

Объективно: состояние средней тяжести. Конституция нормостеническая, рост – 146 см, вес – 48 кг. Температура тела – 38 °С. Сознание ясное, контактна. При осмотре отмечали горизонтальный нистагм, неустойчивость в позе Ромберга, шаткость походки и менингеальные симптомы.

Клинический анализ крови: анемия – 68 г/л, эритроциты – $2,90 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоциты – $4,07 \cdot 10^9$ /л, нейтрофилы – $2,89 \cdot 10^9$ /л, эозинофилы – 0, базофилы – $0,01 \cdot 10^9$ /л, лимфоциты – $0,93 \cdot 10^9$ /л, моноциты – $0,24 \cdot 10^9$ /л, незрелые гранулоциты – $0,04 \cdot 10^9$ /л. В биохимическом анализе крови изменений не выявили.

При исследовании мазка из зева и носа методом ПЦР обнаружена РНК SARS-CoV-2. Выполнен экспресс-тест на ВИЧ-1/2, результат – положительный.

На КТ ОГК наблюдали признаки умеренных застойных изменений в легких (Рис. 5).

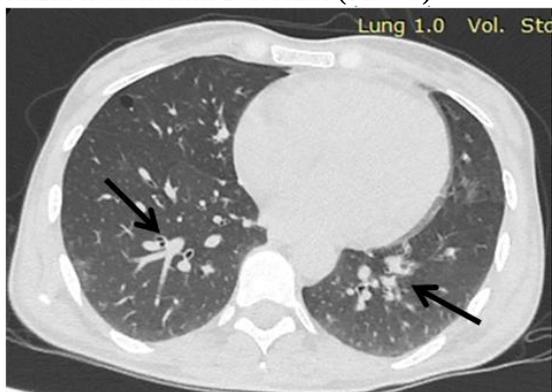


Рис. 5. Пациентка Б., 36 лет. КТ органов грудной клетки.

При МРТ ГМ (Рис. 6) выявили очаговые изменения вещества головного мозга, признаки поражения белого вещества (очаги повышенного сигнала в лобной доле).

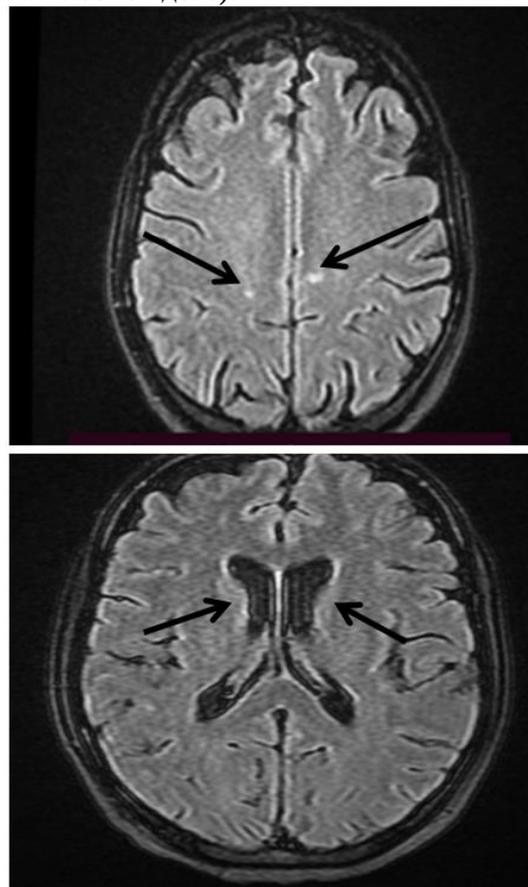


Рис. 6. Пациентка Б., 36 лет. МРТ головного мозга.

Анализ СМЖ: белок – 78 г/л, цитоз – 408 лейкоцитов в 3 мкл, нейтрофилы – 11,8%, лимфоциты – 88,2 %. При микроскопии СМЖ обнаружили клетки гриба в большом количестве.

При исследовании на ВИЧ-инфекцию выявили антитела к ВИЧ1 и ВИЧ2, антиген р24 ВИЧ. При молекулярно-биологическом исследовании вирусная нагрузка составила 173 986 копий/мл. По результатам иммунологического обследования: снижение числа CD3+CD4+клеток, усиление дифференцировки Т-лимфоцитов в цитотоксическую субпопуляцию, снижение иммунорегуляторного индекса (табл.1).

Таблица 1

Пациентка Б. Субпопуляционный состав лимфоцитов (май 2022 г.)

Субпопуляционный состав лимфоцитов	Результат	Единицы измерения	Норма
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	64,03	%	51-75
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	362,01 ↓	кл/мкл	950-1800
Т-хелперы (CD3+CD4+)	5,85 ↓	%	31-46
Т-хелперы (CD3+CD4+)	33,08 ↓	кл/мкл	570-1100
Т-цитотоксические (CD3+CD8+)	56,75 ↑	%	23-40
Т-цитотоксические (CD3+CD8+)	320,83 ↓	кл/мкл	450-850
ИРИ (CD4+/ CD8+)	0,1 ↓		1-1,7

Пациентку проконсультировали в микологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова. При обследовании отмечали положительный тест «*Crypto-Plus*» в сыворотке крови и СМЖ. При микроскопии СМЖ обнаружили почкующиеся криптококки, при посеве – рост *C. neoformans*. На основании жалоб, анамнеза, клинико-лабораторных данных установлен диагноз: Криптококковый менингоэнцефалит. COVID-19, лёгкая форма, ВИЧ-инфекция, 4В стадия, впервые выявленная.

Проводили терапию амфотерицином В (0,6-1 мг/кг/сут.) в течение 13 дней, препарат отменили из-за нефротоксичности. Затем пациентка получала флуконазол по 6 мг/кг/сут. Состояние больной оставалось тяжелым, нарастал плеоцитоз, флуконазол отменили и назначили вориконазол по 400 мг/сут. Состояние стабилизировалось, начали АРВТ, которая была эффективна иммунологически и вирусологически. В настоящее время пациентка

продолжает лечение криптококкоза и ВИЧ-инфекции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Криптококкоз – тяжёлая грибковая инфекция, вызываемая *Cryptococcus* spp., которая возникает преимущественно у больных СПИДом и может приводить к летальному исходу [12, 20]. Во всем мире криптококки являются основной причиной заболеваний у пациентов с ВИЧ/СПИДом и ежегодно уносят жизни, по меньшей мере, 180 000 человек в год [4, 21, 22].

C. neoformans является основным возбудителем менингоэнцефалита у иммунокомпрометированных пациентов и признан одним из основных грибковых патогенов [8, 23]. Анализ данных научной литературы показал, что на сегодняшний день имеется лишь несколько сообщений о случаях криптококковой инфекции, связанной с COVID-19. В базах PubMed и Wiley Interscience мы обнаружили всего 13 публикаций [11, 12, 24], посвященных криптококкозу у больных COVID-19 (табл. 2).

Таблица 2

Анализ литературных данных

Возраст	Пол	Страна	Сопутствующие заболевания	COVID-19, клинические проявления	COVID-19, степень тяжести	Терапия	ОРИТ	Локализация	Диагноз установлен (дни)	Исход
75	М	США	АГ, СД, ОА, ожирение	лихорадка, одышка	тяжелая	ремдесивир, ГКС	да	лёгкие	посмертно	умер
55	М	Германия	Фибрилляция, дилатационная кардиомиопатия	одышка	тяжелая	ГКС	да	лёгкие	13	выжил
73	Ж	США	нет	лихорадка, одышка	тяжелая	ГКС	да	ЦНС	17	выжила
60	М	Катар	АГ, СД, ИБС	одышка	тяжелая	тоцилизумаб, ГКС	да	лёгкие	48	умер
24	М	США	ВИЧ	одышка, слабость, головная боль	лёгкая	Нет	да	ЦНС	5	выжил
75	М	Бразилия	АГ, трансплантация почки, цирроз печени	кашель, одышка	тяжелая	ГКС	да	лёгкие	посмертно	умер
78	М	США	АГ, ХОБЛ	лихорадка, одышка, головная боль	тяжелая	ремдесивир, ГКС	да	лёгкие	22	умер
76	Ж	США	АГ	диарея, слабость, спутанность сознания	тяжелая	ремдесивир, тоцилизумаб, ГКС	да	ЦНС	49	выжил
78	М	Испания	АГ, СД, ХБП	лихорадка, одышка, слабость	тяжелая	ГКС	да	легкие + ЦНС	75	умер
59	М	США	ХОБЛ, СД, цирроз печени	одышка	тяжелая	ГКС	да	лёгкие	33	умер
76	Ж	США	АГ, остеоартрит тоцилизумаб	спутанность сознания, диарея, слабость,	тяжелая	ремдесивир, ГКС	да	ЦНС	44	выжила
57	М	США	АГ	лихорадка, одышка	тяжелая	ремдесивир, ГКС	да	легкие + ЦНС	36	умер
59	М	США	АГ, СД, ожирение	лихорадка, одышка	тяжелая	ремдесивир	да	лёгкие	10	выжил

Примечание: АГ – артериальная гипертензия, СД – сахарный диабет, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких, ВИЧ – вирус иммунодефицита человек, ГКС – глюкокортикостероиды

Средний возраст пациентов составил 74 (24-78) года, из них 80% – мужского пола. Криптококкоз выявляли преимущественно (92%) у больных тяжелой COVID-19, которые получали ГКС (85%). Сахарный диабет был у 38% пациентов, артериальная гипертензия – у 69%. Основными клиническими проявлениями были одышка (85%) и лихорадка (46%). Все больные были госпитализированы в отделение интенсивной терапии, искусственную вентиляцию легких проводили 92%. Ремдесивир получали 46% пациентов, тоцилизумаб – 23%, ГКС – 92% (эквивалентные преднизолону 10 мг/сут. в течение более 7 дней). Медиана срока выявления криптококкоза после диагностики COVID-19 составила 13 дней, диагноз был установлен посмертно у 15% больных. Криптококкоз лёгких

выявили у 69% пациентов, ЦНС – у 46%, диссеминированную инфекцию – у 15%. Липосомальный амфотерицин В и флуцитозин получали 85% больных, изавуконазол – 8%. Общая выживаемость пациентов составила 46%.

ВЫВОДЫ

1. У больных тяжелой COVID-19 возможно развитие криптококкоза легких и ЦНС.
2. Факторы риска развития криптококкоза у больных COVID-19: применение ГКС и иммуносупрессоров, ВИЧ-инфекция.
3. При развитии криптококкоза общая выживаемость больных COVID-19 составила 46%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Amir Abdoli, Shahab Falahi, Azra Kenarkoohi. COVID-19-associated opportunistic infections: a snap-shot on the current reports. *Clinical and Experimental Medicine*. 2022; 22: 327-346. doi.org/10.1007/s10238-021-00751-7
2. Thyagarajan R.V., Mondy K.E., Rose D.T. *Cryptococcus neoformans* blood stream infection in severe COVID-19 pneumonia. *IDCases*. 2021; 26: e01274. doi: 10.1016/j.idcr. 2021.e01274
3. Passarelli V.C., Perosa A.H., de Souza Luna L.K., et al. Detected SARS-CoV-2 in ascitic fluid followed by cryptococemia: a case report. *SN Compr. Clin. Med*. 2020. doi: 10.1007/s42399-020-00574-9
4. Ezeokoli O.T., Gcilitshana O., Pohl C.H. Risk factors for fungal co-infections in critically ill COVID-19 patients, with a focus on immunosuppressants. *J. Fungi (Basel, Switzerland)* 2021. doi: 10.3390/jof7070545
5. Ghanem H., Sivasubramanian G. *Cryptococcus neoformans* meningoencephalitis in an Immunocompetent Patient after COVID-19 Infection. *Case Rep. Infect. Dis*. 2021; 2021:1-3. doi: 10.1155/2021/5597473
6. Alegre-González D., Herrera S., Bernal J., et al. Disseminated *Cryptococcus neoformans* infection associated to COVID-19. *Med. Mycol. C. Rep*. 2021; 34:35-37. doi: 10.1016/j.mmcr.2021.10.001
7. Daniel B. Chastain, Andrés F. Henao-Martínez, et al. Missed opportunities to identify cryptococcosis in COVID-19 patients: a case report and literature review. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*. 2022; 9: 204993612110663. doi.org/10.1177/20499361211066363
8. Rajasingham R., Smith R.M., Park B.J. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17: 873-81. doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30243-8
9. Diana Alegre-González, Sabina Herrera, et al. Disseminated *Cryptococcus neoformans* infection associated to COVID-19. *Medical Mycology Case Reports Journal*, 2021. doi.org/10.1016/j.mmcr.2021.10.001
10. Passarelli V.C., Perosa A.H., de Souza Luna L.K., et al. Detected SARS-CoV-2 in ascitic fluid followed by cryptococemia: a case report. *SN Compr. Clin. Med*. 2020; 2: 2414-2418. doi: 10.1007/s42399-020-00574-9
11. Cafardi J., Haas D., Lamarre T., Feinberg J. *Open Forum Infectious Diseases*. Volume 8. Oxford University Press; Oxford, UK: 2021. Opportunistic Fungal Infection Associated with COVID-19. doi.org/10.1093/ofid/ofab016
12. Hebah Ghanem and Geetha Sivasubramanian. Case Report. *Cryptococcus neoformans* meningoencephalitis in an immunocompetent patient after COVID-19 infection division of infectious diseases, Department of Internal Medicine, University of California, San Francisco, Fresno, California, USA, 2021. doi.org/10.1155/2021/5597473
13. Karnik K., Wu Y., Ruddy S., et al. Fatal case of disseminated cryptococcal infection and meningoencephalitis in the setting of prolonged glucocorticoid use in a COVID-19 positive patient. *IDCases*. 2022; 27: e01380. doi: 10.1016/j.idcr. 2022.e01380
14. Gil Y., Gil Y.D., Markou T. The emergence of cryptococemia in COVID-19 Infection: a case report. *Cureus*. 2021; 13: e19761. doi.org/10.7759/cureus.19761
15. Chiappe Gonzalez A.J., Montenegro-Idrogo J.J., Vargas Vadillo A.R., et al. Hospital-acquired SARS-CoV-2 pneumonia in a person living with HIV. *Int. J. STD AIDS*. 2020; 31: 1320-1322. doi: 10.1177/0956462420957528
16. Passerini M., Terzi R., Piscaglia M., et al. Disseminated cryptococcosis in a patient with metastatic prostate cancer who died in the coronavirus disease 2019 (COVID-19) Outbreak. *Cureus*. 2020; 2020: 12. doi.org/10.7759/cureus.8254

17. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer and the mycoses study group education and research consortium. Clin. Infect. Dis. Publ. Infect. Dis. Soc. Am. 2020; 71:1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008
18. Cafardi J., Haas D., Lamarre T., Feinberg J. Opportunistic fungal infection associated with COVID-19. Open Forum Infect Dis. 2021 doi: 10.1093/ofid/ofab016
19. Abohelwa M.M., del Rio-Pertuz G., Parmar K.N., et al. Pulmonary cryptococcosis in the 2019 novel coronavirus, when the coinfection affects the mortality. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2021; 203: A2461. doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2021.203.1_MeetingAbstracts.A2461
20. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение Руководство для врачей. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Фармтек, 2017; 272 с. [Klimko N.N. Mycoses: diagnosis and treatment Guide for doctors. 3rd ed., reprint. and additional M.: Farmtek, 2017; 272 p. (IN Russ.)].
21. Chen D-Y., Khan N., Close B.J., et al. SARS-CoV-2 disrupts proximal elements in the JAK-STAT path-way. J. Virol. 2021; 95: e0086221. doi: 10.1128/JVI.00862-21
22. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. Clin. Infect. Dis. 2020; 71: 1367-76. doi.org/10.1093/cid/ciz1008
23. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action, Report, 25 October 2022. The World Health Organization (WHO) <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
24. Dinesh Regalla, Mollie VanNatta, Mohammad Alam, et al. COVID-19-associated *Cryptococcus* infection (CACI): a review of literature and clinical pearls. Infection, 2022; 50 (4): 1007-1012. doi: 10.1007/s15010-022-01805-y

Поступила в редакцию журнала 17.11.2022

Рецензент: М.А. Шевяков



ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ БОЛЬНЫХ С ГЕМОРРАГИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ, ИМЕЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ИНФЕКЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

Дмитриева Н.В. (врач-клинический фармаколог), Мавлявиева Э.Р. (зав. оперативно-справочным отделом)*, Васютин К.А. (врач-нейрохирург), Мирилашвили Т.Ш. (зам. главного врача), Семерчев Д.П. (зам. главного врача)

Городская клиническая больница имени А.К. Ерамишанцева, Москва, Россия

В проспективном исследовании представлена таксономическая структура 91 штамма микроорганизмов, выделенных у 26 больных, находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии и имеющих различные послеоперационные инфекционные осложнения, включая послеоперационные менингиты. Пациенты были оперированы по поводу острого нарушения мозгового кровообращения (геморрагический тип) с последующей установкой аппарата наружного вентрикулярного дренирования.

Большинство микроорганизмов обладали множественной и высокой резистентностью к антибиотикам. Грамотрицательные микроорганизмы преобладали и в целом составили 60%, а при бактериологическом анализе мокроты и крови, соответственно, 80% и 28%. *Klebsiella pneumoniae* превалировала (42%) как в целом, так и при выделении из крови (28%) и мокроты (33%), в то время как *Acinetobacter baumannii* выявляли достоверно реже. Обращает внимание обнаружение в биоматериалах большого количества *Candida non-albicans* (50%), обладающих неоднородной чувствительностью к флуконазолу – наиболее доступному антимикотику в клиниках.

При анализе идентичности возбудителей, изолированных из различных биоматериалов, у 26% пациентов были выделены одинаковые микроорганизмы с той же антибиотикограммой, полученные из ликвора и крови либо мочи, либо мокроты. Вопрос об эндогенной контаминации ликвора из других инфекционных очагов с последующим развитием вторичного послеоперационного менингита пока остается неясным.

Ключевые слова: инфекционные послеоперационные осложнения, острое нарушение мозгового кровообращения, наружное вентрикулярное дренирование, *Klebsiella pneumoniae*, грибковые инфекции, вторичный послеоперационный менингит, резистентность микроорганизмов

* Контактное лицо: Мавлявиева Эльвира Рафаэлевна, e-mail: elviramavlyavieva@gmail.com

TAXONOMIC STRUCTURE OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM POSTOPERATIVE PATIENTS WITH HEMORRAGIC STROKE WITH VARIOUS INFECTIOUS COMPLICATIONS

Dmitrieva N.V. (clinical pharmacologist), Mavlyavieva E.R. (head of the operational reference department), Vasyutin A.K. (neurosurgeon), Mirilashvili T.S. (deputy chief physician), Semerchev D.P. (deputy chief physician)

A.K. Yeramishantsev City Clinical Hospital, Moscow, Russia

The prospective study presents the taxonomic structure of 91 strains of microorganisms isolated from 26 patients in ICU with postoperative infectious complications including postoperative meningitis. The patients were operated for stroke (hemorrhagic type), followed by an external ventricular drain.

*Most of the microorganisms had multiple and high resistance to antibiotics. Gram-negative prevailed and consist of 60%, in sputum – 80%, and in blood – 28%. *Klebsiella pneumoniae* prevailed (42%) both in general and when isolated from blood (28%) and sputum (33%), while *Acinetobacter baumannii* were significantly less common. Attention is drawn to the detection in biomaterials of a large number of *Candida non-albicans* (50%) with ambiguous sensitivity to fluconazole, the most accessible antimycotic in hospitals. When analyzing the identity of pathogens isolated from different biomaterials, 26% of patients identified the same microorganisms with the same antibiogram obtained from cerebrospinal fluid and blood, or urine, or sputum. The question of endogenous contamination of cerebrospinal fluid from other infectious foci with the subsequent development of secondary postoperative meningitis remains unclear.*

Key words: infectious postoperative complications, acute cerebrovascular accident, external ventricular drainage, *Klebsiella pneumoniae*, fungal infections, secondary postoperative meningitis, resistance of microorganisms

ВВЕДЕНИЕ

Наружные вентрикулярные дренажи (НВД) используют для коррекции внутричерепного давления, отведения ликвора после операций по поводу острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК). В то же время наличие НВД связано с возникновением нозокомиального менингита, диагностика которого достаточно трудна. Его симптомы маскируются как неврологическими симптомами, так и воспалительной реакцией, связанной с хирургическим вмешательством (в том числе и при асептических менингитах). Диагностические ошибки, в свою очередь, приводят к задержке с назначением антимикробной терапии или, напротив, к назначению ненужного лечения. На сегодня определены маркеры бактериального менингита: уровень глюкозы и лактата в ликворе, индекс глюкозы и прочее [1]. Однако бактериальный менингит можно считать доказанным лишь при обнаружении роста микроорганизма (бактерий и грибов) в спинномозговой жидкости [2]. Kirsten R.I.S. Dorresteijn указывает на значимую роль грамположительных патогенов [1]. Наиболее частой этиологией послеоперационных менингитов являются как высоко- и множественнорезистентные грамположительные кокки (коагулазоположительные и коагулазоотрицательные стафилококки, стрептококки), так и грамотрицательные палочки (синегнойные палочки, ацинетобактерии, энтеробактерии), грибы рода *Candida* [3, 4]. При анализе таксономической структуры ликвора 151 больного с нозокомиальным менингитом, 70% составили кишечные палочки, синегнойные палочки, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* [5]. Контаминация оперируемой зоны и последующее возникновение послеоперационного инфекционного менингита может быть следствием как самой операции, так и послеоперационных манипуляций. Микробиота окружающей среды, кожные покровы также могут быть причиной возникновений менингитов. Неясным остается вопрос о вероятности возникновения менингита при наличии других очагов инфекции у конкретного пациента.

Цель работы: проанализировать таксономическую структуру инфекционных послеоперационных осложнений у пациентов с ОНМК после установки аппарата наружного вентрикулярного дренирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 26 больных (16 мужчин, 10 женщин) в возрасте от 24 до 82 лет (в среднем – 54 года), оперированных по поводу острого нарушения мозгового кровообращения (геморрагический тип) с последующей установкой аппарата НВД, имеющих различные инфекционные осложнения. Все пациенты находились в отделении реани-

мации (ОРИТ) в тяжелом состоянии, усугубляющемся следующими сопутствующими заболеваниями: хронический алкоголизм – 24%, сахарный диабет 2 типа – 24%, обострение хронического пиелонефрита – 11%, гипертоническая болезнь – 45%, ожирение – 21%, в части случаев – их сочетанием. Всем больным проводили искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). Микробиологические исследования ликвора, крови, мокроты, мочи осуществляли еженедельно или по показаниям при подозрении или доказанной (рентгенография, компьютерная томография, ультразвуковое исследование, клинические анализы) инфекции мочевыводящих путей, кровотока, дыхательных путей, послеоперационного менингита. Повторное выделение микроорганизма у одного и того же пациента не учитывали. Бактериологическое исследование ликвора выполняли после оценки его состояния по уровню цитоза, числа нейтрофилов и лимфоцитов, глюкозы, индексу глюкозы (соотношение глюкозы ликвора и сыворотки крови), лактата. Микробиологическое исследование биологических материалов заключалось в изучении 52 анализов крови, 23 анализов мокроты/отделяемого из трахеи, 19 анализов мочи, 13 анализов спинномозговой жидкости. Заборы крови проводили дважды в период повышения температуры тела больных с перерывом 2 часа в два флакона. Бактериологические исследования осуществляли согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 18 мая 2021г. № 464н «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований» [5]. Статистическая обработка материала выполнена по критерию определения χ^2 (medstatistic.ru).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В общей сложности было выделено 91 штамм микроорганизмов: количество грамположительных составило 25%, грамотрицательных – 60% ($p=0,002$), грибов рода *Candida* – 15%. Среди грамотрицательных штаммов достоверно чаще выделяли *K. pneumoniae* (42%) и *A. baumannii* (24%) ($p=0,227$) от общего количества грамотрицательных бактерий и 25% – от общего количества выделенных микроорганизмов. Среди грамположительных бактерий чаще встречались коагулазонегативные стафилококки – 63% от общего числа грамположительных бактерий ($p=0,302$), по сравнению с золотистыми стафилококками и энтерококками – 18%. Они же составили 12% в отношении общего количества выделенных микроорганизмов. Обращает внимание обнаружение в биоматериалах большого количества *Candida non-albicans* – 7 (50%) штаммов (*C. glabrata* – 6, *C. tropicalis* – 1).

Рост микроорганизмов из крови был получен в 14 случаях (54%). Всего выделено 14 микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1
Таксономическая структура микроорганизмов (n =14), выделенных из крови у больных с ОНМК

Микроорганизмы	Количество (%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	2 (14%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (1- MRSA и 1- MSSA)	2 (14%)
Коагулазонегативные стафилококки	3 (21%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 (14%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (28%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (7%)

Таксономическая структура микроорганизмов, выделенных из крови пациентов, была представлена коагулазонегативными метициллин-резистентными стафилококками: *S. lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*. Энтерококки были чувствительны к пенициллинам, ванкомицину, линезолиду, рифампицину, тетрациклинам, но резистентны к синерциду. *S. maltophilia* была чувствительна к триметоприму/сульфаметоксазолу, который является препаратом выбора для лечения инфекций, вызванных этим возбудителем, но была резистентна к ципрофлоксацину и тикарциллину/клавуланату. Клебсиеллы, составившие 28% (штаммы с высокой вероятностью продуценты ОХА – 48), были чувствительны только к тетрациклинам, включая тигециклин, и аминогликозидам. Ацинетобактеры (14%) были чувствительны только к тетрациклинам и имели промежуточную чувствительность к ампициллину/сульбактаму, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – 16/8. Бактериологические анализы мокроты проведены 23 больным пневмонией, которая была подтверждена при компьютерной томографии или при рентгенографии легких (табл. 2). У 23 пациентов в процессе мониторинга было выделено 50 микроорганизмов.

Таблица 2
Таксономическая структура микроорганизмов (n= 50), выделенных из мокроты у больных с ОНМК

Микроорганизмы	Количество (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17 (33%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 (20%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (10%)
<i>Escherichia coli</i>	2 (4%)
<i>Proteus mirabilis</i>	3 (6%)
<i>Enterobacter</i> spp. (<i>E. cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i>)	2 (4%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (2%)
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	2 (4%)
MR-CNS (<i>S. epidermidis</i> , <i>S. intermedius</i>)	2 (4%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 (2%)
<i>Candida</i> spp. (<i>C. albicans</i> – 1, <i>C. glabrata</i> – 4)	5 (10%)

Из мокроты в 33,3% случаев выделяли *K. pneumoniae*, в 19,6% – *A. baumannii* (p=0,281), в 9,8% – синегнойную палочку и грибы рода *Candida* (*C. albicans* – в 1 случае, *C. glabrata* 10⁵ и 10⁶ – в 4). Остальные микроорганизмы были представлены менее чем в 6% случаев. Мы учли выделенные из мок-

роты коагулазонегативные стафилококки, поскольку количество их составляло 10⁷, и все они были MR-CNS. Таким образом, грибы рода *Candida* занимали 3-4 место по частоте выделения, наравне с синегнойной палочкой, после клебсиелл и ацинетобактеров. Все штаммы *A. baumannii* обладали множественной и высокой резистентностью. 6 из 10 штаммов были панрезистентны, при этом МИК к меропенему и имипенему составила >=8мкг/мл. 4 из 10 штаммов были чувствительны к ко-тримоксазолу (МИК<=2/38мкг/мл), тетрациклину (МИК<=4мкг/мл), гентамицину (МИК<= 4 мкг/мл), но были резистентны к амикацину (МИК>=32мкг/мл) и обладали промежуточной чувствительностью к ампициллину/сульбактаму (МИК=16/8 мкг/мл). 9 (52,9%) из 17 штаммов *K.pneumoniae* были чувствительны только к тетрациклинам (МИК<=4 мкг/мл), амикацину (МИК Б=4мкг/мл), ко-тримоксазолу (МИК=2/38 мкг/мл) и с высокой вероятностью были продуцентами ОХА-48. 5 (29,4%) из 17 штаммов были чувствительны только к тигециклину (МИК<=2мкг/мл) и резистентны к тетрациклину (МИК>8 мкг/мл) и остальным антибиотикам. 3 (18%) из 17 штаммов были продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Все штаммы кишечных палочек были продуцентами БЛРС. Синегнойные палочки были резистентны практически ко всем антибиотикам, за исключением пиперациллина/тазобактама (МИК<=64 мкг/мл).

Таким образом, большинство штаммов микроорганизмов, выделенные из мокроты, обладали множественной и высокой резистентностью к антибиотикам и в большинстве случаев были представлены грамотрицательными бактериями. Количество клебсиелл превышало число ацинетобактеров и синегнойных палочек, а также *Candida* spp. и других микроорганизмов (p=0,0319/0,0019).

Рост микроорганизмов из мочи наблюдали у 10 пациентов. Таксономическая структура микроорганизмов (n= 14), изолированных из мочи у больных с ОНМК, была представлена *K.pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. cloacae*, *P.mirabilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* и *Candida* spp. (57%) (*C.albicans* – 5 штаммов, *C. glabrata* – 2, *C. tropicalis* – 1). В 4-х случаях было выделено 2 микроорганизма: ассоциации *Candida* spp. с протеом, энтеробактером и фекальным энтерококком. В 1 случае это была ассоциация, представленная *C. glabrata* и *C. albicans*. Также обнаружена ассоциация *C. albicans* и эпидермального стафилококка (последний был расценен как контаминант и в дальнейшем не учитывался).

В целом грамотрицательные микроорганизмы были выделены в 29% случаев и представлены *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, протеом и энтеробактером, грамположительные – в 2-х (14%) случаях (*Strepto-*

coccus agalactiae и *Enterococcus faecalis*). Грибы рода *Candida* лидировали по частоте выявления и встречались чаще, чем другие микроорганизмы (57%) (p=0,1038).

Так как забор мочи осуществляли после смены мочевого катетера, мы можем считать выделенные микроорганизмы клинически значимыми, количество их превышало 10⁴. *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и энтеробактеры обладали множественной антибиотикорезистентностью, энтерококк был чувствителен к ампициллину, ванкомицину, тейкопланину, линезолиду (МИК= 0,5 мкг/мл) и тетрациклину/тигециклину (МИК<=0,13 мкг/мл). Таксономическая структура микроорганизмов, полученных из ликвора, представлена в таблице 3.

Таблица 3

Таксономическая структура микроорганизмов (n=13), выделенных из спинномозговой жидкости больных с ОНМК

Микроорганизмы	Количество
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
CNS (<i>S. epidermidis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. hominis</i>)	7
<i>C. albicans</i>	1

В 3 случаях (23%) были выделены грамотрицательные бактерии, представленные *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*. В 9 (69%) случаях были изолированы грамположительные микроорганизмы, в 7 из них это были CNS: в 2 случаях – MS-CNS, в остальных – MR-CNS. *C. albicans* обнаружена в 1 (8%) случае.

При анализе идентичности возбудителей, выделенных из различных биоматериалов, были получены следующие данные. У 5 (26%) пациентов выявлено совпадение микроорганизмов: из ликвора и мокроты – в 2-х случаях (*K. pneumoniae* и синегнойная палочка), из ликвора и крови – в 2-х случаях (золотистый стафилококк и *K. pneumoniae*), из ликвора и мочи – в 1 случае (*S. agalactiae*). Генетическое исследование микроорганизмов не проводили.

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение нозокомиальных инфекций, вызванных множественно-и высокорезистентными штаммами микроорганизмов, представляет огромную проблему в клиниках всего мира. Этот факт становится особенно актуальным при терапии больных в критическом состоянии, к которым относятся в том числе пациенты с острым нарушением мозгового кровообращения, имеющим различные инфекционные осложнения, наиболее грозным из которых является развитие послеоперационного менингита [6]. Наличие современной хорошо автоматизированной бак-

териологической лаборатории позволит быстро и рационально проводить антибактериальную терапию и избежать полипрагмазии [7, 8].

Мы ретроспективно проанализировали таксономическую структуру микроорганизмов (91 штамм), выделенных у 26 больных с различными послеоперационными инфекционными осложнениями. Грамотрицательные палочки преобладали и в целом составили 60%, а при микробиологическом исследовании мокроты – 80%. По данным ряда авторов, грамотрицательные бактерии встречались в 58,2% случаев у больных с послеоперационными менингитами [3, 9]. В нашем исследовании *K. pneumoniae* выделяли в 42% случаев, *A. baumannii* – в два раза реже (разница достоверна). Чаще других грамотрицательных микроорганизмов ее выявляли при микробиологическом исследовании крови (28%) и мокроты (33%). Это соответствует современным литературным источникам [10], в которых представлен анализ более 1000 статей, где предположено нарастание этого возбудителя до 32,8%, используя модель случайных эффектов.

До недавнего времени лидирующим патогеном являлась *A. baumannii*. В работах 4-8-летней давности авторы (Александрова, Changing Patterns, Kurtaran) наблюдали преобладание *A. baumannii* по сравнению с *K. pneumoniae*: 21%-52%-58% против 14,5%-16%-34% у больных с инфекционными осложнениями после нейрохирургических операций. Однако в течение последнего времени отмечено нарастание числа энтеробактерий, включая клебсиллы и кишечные палочки [10, 11], обладающие высокой и множественной резистентностью к широкому ряду антибактериальных препаратов, что соответствует данным нашей клиники. Рядом авторов показано, что среди общего количества грамположительных микроорганизмов преобладали коагулазонегативные стафилококки [4, 12], количество которых превышало число остальных микроорганизмов, составляя 39%. В нашем исследовании их количество было 12% от общего числа микроорганизмов и 63% – от грамположительных штаммов. В ликворе они составили более половины (54%) случаев от общего количества выделенных микроорганизмов (разница достоверна). Такое расхождение результатов с данными литературы может быть связано с тем, что в части случаев мы их не учитывали, расценив как контаминацию образцов или клинически незначимые возбудители. Представляет интерес обнаружение большого количества грибов рода *Candida*, которые были изолированы в 15% от общего количества микроорганизмов, 50% из них составили *Candida non-albicans* – *C. glabrata* и в меньшем количестве – *C. tropicalis*, что соответствует данным других исследователей [13]. Грибковые инфекции представляют огромную значимость, особенно в отделе-

ниях реанимации, хотя трудно диагностируются. Необходимо повысить настороженность врачей в отношении этих патогенов, а также иметь ввиду нарастающее количество *Candida non-albicans*, обладающих неоднозначной чувствительностью к флуконазолу, который является сегодня основным наиболее финансово доступным антимикотиком в больничном формуляре.

При анализе идентичности возбудителей, изолированных из различных биоматериалов, у 26% пациентов были выделены одинаковые микроорганизмы с той же антибиотикограммой, полученные из ликвора и крови либо мочи, либо мокроты. Учитывая относительно редкую высеваемость патогенов из крови, это количество могло бы быть больше. Выделение патогенов из различных биоматериалов при наличии соответствующей инфекции требует наиболее тщательного соблюдения правил асептики для

исключения возможности контаминации ликвора. Вопрос об эндогенной контаминации ликвора из других инфекционных очагов с последующим развитием менингита остается неясным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных ОНМК мы отметили нарастающую значимость инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, множественно- и высокорезистентную к антибиотикам. Среди грамположительных патогенов преобладали коагулазонегативные стафилококки, однако следует иметь ввиду возможность контаминации образцов. Необходимо повысить настороженность врачей в отношении кандидозных инфекций. Определение чувствительности к антимикотикам позволит правильно использовать антимикотическую терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kirsten R.I.S. Dorresteijn, Matthijs C. Brouwer, Korné Jellema, Diederik van de Beek. Bacterial external ventricular catheter-associated infection. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* 2020; 18 (3): 219-229. doi:10.1080/14787210.2020.1717949
2. *The management of neurosurgical patients with postoperative bacterial or aseptic meningitis or external ventricular drain-associated ventriculitis.* Infection in Neurosurgery Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *Br. J. Neurosurg.* 2000; 14 (1): 7-12. doi: 10.1080/02688690042834
3. Behice Kurtaran, Ferit Kuscu, Aslihan Ulu, et al. The causes of postoperative meningitis: the comparison of gram-negative and gram-positive pathogens. *Turk Neurosurg.* 2018; 28 (4): 589-596. doi: 10.5137/1019-5149
4. Курдюмова Н.В., Данилов Г.В., Ершова О.Н. и др. Особенности развития внутрибольничных менингитов у пациентов отделения нейрореанимации. *Журнал «Вопросы нейрохирургии» им. Н.Н. Бурденко.* 2015; 79 (3): 55-59. [Kurdyumova N.V., Danilov G.V., Ershova O.N., et al. Features of the course of nosocomial meningitis in patients of neurosurgical intensive care unit. *Burdenko's Journal of Neurosurgery.* 2015; 79 (3): 55-59. (In Russ., In Engl.).doi.org/10.17116/neiro201579355-59
5. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. Приказ от 18 мая 2021 г. N 464н «Об утверждении правил проведения лабораторных исследований». [Ministry of Health of the Russian Federation. Order dated May 18, 2021 N 464n "On approval of the rules for conducting laboratory tests" (In Russ.).]
6. Laura Soavi, Manuela Rosina, Roberto Stefani, et al. Post-neurosurgical meningitis: Management of cerebrospinal fluid drainage catheters influences the evolution of infection. *Surg. Neurol. Int.* 2016; 7 (Suppl 39): S927-S934. doi: 10.4103/2152-7806.195228
7. Дмитриева Н.В., Агинова В.В., Петухова И.Н. и др. Автоматизация микробиологической лаборатории – путь к снижению летальности онкологических больных. *Злокачественные опухоли.* 2020; 10 (1): 49-54. [Dmitrieva N.V., Aginova V.V., Petukhova I.N., et al. Automation of microbiological laboratory – a way to reduce the mortality of cancer patients. *Malignant tumours.* 2020; 10 (3s1): 49-53. (In Russ.) doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-3s1-49-53
8. Дмитриева Н.В., Громова Е.Г., Дьякова С.А., Кузнецова Л.С., Григорьевская З.В. Изобретение к патенту №2 732 222 С1 от 14.09.2020 «Способ диагностики бактериемии». [Dmitrieva N.V., Gromova E.G., Dyakova S.A., Kuznetsova L.S., Grigorievskaya Z.V. Invention to the patent N 2 732 222 С1 dated 09/14/2020 "Method for diagnosing bacteremia" (In Russ.).]
9. Дмитриева Н.В., Агинова В.В., Петухова И.Н. и др. Нозокомиальные инфекции, вызванные бактериями семейства *Enterobacteriaceae*, в онкологической клинике. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18 (1): 36-42. [Dmitrieva N.V., Aginova V.V., Petukhova I.N., et al. Nosocomial infections caused by bacteria of enterobacteriaceae family in cancer clinic *Siberian Journal of Oncology.* 2019; 18 (1): 36-42. (In Russ.).] doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-36-42
10. Nur Ain Mohd Asri, Suhana Ahmad, Rohimah Mohamad, et al. Global prevalence of nosocomial multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10 (12): 1508. doi: 10.3390/antibiotics10121508

11. *Michael J. Griffiths, Fiona McGill, Tom Solomon.* Management of acute meningitis. *Clin.Med. (Lond).* 2018; 18 (2): 164-169. doi: 10.7861 /clinmedicine.18-2-164

12. Allan R. Tunkel, Rodrigo Hasbun, Adarsh Bhimraj, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. *Clinical Infectious Diseases.* 2017; 64 (6): e34- e65. doi.org/10.1093/cid/ciw861

13. *Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации. Под ред. Клишко Н.Н. М., Боргес, 2010; 92 с. [Diagnosis and treatment of mycoses in the departments of rehabilitation and intensive care. Russian national recommendations. Edited by Klimko N.N. M., Borges, 2010; 92 p. (In Russ.)].*

Поступила в редакцию журнала 20.10.2022

Рецензент: Н.Н. Клишко



НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГУ- МОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТ- ВЕТА НА *CANDIDA ALBICANS* У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМА- ТИТОМ

Мавлянова Ш.З. (руководитель научной ла-
боратории)*, Алимухамедова Ю.А. (с.н.с.),
Ибрагимова Г.Р. (врач-дерматолог), Закиров
Б.Х. (н.с.)

Республиканский специализированный научно-
практический медицинский центр дерматовенерологии
и косметологии, Ташкент, Узбекистан

Атопический дерматит – наиболее распространенное кожное заболевание у детей, характеризующееся наследственностью, хроническим рецидивирующим течением, преимущественно эритематозно-lichenoidными и экссудативными высыпаниями, в сочетании с другими признаками атопии. В основе патогенеза дерматоза лежит иммунологическая реактивность организма.

Цель исследования: оценить состояние секреторного иммуноглобулина А (sIgA), общего IgA и IgE в сыворотке крови детей с атопическим дерматитом (АД).

Материалы и методы. Обследовано 30 детей в возрасте от 1 до 18 лет с АД. У всех пациентов проводили клинические (оценка индекса SCORAD), микробиологические, микологические, статистические исследования, иммуноферментный анализ (ИФА). Общий IgA, sIgA, специфический IgG к грибам рода *Candida* и общий IgE определяли в сыворотке крови больных с использованием коммерческих ИФА тест-систем (Вектор-Бест, Россия).

Результаты. У детей с АД в сыворотке крови отмечали повышение уровня как sIg A (в 2,03 раза), так и общего IgA (в 1,7 раза) на фоне гиперпродукции общего IgE, что обусловлено дисбалансом местного иммунитета ($P<0,05$). Показатели уровня IgG к грибам рода *Candida* в сыворотке крови пациентов в среднем составили $1,7\pm 0,2$ нг/мл, что в 22,6 раз выше по сравнению с контрольной группой ($0,075\pm 0,03$ нг/мл). Выявлена прямая корреляционная связь с sIgA ($r=0,46$) и общим IgA ($r=0,48$), полученные данные имеют статистически достоверный характер ($P<0,05$). При посеве кала обнаружена повышенная колонизация грибов рода *Candida* в кишечнике у 86,6% больных АД, что в среднем составило $4320\pm 292,8$ КОЕ/мл; это в 19,03 раз выше показателей здоровых лиц ($P<0,05$), что свидетельствует о развитии кандидозного дисбиоза кишечника у детей с АД. Высокая колонизация

Candida spp. находилась в достоверной, но обратной корреляции с общим IgA ($r=-0,4$, $P<0,05$).

Выводы. У детей с АД отмечается дисбаланс местного иммунитета, характеризующийся повышением концентрации sIgA (в 2,03 раза) и общего IgA (в 1,7 раза) на фоне гиперпродукции общего IgE., обусловленный колонизацией слизистой оболочки полости рта и кишечника.

Ключевые слова: атопический дерматит, иммуноглобулин А, секреторный иммуноглобулин А, *Candida spp.*, гуморальный иммунитет, кандидозный дисбиоз кишечника

SOME INDICATORS OF THE HU- MORAL IMMUNE RESPONSE FOR *CANDIDA ALBICANS* IN CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS

Mavlyanova Sh.Z. (head of the scientific labor-
atory), Alimukhamedova Yu.A. (senior scienti-
fic researcher), Ibragimova G.R. (derma-
tovenereologist), Zakirov B.Kh. (scientific re-
searcher)

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Cen-
ter for Dermatovenereology and Cosmetology, Tashkent,
Uzbekistan

Atopic dermatitis is the most common skin disease among children, characterized by heredity, chronic relapsing course, predominantly erythematous-lichenoid and exudative rashes, in combination with other signs of atopy. The pathogenesis of dermatosis is based on the immunological reactivity of the body.

The aim of the study was to assess the state of secretory immunoglobulin A (sIgA), total IgA and Ig E in the blood serum of sick children with atopic dermatitis (AD).

Material and methods. 30 children aged from 1 to 18 years old with AD were examined. All children underwent clinical (assessment of the SCORAD index), microbiological, mycological, statistical studies and ELISA. Total IgA, sIgA, specific IgG to fungi of the genus *Candida* and total IgE were determined in the blood serum of patients using commercial ELISA test systems (Vector-Best, Russia).

Results. According to the ELISA, in children with AD in the blood serum there was an increase in both sIgA (2,03 times) and total IgA (1,7 times) against the background of hyperproduction of total IgE, which is due to an imbalance of local immunity ($P<0,05$). The indicators of the level of specific IgG to fungi of the genus *Candida* in the blood serum of patients averaged $1,7\pm 0,2$ pg/ml, which is 22,6 times higher than in the control group ($0,075\pm 0,03$ pg/ml). A direct correlation with sIgA ($r=+0,46$) and total IgA ($r=+0,48$) was revealed, the data

* Контактное лицо: Мавлянова Шахноза Закировна,
e-mail: shahnoza_m@mail.ru

obtained are statistically reliable ($P < 0,05$). When feces were sown, increased colonization of *Candida* fungi in the intestine was detected in 86,6% of patients with AD, which averaged $4320 \pm 292,8$ CFU/ml; this is 19,03 times higher than in healthy individuals ($P < 0,05$), which indicates the development of intestinal candidal dysbiosis in children with AD. High colonization of *Candida* spp. It was in a significant but inverse correlation with the total IgA ($r = -0,4$, $P < 0,05$).

Conclusions: In children with AD, there is an imbalance of local immunity, characterized by an increase in the concentration of sIgA (2,03 times) and total IgA (1,7 times) against the background of hyperproduction of total IgE, due to colonization of the oral mucosa and intestines.

Key words: atopic dermatitis, immunoglobulin A, secretory immunoglobulin A, *Candida* spp., humoral immunity, intestinal candidal dysbiosis

ВВЕДЕНИЕ

Атопический дерматит – наиболее распространенное кожное заболевание у детей, характеризующееся наследственностью, хроническим рецидивирующим течением, преимущественно эритематозно-лихеноидными и экссудативными высыпаниями, в сочетании с другими признаками атопии [1, 2].

В основе патогенеза дерматоза лежит иммунологическая реактивность организма. Основная функция специфического иммунного ответа – специфическое распознавание чужеродных антигенов, где участвуют молекулы разных типов – иммуноглобулины и Т-клеточные рецепторы [3-5]. Иммуноглобулины являются эффекторами гуморального иммунитета в сыворотке крови. Уровень секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в значительной мере отражает активность секреторных механизмов системы иммунитета слизистых оболочек. Непосредственно обеспечивая «первую линию защиты» слизистой оболочки кишечника от воздействия чужеродных антигенов, он является «главным чистильщиком» кишечника [6-8].

Отметим, что белки класса IgA составляют 10-20% от общего количества иммуноглобулинов в сыворотке крови человека и, препятствуя адгезии микроорганизмов к эпителию слизистых оболочек, выполняют важную роль в местной иммунологической защите от возбудителей кишечных и респираторных инфекций. В сыворотке крови IgA в большей части присутствует в виде мономеров, а в секретах слизистых IgA содержится в виде димеров, создавая местную защиту слизистых оболочек.

Недостаточность функции местного иммунитета обусловлена снижением IgA, а его повышенное количество характеризует дисбаланс в иммунной системе [9]. Также рядом авторов установлено, что при снижении местного иммунитета, в частности sIgA, формируется хроническая патология. Вместе с тем, вопрос о роли секреторного иммуноглобулина А в

клиническом течении атопического дерматита у детей с в литературе освещен недостаточно. Организм ребенка в силу своих физиологических особенностей является более предрасположенным к сенсibilизации к различным микроорганизмам, в том числе к дрожжеподобным грибам рода *Candida*, которые наиболее часто колонизируются в кишечнике.

Цель исследования: оценить состояние sIgA, общего IgA и IgE в сыворотке крови детей с атопическим дерматитом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 30 детей в возрасте от 1 до 18 лет с АД. Контрольную группу составили 29 здоровых лиц. У всех пациентов диагноз устанавливали согласно Клиническим рекомендациям (2020). Критерии состоят из обязательных: зуд, типичная морфология и расположение сыпи, хроническое или рецидивирующее течение, семейный характер атопии (бронхиальная астма, ринит, конъюнктивит, АД); дополнительных: ксероз, ихтиоз, реакция немедленной кожной гиперчувствительности, высокий уровень IgE, периферическая эозинофилия крови, начало в раннем детском возрасте, частое инфицирование кожных покровов (стафилококковой, герпетической этиологии), хейлиты, экзема сосков, рецидивирующие конъюнктивиты, складка Денье-Моргана, керато-конус, передняя подкапсулярная катаракта, бледность или покраснение лица, перифолликулярная локализация высыпаний, складки на передней поверхности шеи, белый дермографизм, зуд при пототделении, повышенная сенсibilизация к шерсти и липидным растворителям, пищевым компонентам, влияние эмоциональных, внешнесредовых воздействий на течение болезни. Диагноз устанавливается на основании 3 и более основных и 3 и более дополнительных признаков.

У всех детей проводили клинические (оценка индекса SCORAD), микробиологические, микологические, статистические исследования, иммуноферментный анализ (ИФА). Общий и секреторный IgA, IgG к грибам рода *Candida*, общий IgE определяли в сыворотке крови больных с помощью коммерческих ИФА тест-систем (Вектор-Бест, Россия).

Статистические исследования включали методы вариационного анализа с применением t-критерия Стьюдента и использованием пакета прикладных программ для статистической обработки Excel-2010. Средние величины представлены в виде $M \pm m$ (среднее значение и стандартная ошибка). Коэффициент корреляции между двумя сопоставимыми сериями (событиями) рассчитывали методом Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди 30 детей с АД эритематозно-сквамозную клиническую форму диагностировали у 4 пациентов, эритематозно-сквамозную форму с лихенификацией – у 13, экссудативную – у 3, лихеноидную – у 7, пруригинозную – у 3.

Давность заболевания до 1 года отмечали у 5 детей, 1-5 лет – у 16, более 5 лет – у 9. Городские жители составили 26,6% (8 человек), сельские – 73,3% (22). Отягощенная наследственность в основной группе была у 19 из 30 больных (63,3%).

Оценку степени тяжести АД проводили с использованием программной диагностики с учетом индекса SCORAD. При этом легкая степень тяжести выявлена у 4 из 30 детей (13,3%), средняя – у 16 (53,3%), тяжелая – у 10 (33,3%).

Секреторный иммуноглобулин А в основном присутствует в большом количестве в серозно-слизистых секретах, где они связаны с секреторным компонентом.

Результаты определения sIgA, общего IgA, IgE, IgG к грибам рода *Candida* в сыворотке крови пациентов с АД представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели sIgA, общего IgA, IgG к грибам рода *Candida*, общего IgE у детей с АД

Показатели	Контроль, n=29	Больные, n=30
sIgA (мг/мл)	2,8 ± 0,03	5,7 ± 0,1 *
IgA (мг/мл)	3,8 ± 0,03	6,5 ± 0,4*
IgG к грибам рода <i>Candida</i> (пг/мл)	0,075 ± 0,03	1,7 ± 0,2*
IgE (общий) (МЕ/мл)	63,2±1,4	195,4 ± 9,7*

Примечание: * – достоверность по отношению к показателям здоровых лиц (P < 0,05).

Установлено, что в сыворотке крови детей контрольной группы концентрация sIgA в среднем составила 2,8±0,03 мг/мл, а в группе больных АД – 5,7±0,1 мг/мл, что в 2,03 раза выше показателей здоровых лиц (P < 0,05). Уровень общего IgA в контрольной группе составил 3,8±0,03 мг/мл, а у пациентов с АД – 6,5±0,4 мг/мл, что в 1,7 раз выше по сравнению с группой контроля. Полученные данные имели статистически достоверный характер.

Отметим, что повышение уровня sIgA у больных детей является нарушением местного иммунитета в системе слизистых оболочек (полости рта, кишечника), обеспечивающего непосредственно «первую линию защиты» от воздействия чужеродных антигенов. По данным Маковецкой А.К. и соавт. (2005), снижение sIgA может указывать на недостаточность функции местного иммунитета, а его повышенное количество – на дисбаланс в иммунной системе.

Содержание общего IgE в сыворотке крови больных основной группы в среднем составило 195,4±9,7 МЕ/мл, что в 3,1 раз превышало показате-

тели детей контрольной группы (63,2±1,4 МЕ/мл; P < 0,05). Отметим, что IgE выявляется на поверхностной мембране базофилов и тучных клеток, и они сенсибилизированы к клеткам слизистых оболочек. Показана достоверная прямая корреляция общего IgE с IgA (r=0,4, P < 0,05).

Количественное содержание IgG к грибам рода *Candida* в сыворотке крови у больных АД в среднем составило 1,7±0,2 пг/мл, что в 22,6 раз выше результатов в контрольной группе (0,075±0,03 пг/мл), (P < 0,05). Показатели IgG к грибам рода *Candida* у больных находились в прямой корреляционной связи с sIgA (r=0,46) и общим IgA (r=0,48), полученные данные имели статистически достоверный характер (P < 0,05).

Согласно литературным данным, повышение уровня специфического IgG к грибам рода *Candida* в сыворотке крови детей с АД может быть обусловлено колонизацией слизистой оболочки полости рта или кишечника в организме, что ведет к сенсибилизации к дрожжеподобным грибам. В связи с этим нами проведен корреляционный анализ микологических исследований слизистой оболочки полости рта и кишечника с содержанием IgG к грибам рода *Candida* в сыворотке крови пациентов с АД.

При микологическом исследовании слизистых оболочек полости рта и кишечника у детей с АД выявили наличие дрожжеподобных грибов рода *Candida* и повышенную колонизацию в просвете кишечника (табл. 2)

Таблица 2

Показатели выявляемости дрожжеподобных грибов рода *Candida* у детей с атопическим дерматитом

	Слизистая оболочка полости рта		Кишечник	
	Выявлены <i>Candida</i> spp.	Почкующиеся или мицелиальные формы	Выявлены <i>Candida</i> spp.	Колонии (КОЕ/мл)
Дети с АД, N=30	19 (63,3%)*	11 (36,6%)*	26 (86,6%)*	4320±292,8*
Контрольная группа, N=29	7 (24,1%)	-	11(37,9%)	227±13,8

Примечание: * – достоверность по отношению к показателям здоровых лиц (P < 0,05).

Как следует из таблицы, в контрольной группе среди 29 здоровых детей в биосубстратах слизистой оболочки полости рта у 7 (24,1%) выявлены дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Тогда как в группе больных АД у 19 (63,3%) из 30 пациентов были обнаружены *Candida* spp., что в 2,6 раз превышало показатели здоровых лиц (P < 0,05).

При микологическом посеве кала наблюдали повышенную колонизацию грибов рода *Candida* в кишечнике у 26 (86,6%) больных АД – 4320±292,8 КОЕ/мл, что в 19,03 раз выше по сравнению с контрольной группой – 227±13,8 КОЕ/мл (11 из 29 де-

тей, 37,9% случаев) ($P < 0,05$). Полученные данные имели статистически достоверный характер ($P < 0,05$). Отметим, что с учетом клинического течения АД по индексу SCORAD повышенную колонизацию отмечали у больных средней и тяжелой степени тяжести заболевания.

Высокая колонизация грибов рода *Candida* в кишечнике (более 1000 КОЕ), сопровождающаяся вздутием живота, диареей, обуславливала развитие кандидозного дисбиоза кишечника у детей с атопическим дерматитом и находилась в достоверной, но

обратной корреляции с общим IgA – $r = -0,4$ ($P < 0,05$).

Таким образом, у детей с АД отмечается дисбаланс местной иммунной системы, характеризующийся повышением концентрации sIgA (в 2,03 раза) и общего IgA (в 1,7 раз) на фоне гиперпродукции общего IgE, обусловленный колонизацией слизистой оболочки полости рта и кишечника.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альбанова В.И., Пампура А.Н. Атопический дерматит: учебное пособие. М.: Геотар-Медиа, 2014, 128 с. [Albanova V.I., Pampura A. N. Atopic dermatitis: textbook. M.: Geotar-Media, 2014, 128 p. (In Russ.)].
2. Торопова Н.П., Сорокина К.Н., Лепешкова Т.С. Атопический дерматит детей и подростков - эволюция взглядов на патогенез и подходы к терапии. Рос. журн. кож. и венер. болезней. 2014; 6: 50-59. [Toropova N.P., Sorokina K.N., Lepeshkova T.S. Atopic dermatitis in children and adolescents: evolution of views on the pathogenesis and therapeutic approaches. Ros. journal. leather. and venus. diseases. 2014; 6: 50-59.
3. Смирнова Г.И. Атопический дерматит у детей: достижения и перспективы. Рос. педиатр. журн. 2017; (2): 99-107. [Smirnova G.I. Current concepts of atopic dermatitis in children: problems and prospects. Russian pediatrician. Journal 2017; (2): 99-107. (In Russ.)]. doi: 10.18821/1560-9561-2017-20-2-99-107
4. Tsakok T., Woolf R., Smith C.H., et al. Atopic dermatitis: the skin barrier and beyond. Br. J. Dermatol. 2019; 180 (3): 464-474. doi: 10.1111/bjd.16934
5. Тамразова О.Б., Стадникова А.С. Новые представления об этиопатогенезе атопического дерматита и тактике ведения больных. Consilium Medicum. Педиатрия. 2015; 1: 64-9. [Tamrazova O.B., Stadnikova A.S. New ideas about etiopathogenesis atopic dermatitis and tactics of patients. Consilium Medicum. Pediatrics (Suppl.). 2015; 1: 64-69. (In Russ.)].
6. Бегайдарова Р.Х., Кузгубекова А.Б., Насакаева Г.Е. и др. Секреторный иммуноглобулин А при лямблиозе. Международный журнал экспериментального образования. 2013; 10 (2): 233-235. [Begaidarova R.H., Kuzgibekova A.B., Nasakaeva G.E., et al. Secretory immunoglobulin A in giardiasis. International Journal of Experimental Education. 2013; 10 (2): 233-235. (In Russ.)].
7. Бочарова К.А. Диагностика и лечение первичного иммунодефицитного состояния: селективный дефицит секреторного иммуноглобулина А. Науч. ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия Медицина. Фармация. 2012; 17 (4): 259-265. [Bocharova K.A. Diagnosis and treatment of primary immunodeficiency: selective deficiency of secretory immunoglobulin A. Scientific Bulletin of the Belgorod State University. Medicine series. Pharmacy. 2012; 17 (4): 259-265. (In Russ.)].
8. Крюкова Н.О., Ракунова Е.Б., Костинов М.П. и др. Секреторный иммуноглобулин А респираторной системы и COVID-19. Пульмонология. 2021; 31 (6): 792-798. [Kryukova N.O., Rakunova E.B., Kostinov M.P., et al. Secretory immunoglobulin A of the respiratory system and COVID-19. Pulmonologiya. 2021; 31 (6): 792-798. (In Russ.)]. doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-6-792-798
9. Маковецкая Г.А. К вопросу о хронических болезнях почек у детей. Педиатрия. 2018; 87 (3): 134-136. [Makovetskaya G.A. On the issue of chronic kidney diseases in children. Pediatrics. 2018; 87 (3): 134-136. (In Russ.)].

Поступила в редакцию журнала 05.10.2022

Рецензент: Е.В. Фролова



ПЕРИОРАЛЬНЫЙ ДЕРМАТИТ. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ

¹Вашкевич А.А. (доцент), ²Суворова А.А. (врач-дерматовенеролог)*, ¹Разнатовский К.И. (зав. кафедрой), ¹Резцова П.А. (врач-дерматовенеролог), ¹Гулордава М.Д. (зав. отделением), ¹Левина Ю.В. (ассистент кафедры)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Центр планирования семьи и репродукции, Санкт-Петербург, Россия

Периоральный дерматит, часто именуемый в литературе стероидным дерматитом по причине тесной взаимосвязи между его возникновением и применением местных глюкокортикостероидных средств на коже лица, представляет собой клинически характерный и узнаваемый паттерн кожной реакции, проявляющийся эритемой, папуло-пустулезной сыпью, а также стянутостью и сухостью кожи. Процесс склонен к хронизации и обычно поражает периоральную область (с характерным венчиком незатронутой кожи по контуру губ), а в более редких случаях – перинозальную и периокулярную зоны. Согласно последним данным, около 6% женщин и 0,3% мужчин на приеме у дерматолога имеют диагноз «Периоральный дерматит». Таким образом, заболевание является весьма актуальной проблемой в амбулаторной дерматологической практике. Однако этот весьма распространенный воспалительный дерматоз лица еще недостаточно хорошо изучен в отношении как этиопатогенеза, так и подходов к терапии и требует более масштабных и длительных исследований.

В данной статье, по результатам анализа работ отечественных и зарубежных авторов, приведены последние актуальные данные, касающиеся этиологии, патогенеза и терапии периорального дерматита, а также представлен клинический случай эффективного лечения стероидного дерматита тяжелой степени препаратом местного ивермектина 1% в форме крема.

Ключевые слова: периоральный дерматит, стероидный дерматит, SIRD, изотретиноин, ивермектин, клинический случай

* Контактное лицо: Суворова Арина Артуровна, e-mail: arina.suvorova.94@mail.ru

PERIORAL DERMATITIS. NEW APPROACHES TO THERAPY

¹Vashkevich A.A. (associate professor), ²Suvorova A.A. (dermatovenerologist), ¹Raznatovsky K.I. (head of the department), ¹Reztsova P.A. (dermatovenerologist), ¹Gulordava M.D. (head of the clinical department), ¹Levina Yu.V. (assistant of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ² Family Planning and Reproduction Center, St. Petersburg, Russia

Perioral dermatitis (POD), often referred to in the literature as steroid dermatitis due to the close relationship between its occurrence and the use of topical glucocorticosteroid agents on the skin of the face, is a clinically characteristic and recognizable pattern of skin reaction, manifested by erythema, papulopustular rash, and tightness and dry skin. The process is prone to chronicity and usually affects the perioral region (with a characteristic halo of unaffected skin along the contour of the lips), and in more rare cases, the perinasal and periocular zones. According to the latest data, about 6% of women and 0,3% of men at a dermatologist's appointment are diagnosed with perioral dermatitis, thus, the disease is a very urgent problem in outpatient dermatological practice. However, this very common inflammatory dermatosis of the face is not yet well understood in terms of both etiopathogenesis and treatment approaches and requires larger and longer studies.

In this article, based on the results of the analysis of the works of domestic and foreign authors, the latest relevant data on the etiology, pathogenesis and therapy of perioral dermatitis are presented, as well as a clinical case of effective treatment of severe steroid dermatitis with topical ivermectin 1% in the form of a cream.

Key words: perioral dermatitis, steroid dermatitis, SIRD, isotretinoin, ivermectin, clinical case

ВВЕДЕНИЕ

Периоральный дерматит (Под), впервые описанный в 1964 году Mihan R. и Ayres S., представляет собой клинически характерный паттерн кожной реакции, склонный к хронизации, обычно поражающий периоральную область, а также перинозальные / периокулярные зоны и включающий в себя эритему, папулы, пустулы, шелушение, жжение и стянутость кожи. Заболевание также известно как «Mundrose» на немецком языке (в широком переводе – рожистое воспаление рта), стероидиндуциро-

ванный розацеоподобный дерматит (SIRD), периоральный дерматит или болезнь стюардесс.

ПоД встречается во всем мире, главным образом среди светлокотких людей, преимущественно страдают женщины в возрасте от 15 до 45 лет. Пик заболеваемости приходится на 2-е и 3-е десятилетия жизни. ПоД также отмечается у детей, где, в отличие от взрослой формы, наиболее часто заболевают мальчики, и чаще поражаются более крупные участки лица с распространением на периназальную и периорбитальную области.

Особой формой ПоД является волчаночный или гранулематозный периоральный дерматит (он же именуемый как лицевая сыпь афро-карибских детей), при котором наблюдаются скопления более крупных и сочных красно-коричневых папул, папуло-квематозные очаги, напоминающие при диаскопии волчанку, но в отличие от нее данный процесс всегда разрешается без рубцевания и остаточных нарушений пигментации.

Этиология.

1. Топические глюкокортикостероиды (тГКС). На сегодняшний день чрезмерному использованию топических глюкокортикостероидов на коже лица отводится ведущая роль в развитии периорального дерматита. Nameed A.F. и соавторы [1] при исследовании 75 пациентов с клиническими проявлениями ПоД выявили, что минимальная продолжительность использования топических стероидов на лице для возникновения клиники составляет не менее 2-6 месяцев (длительность варьируется в зависимости от силы применяемого гормона). Наиболее часто используемыми фторированными тГКС были бетаметазона валерат 0,1 – у 5 (6%) человек, клобетазола пропионат 0,05 – у 7 (9%), оба – у 15 (20%), тогда как 48 (64%) больных комбинировали любой из вышеупомянутых тГКС с доступной безрецептурной косметикой. Основными возрастными группами были люди в возрасте от 21 до 30 лет (представляют 53% от затронутой группы) и от 31 до 40 (представляют 33%). Основными источниками рецептов на тГКС были салоны красоты (26 пациентов), самостоятельное назначение (20) и рекомендации провизоров аптек (18). Основные цели использования тГКС: меланодермия – у 25 (33%) человек, акне – у 9 (12%), веснушки – у 5 (6%) и красный плоский лишай – у 2 (2%), в то время как 31 (41%) использовали тГКС в качестве крема для выравнивания цвета кожи.

Подтверждение роли кортикостероидов связано с сообщениями о ПоД, которые развились после приема пероральных [2] и ингаляционных кортикостероидов [3, 4].

Всего несколько дней применения кортикостероидов достаточно для подавления признаков мно-

гих первичных дерматозов из-за их быстрого противовоспалительного и сосудосуживающего эффектов. Но поскольку ГКС не устраняют причину заболевания, их прекращение часто вызывает обострение первичного процесса, что приводит многих людей к продолжительному нанесению тГКС.

Длительное использование тГКС формирует диффузную эритему, папулопустулярные высыпания, телеангиэктазии, ощущение зуда и жжения. После нескольких месяцев или лет применения местных стероидов происходят функциональные и анатомические изменения кожи: поверхностные кровеносные сосуды становятся более заметными из-за исчезновения кожного коллагена, повышается восприимчивость к бактериальным, вирусным и грибковым инфекциям, возбудители которых могут впоследствии действовать как суперантигены, утяжеляя клиническую картину и течение ПоД.

По данным Leyden S.J. и др. (1974) и Zhneg P. и соавт. (1984), экспериментальное применение сильнодействующих кортикостероидов на здоровой коже, богатой сальными железами, привело к типичным розацеа-подобным симптомам.

Практически у всех пациентов прекращение лечения сопровождалось выраженным воспалением, отеком, покраснением, ощущением жжения и острой гнойничковой сыпью. Sneddon I. был первым, кто в 1969 г. в статье «Adverse effect of topical fluorinated corticosteroids in rosacea» описал это как феномен рикошета. Обычно он начинается через 4-10 дней после прекращения местного лечения кортикостероидами и длится от нескольких дней до 3 недель. Многие пациенты возобновляют лечение для подавления этого нежелательного эффекта и, таким образом, становятся практически зависимыми от применения тГКС.

2. Фузобактерии. Фузобактерии при ПоД впервые были обнаружены Buck A. в 1971 г. благодаря микроскопическому исследованию мазков, взятых из псевдопустул и окрашенных методом по Граму и метиленовым синим. В 1994 г., в сообщении Berardi P. и др. «Demonstration of fusobacteria in eruptions of perioral dermatitis using the tape stripping toluidine blue method», фузобактерии были выявлены на поверхности корней vellusных волос у пациентов с ПоД с помощью ленты с толуидиновым синим. Позже Takiwaki H. (2003) и соавт. в своих исследованиях выяснили, что фузоформные бактерии наблюдаются в большом количестве у пациентов с ПоД в сравнении с больными с себорейным и атопическим дерматитом, а также со здоровыми лицами контрольной группы. В исследовании Adaskevich U.P. и коллег [5] подтверждено микроскопическое обнаружение у большинства людей с ПоД (8 из 10) палочковидных бактерий, сходных по

морфологии с теми, что были описаны Berardi P. (1994) и Takiwaki H. (2003). Однако такие же бактерии, хотя и с меньшей частотой, были выявлены ими у 4 пациентов с розацеа, 4 человек с себорейным дерматитом и у 1 представителя группы контроля. Таким образом, подтверждение непосредственного участия фузоформных бактерий в развитии периорального дерматита требует проведения дальнейших исследований.

3. Клещ *Demodex*. Роль клеща *Demodex* также остается спорной. Возможно, он может вызвать воспалительную или аллергическую реакцию, закупоривая волосяные фолликулы или действуя как переносчик других микроорганизмов. *Demodex* присутствует на коже многих здоровых людей, поэтому было высказано предположение, что клещ может играть патогенную роль только тогда, когда он присутствует в большом количестве. В частности, в работе Резниченко Н.Ю. и коллег [6] *Demodex folliculorum* был обнаружен только у 1/3 больных периоральным дерматитом, поэтому авторы пришли к выводу, что он не играет ведущей роли в формировании этого заболевания. Однако при длительном течении ПоД и использовании ГКС может происходить вторичная бактериальная колонизация или заражение клещами *Demodex*, а это, в свою очередь, приводит к более выраженной пустулизации процесса.

4. Прочие факторы. Помимо прочего, отягчающими факторами для ПоД являются: пребывание на солнце, интенсивное мытье с мылом, декоративная косметика, кремы с высоким солнцезащитным фактором, фторсодержащая зубная паста, жевательная резинка и даже зубные пломбы [7].

Патогенез.

Периоральный дерматит представляет собой характерную реакцию непереносимости кожи лица на повторяющееся раздражение. Возможные раздражители следует искать в стероидных мазях, кремах, в косметических продуктах, таких как очищающие средства или кремы для ухода за кожей, однако пути, ведущие к развитию ПоД, до конца не изучены; установлено, что у многих пациентов имеется склонность к атопии.

При заболевании ПоД подавляется функция эпидермального барьера. Это приводит к набуханию рогового слоя, что, в свою очередь, сопровождается ощутимым нарушением защитной функции и повышенной трансэпидермальной потерей воды. Количество эпидермальных липидов, включая керамиды, уменьшается, тогда как дермальные изменения включают уменьшение коллагена и эластических волокон. Появление ощущения стянутости и сухости

побуждает больных увеличить использование косметических продуктов, которые провоцируют еще большее раздражение. Формируется порочный круг патогенеза, воспалительная реакция в конечном итоге приводит к клинической картине периорального дерматита.

Иммуносупрессивное и вазоконстрикторное действие местных стероидов способствует возникновению и обострению ПоД. После отказа от применения топических стероидов возникает опосредованный суперантигенами иммунологический ответ с высвобождением провоспалительных цитокинов. Длительное сужение сосудов приводит к накоплению некоторых метаболитов, таких как оксид азота (мощный вазодилататор). При отмене тГКС сосудосуживающий эффект прекращается, вызывая стойкое расширение сосудов, гораздо большее, чем их первоначальный диаметр (высвобождение накопившегося NO), что в последствие усиливает эритему, телеангиэктазии, жжение и зуд, наблюдаемые при ПоД.

Гистологическая картина.

Биопсия кожи при периоральном дерматите выявляет перифолликулярный и периваскулярный лимфогистиоцитарный воспалительный инфильтрат с редкими плазматическими клетками. Хотя иногда встречается фолликулярный спонгиоз, типичные признаки классического дерматита часто отсутствуют, несмотря на то, что этот термин используется для обозначения болезни. При гранулематозном варианте периорального дерматита, помимо периваскулярного и перифолликулярного лимфогистиоцитарного воспаления, присутствуют дермальные эпителиоидные гранулемы и гигантские клетки.

Терапия.

При выборе терапии ПоД рекомендуется указывать степень тяжести заболевания с помощью индекса PODSI, основанного на выраженности клинических проявлений, таких как эритема, папулы и шелушение. Также с его помощью оценивают эффективность проводимого лечения. Легкая степень тяжести периорального дерматита соответствует значениям индекса PODSI – 0,5-2,5, средняя степень тяжести – 3,0-5,5 и тяжелая форма PODSI – 6,0-9,0.

Первоначальная терапия ПоД может быть местной, системной или нулевой с учетом в первую очередь степени тяжести, а также ранее проводимого лечения, типа личности и ожидаемой приверженности пациента. Если после 3 недель лечения PODSI не уменьшается на 50%, терапию усиливают, учитывая, что системная терапия должна проводиться максимум 8 недель за исключением терапевтически рефрактерных форм [8].

1. Нулевая терапия, т.е. прекращение всех видов местного лечения (особенно местных стероидов и богатой липидами косметики) является общепринятым подходом к терапии данного заболевания, который во многих случаях может привести к улучшению или выздоровлению у приверженных пациентов. Понятно, что проспективных контролируемых исследований нулевой терапии не существует. Weber K. и Thurmayr R. в 2005 г. опубликовали систематический обзор терапии ПоД «Critical appraisal of reports on the treatment of perioral dermatitis» и указывают на два исследования, которые подтверждают эффективность нулевой терапии:

1) Röckl H. и Schubert E. в 1971 г. сообщили в открытом исследовании «Zur therapie dersogenannten perioralen dermatitis» о высокой скорости выздоровления при нулевой терапии ПоД. В плацебо-контролируемом исследовании тетрациклинов, опубликованном в 1973 г. «Über den Wert der Tetrazyklin-Therapie bei der perioralen Dermatitis», те же авторы наблюдали улучшение состояния пациентов даже в группе плацебо.

2) Weber K. и соавторы в работе 1993 г. «A topical erythromycin preparation and oral tetracycline for the treatment of perioral dermatitis: A placebocontrolled trial» показали, что при лечении ПоД эритромицином и тетрациклином болезнь также улучшилась в группе плацебо, что свидетельствует об эффективности нулевой терапии.

2. Пимекролимус. В дополнение к нулевой терапии могут быть добавлены топические средства. Предпочтение следует отдавать крему пимекролимусу, поскольку этот препарат имеет наибольшее количество исследований, посвященных терапии ПоД, где подтверждена его высокая эффективность и безопасность длительного использования. В рандомизированном двойном слепом исследовании Schwarz T. и коллег «A randomized, double-blind, vehicle-controlled study of 1% pimecrolimus cream in adult patients with perioral dermatitis» (2008 г.) взрослые пациенты с периоральным дерматитом, получавшие 1% крем пимекролимуса дважды в день, достигли более раннего снижения тяжести заболевания, субъективных ощущений по сравнению с группой, использовавшей плацебо (крем-носитель). Крем 1% наносится на пораженный участок два раза в день. Признаки улучшения обычно появляются в течение первого месяца терапии. Лечение обычно хорошо переносится.

3. Местный эритромицин. Обычно назначается 2% гель дважды в день. Улучшение заметно в течение первых четырех-восьми недель. Эффективность местного эритромицина при ПоД подтвержде-

на 80-дневным рандомизированным исследованием Weber K. и соавт. и документально обоснованным клиническим опытом («A topical erythromycin preparation and oral tetracycline for the treatment of perioral dermatitis: a placebo controlled trial, 1993; «How I treat perioral dermatitis: non-compliance with the treatment guidelines», 2003).

4. Местный метронидазол. В проспективном двойном слепом многоцентровом исследовании Veien N.K. и др. «Topical metronidazole in the treatment of perioral dermatitis» 108 пациентов лечили пероральными тетрациклинами или 1% метронидазолом местно два раза в день. Метронидазол привел к уменьшению количества папул на 92%, но тетрациклины показали лучший результат в 100%. При терапии метронидазолом можно применять лосьон, гель или крем (0,75% или 1%) один раз в сутки длительностью не менее восьми недель. В течение этого периода часто отмечается улучшение, но для полного излечения могут потребоваться более длительные курсы (3-6 месяцев). Также имеются данные о местном применении метронидазола, подтверждающие его эффективность и безопасность у детей [9].

5. Другие топические средства. Дополнительные местные методы лечения включают 20% крем с азелаиновой кислотой, местный клиндамицин с 1% лосьоном с гидрокортизоном или без него, местный тетрациклин, адапален 0,1 % геля.

При отсутствии эффекта терапии местным пимекролимусом, эритромицином или метронидазолом в течение 8 недель рекомендуется перейти к системной терапии ПоД.

6. Пероральные тетрациклины (например, тетрациклин, доксициклин, миноциклин) являются наиболее популярными и предпочтительными препаратами, используемыми для системного лечения ПоД. Пероральный эритромицин является альтернативой для пациентов детского возраста или с непереносимостью антибиотиков тетрациклинового ряда.

Альтернативная терапия – лечение макролидами, аналогичное таковому у детей раннего возраста, подходит для подростков и взрослых. Начальные дозы для взрослых – 333 мг три раза в день или 500 мг два раза в день. Обычно детям старше четырех лет назначают дозу 40 мг/кг в сутки, разделенную на три приема, до максимальной дозы 1000 мг в день. Длительность лечения пероральными антибиотиками обычно продолжается в течение восьми недель.

7. Системный изотретиноин. Применение изотретиноина является весьма перспективным

направлением в практике терапии розацеаподобных дерматозов. Эффективность перорального изотретиноина при рефрактерном гранулематозном периорифициальном дерматите была описана Rodriguez-Garjjo N. и соавторами [10].

В настоящее время очень мало сообщений о применении перорального изотретиноина при ПоД. Назначаемая доза варьируется от 0,7 мг / кг / день до 0,2 мг / кг в начале с последующим снижением до 0,1 или 0,05 мг / кг [11]. Некоторые авторы сомневаются, действительно ли пероральный изотретиноин эффективен при гранулематозном ПоД, утверждая, что спонтанное выздоровление через несколько месяцев обычное явление при данном заболевании (Smith K.W., 1990), однако, пероральный прием низких доз изотретиноина был связан с резким улучшением ПоД в течение нескольких недель во всех изложенных кейсах.

8. Ивермектин. В последнее время появилось достаточное количество публикаций об успешном применении местного, а также системного ивермектина для лечения больных ПоД [12-15], однако ни в одном рандомизированном исследовании не оценивали использование местного или перорального ивермектина.

Было показано, что крем с ивермектином обладает низким потенциалом раздражения кожи. Этот простой подход может привести к лучшему соблюдению пациентом режима лечения, повышению качества жизни и удовлетворенности терапией и, таким образом, способствовать ее эффективности; рекомендуемая схема применения – 1 раз в сутки не менее 3 месяцев [12, 14].

Необходимы дальнейшие проспективные клинические испытания, чтобы подтвердить использование крема с ивермектином при ПоД.

Клинический случай.

Пациентка К., 51 год, поступила на прием к дерматовенерологу в КДЦ СЗГМУ им. И.И. Мечникова с жалобами на поражение кожи лица, зуд и жжение в области очагов. Считала себя больной в течение 1,5 лет. Изначально (со слов пациентки) процесс локализовался на коже подбородка. Длительно использовала топические ГКС мази, на фоне применения которых отмечала разрешение воспаления, однако при отмене процесс возвращался, принимая более распространенный характер. В дальнейшем пациентка получала в течение 6 месяцев внутримышечные инъекции бетаметазона дипропионата и бетаметазона динатрия фосфата (препарат Дипроспан), 2,0 мл ежемесячно. Несколько раз пыталась отменить инъекции, но вновь получала обострение сыпи. На фоне приема препарата обратилась в КДЦ для коррекции терапии.

При осмотре пациента на первичном приеме кожный процесс носил распространенный характер. На коже лица и шеи на фоне выраженной ярко-красной сливающейся эритемы отмечались многочисленные папулы ярко-розового цвета, единичные пустулы, а также небольшое шелушение (Рис. 1 а,б). Кожа волосистой части головы, туловища и конечностей, а также видимые слизистые были свободны от высыпаний.



Рис. 1 а,б. Фото пациента до начала терапии ивермектином.

На основании жалоб, анамнеза, характерной клинической картины пациентке был поставлен диагноз «периоральный дерматит» и принято решение о назначении крема ивермектина 1% off-label. В течение последующих 8 месяцев больная проходила амбулаторное лечение с местным применением препарата 1 раз в сутки в течение 4 месяцев, затем – 3 раза в неделю еще 4 месяца. Терапию переносила удовлетворительно. Назначение ивермектина позволило добиться выраженного регресса высыпаний (Рис.2, 3).



Рис. 2. Фото пациента спустя 4 месяца лечения.



Рис. 3. Клинические проявления после 7 месяцев терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Периоральный дерматит – это весьма распространенный воспалительный дерматоз лица, который еще недостаточно хорошо изучен. Есть достоверные накопленные данные, указывающие на тесную взаимосвязь ПоД и длительного применения топических глюкокортикостероидов, косметических средств и других раздражающих внешних факторов (пломбы, фторированная зубная паста, SPF-фактор и т.д.).

Главным звеном в патогенезе заболевания считается длительное раздражение и повреждение кожи, которое влечет за собой нарушение эпидермального кожного барьера, увеличение потери влаги, а также снижение местного иммунитета кожи вследствие длительного использования тГКС, за счет чего впоследствии присоединяется патогенная биота, стимулируя воспалительный ответ дермы.

Основными подходами к лечению на сегодняшний день является нулевая терапия, назначение местного метронидазола, эритромицина, пимекролимуса, 20% азелаиновой кислоты, системная терапия антибиотиками тетрациклинового ряда, макролидами, а также системными ретиноидами при особо тяжелых формах ПоД.

Применение ивермектина позволяет достигнуть хороших результатов лечения пациентов с периоральным дерматитом и может стать одним из эффективных подходов к его терапии, однако для этого требуются более крупные клинические исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hameed A.F.* Steroid dermatitis resembling rosacea: a clinical evaluation of 75 patients. *ISRN Dermatology*. 2013. doi.org/10.1155/2013/491376
2. *Clementson B., Smidt A.C.* Periorificial dermatitis due to systemic corticosteroids in children: report of two cases. *Pediatr. Dermatol.* 2012; 29: 331. doi.org/10.1111/j.1525-1470.2011.01651.x
3. *Peralta L., Morais P.* Perioral dermatitis - the role of nasal steroids. *Cutan. Ocul. Toxicol.* 2012; 31:160. doi.org/10.3109/15569527.2011.621918
4. *Novozhilova O.L.* Steroid rosacea caused by inhaled glucocorticosteroid agents. *Moscow Scientific and Practical Center of Dermatovenereology and Cosmetology*. 2015. doi: 10.17116/klinderma201514666-68
5. *Adaskevich U.P., Miadzelets M.O.* The possible role of fusiform bacteria in the etiopathogenesis of perioral dermatitis. *Vestnik VGMU*. 2019; 18 (3): 75-80. doi.org/10.22263/2312-4156.2019.3.75
6. *Резниченко Н.Ю., Головкин А.В.* Периоральный дерматит. Особенности диагностики и лечения. *Журнал дерматовенерологии и косметологии им. М.О.Торсуева*. 2017; 1 (37). [Reznichenko N.Yu., Golovkin A.V. Perioral dermatitis. Features of diagnosis and treatment. *Journal of Dermatovenereology and Cosmetology named after M.O.Torsueva*. 2017; 1 (37). (In Russ.)].
7. *Mokos Z.B., Kummer A., Mosler E.L., et al.* Perioral dermatitis: still a therapeutic challenge. *Acta Clin. Croat.* 2015; 54: 179-185. PMID: 26415314
8. *Wollenberg A., Bieber T., Dirschka T., et al.* Perioral dermatitis. *JDDG*. 2010; 9 (5): 422-427. doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07329.x
9. *Zip C.M.* Innovative use of topical metronidazole. *Dermatol. Clin.* 2010; 28: 525. doi.org/10.1016/j.det.2010.03.015
10. *Rodriguez-Garijo N., Querol-Cisneros E., Tomas-Velazquez A., et al.* Recalcitrant granulomatous periorificial dermatitis with good response to low-dose oral isotretinoin. *Pediatr. Dermatol.* 2019; 36: 980. doi.org/10.1111/pde.13969
11. *Tempark T., Shwayder T.A.* Perioral dermatitis: a review of the condition with special attention to treatment options. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2014; 15: 101-113. doi.org/10.1007/s40257-014-0067-7
12. *Noguera-Morel L., Gerlero P., Torrelo A., Hernández-Martín Á.* Ivermectin therapy for papulopustular rosacea and periorificial dermatitis in children: a series of 15 cases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017; 76: 567. doi.org/10.1016/j.jaad.2016.10.034
13. *Zargari O., Aghazadeh N., Moeineddin F.* Clinical applications of topical ivermectin in dermatology. *Dermatol. Online J.* 2016; 22 (9). doi.org/10.5070/d3229032496
14. *Charnowski S., Wollenberg A., Reinholz M.* perioral dermatitis successfully treated with topical ivermectin. *Ann. Dermatol.* 2019; 31 (Suppl): S27-S28. doi.org/10.5021/ad.2019.31.S.S27
15. *Kircik L.H., Del Rosso J.Q., Layton A.M., Schaubert J.* Over 25 years of clinical experience with ivermectin: an overview of safety for an increasing number of indications. *J. Drugs Dermatol.* 2016; 15 (3): 325-32. PMID: 26954318

Поступила в редакцию журнала 05.10.2022

Рецензент: Т.В. Медведева



ПОРАЖЕНИЕ КОЖИ ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ SARS-COV-2, ОСОБЕННОСТИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)*, ²Леина Л.М. (доцент), ^{3,4}Петунова Я.Г. (зав. отделом, доцент), ²Милявская И.Р. (доцент)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»; ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; ³Городской кожно-венерологический диспансер; ⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Коронавирусная инфекция нередко протекает с поражением кожи. Мы предлагаем изменения кожи, имеющие отношение к инфекции, вызванной SARS-CoV-19, разделить на следующие 5 групп: 1 группа – заболевания кожи, обусловленные использованием профилактических средств против коронавирусной инфекции (контактные аллергические дерматиты, явившиеся результатом ношения перчаток, масок, применения антисептиков); 2 группа (основная) – изменения кожи, связанные непосредственно с воздействием вируса или иммунными «поломками», вызванными им (ангииты и т.п.); 3 группа – постковидные поражения кожи и придатков (постковидное выпадение волос, изменения ногтевых пластинок, например, онихомадез и т.п.); 4 группа – дерматологические побочные эффекты, появившиеся вследствие вакцинации; 5 группа – кожные изменения, обусловленные дефектами ухода за пациентами (пролежни). Наиболее часто в связи с инфекцией SARS-CoV-2 появлялись сообщения о везикулярных, уртикарных и макуло-папулезных высыпаниях, ливедо, некрозе и других формах васкулита. Среди разнообразных дерматологических проявлений новой коронавирусной инфекции особое место занимает состояние, напоминающее острый параспориоз Мухи-Габермана (острый вариолиформный параспориоз). В статье приводим собственные наблюдения.

Ключевые слова: поражения кожи, SARS-CoV-19, классификация

* Контактное лицо: Медведева Татьяна Владимировна, e-mail: medvedeva43@mail.ru

SKIN DAMAGE IN INFECTION CAUSED BY SARS-COV-2, FEATURES IN CHILDREN AND ADULTS

¹Medvedeva T.V. (dermatovenereologist), ²Leina L.M. (associate professor), ^{3,4}Petunova Ya.G. (head of the org-method. department, associate professor), ²Milyavskaya I.R. (associate professor)

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²St.Petersburg State Pediatric Medical University, ³City Skin-Venereological Dispensary; ⁴St.Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Coronavirus infection often occurs with skin lesions. We propose to divide skin changes related to infection caused by SARS-CoV-19 into the following 5 groups: group 1 – skin diseases caused by the use of prophylactic agents against coronavirus infection (contact allergic dermatitis resulting from wearing gloves, masks, the use of antiseptics); group 2 (main) – skin changes directly related to the effects of the virus or immune "breakdowns" caused by it (angitis, etc.); group 3 – postcovid lesions of the skin and appendages (postcovid hair loss, changes in nail plates, for example, onychomadesis, etc.); group 4 – dermatological side effects resulting from vaccination; group 5 – skin changes caused by defects in patient care (bedsores). Most often, in connection with SARS-CoV-2 infection, there were reports of vesicular, urticular and maculopapular rashes, livedo, necrosis and other forms of vasculitis. Among the various dermatological manifestations of the new coronavirus infection, a special place is occupied by a condition resembling acute parapsoriasis of the Muhi-Gaberman (acute varioliform parapsoriasis). In the article we present our own observations.

Key words: skin damage, SARS-CoV-19, classification

Дерматологические проявления заболеваний вирусной этиологии нередко вызывают диагностические сложности. Инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, не составила исключения. Первое описание изменений кожи, связанное с этим патогеном, было сделано Recalcati S., сообщившим о наличии кожных высыпаний у 18 человек (20,4%) из 148 наблюдаемых пациентов с COVID-19 [1]. Данные о частоте встречаемости дерматологических проявлений у лиц с коронавирусной инфекцией значительно разнятся. Так, в публикации из Китая (Guan W с соавт.) отмечен очень низкий уровень подобных проявлений у пациентов с COVID-19 –

всего 0,2% [2]. Дерматологические поражения развиваются в среднем через 9,2 дня и приблизительно у 14,74% больных являются первыми симптомами данной инфекции [3]. Часть кожных проявлений, зарегистрированных при коронавирусной инфекции, могут встречаться и при других вирусных поражениях: высыпания, напоминающие многоформную экссудативную эритему, уртикарная, везикулезная, макуло-папулезная и папуло-сквамозная сыпи [4]. По данным Gisoni P. и коллег, проведшим анализ публикаций, основанных на изучении 895 историй болезни, к наиболее частым поражениям кожи, связанным с коронавирусом, относятся экзантема (48%), сосудистые и уртикарные изменения кожи (33% и 12% соответственно) [5, 6]. В настоящее время получены определенные доказательства средства ряда структур кератиноцитов с вирусом SARS-CoV-2, что объясняет высокую частоту дерматологической симптоматики при данной инфекции. Ангиотензин-превращающий фермент 2 (ACE2) является чрезвычайно важным функциональным рецептором SARS-CoV-2, обеспечивающим проникновение вируса в клетки-мишени (в том числе и в клетки кожи). На сегодняшний день обнаружена высокая экспрессия ACE2 в кератиноцитах [7, 8]. Таким образом, кератиноциты являются потенциально уязвимыми для поражения коронавирусом.

Дерматологические проявления, связанные с SARS-CoV-2-инфекцией, чрезвычайно полиморфны по своим проявлениям, что требует их определенной классификации.

Первой российской классификацией поражений кожи, вызванных новой коронавирусной инфекцией, стала классификация, представленная Потекаевым Н.Н. и др. в 2020 г. Авторы предложили разделить изменения кожи на 7 групп: 1 группа – ангииты кожи (в том числе «псевдообморожения»), 2 группа – кореподобные сыпи и инфекционные эритемы, 3 группа – папуло-сквамозные сыпи и «псевдорозовый» лишай, 4 группа – папуло-везикулезные сыпи, 5 группа – токсикодермии (в ответ на прием различных препаратов), 6 группа – крапивница (в зависимости от происхождения может носить двоякий характер), 7 группа – артифициальные поражения (пролежни, при COVID-19 частая локализация – лицо) [9]. Со времени создания Потекаевым Н.Н. с коллегами упомянутой выше классификации произошли определенные изменения в структуре дерматологических проявлений, связанные, во-первых, с широким применением вакцинации (на сегодняшний день это коснулось только взрослой популяции); во-вторых, накопились данные в отношении постковидных изменений кожи и ее придатков. Мы предлагаем изменения кожи, имеющие отношение к инфекции, вызванной SARS-CoV-19, разделить на следующие 5 групп: 1 группа – заболевания кожи, обусловленные использованием профилактических

средств против коронавирусной инфекции (контактные аллергические дерматиты, явившиеся результатом ношения перчаток, масок, применения антисептиков); 2 группа (основная) – изменения кожи, связанные непосредственно с воздействием вируса или иммунными «поломками», вызванными им (ангииты и т.п.); 3 группа – постковидные поражения кожи и придатков (постковидное выпадение волос, изменения ногтевых пластинок, например, онихомадез и т.п.); 4 группа – дерматологические побочные эффекты, появившиеся вследствие вакцинации; 5 группа – кожные изменения, обусловленные дефектами ухода за пациентами (пролежни). Наиболее распространенными дерматологическими проблемами, отнесенными нами к 1 группе (использование профилактических средств), являются контактные дерматиты, связанные с ношением перчаток (Рис. 1) и применением антисептических средств (Рис. 2).



Рис. 1. Контактный дерматит, вызванный ношением медицинских перчаток (собственное наблюдение).



Рис. 2. Контактный дерматит, связанный с применением антисептических средств (собственное наблюдение).

Развитие контактных аллергических дерматитов вследствие ношения маски относится к числу казуистических случаев (Рис. 3), и в данной ситуации оно было обусловлено наличием контактной аллергии на сплавы металлов, которые применяют для более плотной фиксации маски в области переносицы.



Рис. 3. Контактный аллергический дерматит, обусловленный ношением защитной маски (собственное наблюдение).

Также имеет место усиление кожного зуда, связанное с длительным ношением масок. Так, при анкетировании 2307 человек, использовавших защитную маску, 19,6% из них наблюдали появление кожного зуда [10]. Авторы данного исследования в качестве факторов риска при формировании кожного зуда указали на наличие хронического дерматоза (атопического дерматита, акне, себорейного дерматита). Определенная корреляция отмечалась с длительностью применения защитного средства.

Наибольшим разнообразием по морфологическим проявлениям отличается 2 группа (основная), характеризующаяся изменениями кожи, связанными непосредственно с воздействием вируса или иммунными нарушениями, им вызванными. По данным Galvan Casas С. и др., высыпания везикулярного характера появлялись прежде других симптомов, отмечались у 9% наблюдавшихся лиц и нередко (в 68% случаев) сопровождалась зудом [11]. При инфекции, обусловленной SARS-CoV-2, описан вариант везикулярных высыпаний, напоминающий клинику ветряной оспы [12]. С точки зрения Elsaie M.L. и коллег, клинические проявления Herpes Zoster (в основе своей имеющие такие морфологические элементы, как везикулы) могут являться индикаторами латентной инфекции, связанной с COVID-19 [13].

Во 2-ю (основную группу) входят заболевания, характеризующиеся наличием пятнисто-папулезных высыпаний, которые встречаются в 47% случаев [11]. Среди данной группы обращает на себя внима-

ние «псевдорозовый» лишай Жибера, чрезвычайно напоминающий оригинальное заболевание. Характерным отличием данной сыпи при COVID-19 является отсутствие так называемой «материнской бляшки» (Рис. 4).



Рис. 4. Случай «псевдорозового» лишая Жибера у пациентки с новой коронавирусной инфекцией (собственное наблюдение).

Также в эту группу входит состояние, напоминающее многоформную экссудативную эритему, локализирующуюся преимущественно на тыле кистей, в ряде случаев имеющих вид «мишеневидных» очагов. Равным образом, в основную группу отнесена крапивница [14]. Особенностью крапивницы при COVID-19 является локализация волдырей на ладонях, которая регистрируется приблизительно в 19% случаев [11].

До начала 2021 г. наблюдались изменения кожи, которые были обусловлены исключительно инфекцией SARS-CoV-19. После введения в клиническую практику вакцинации стали отмечаться разнообразные дерматологические проявления, связанные с введением различных вакцин. Дерматологические побочные эффекты, развивающиеся после вакцинации, составляют отдельную группу (4-ую, согласно предложенной нами классификации).

Одним из «ранних» проявлений после вакцинации стал аллергический дерматит в месте введения препарата (Рис. 5).



Рис. 5. Аллергический дерматит («COVID arm»), развившийся после вакцинации (собственное наблюдение).

Для обозначения этого состояния в англоязычной литературе пользуются термином «COVID arm» [15]. В публикации Johnston M.S. с соавт. проанализированы 16 случаев развития «COVID arm» после введения вакцины «Moderna». Данная кожная реакция развивалась в среднем через 7 дней после введения первой дозы и через 2 дня – после второй. У большинства наблюдаемых лиц реакция возникла как ответ и на первую, и на вторую дозу вакцины и была расценена как гиперчувствительность замедленного типа в отличие от анафилаксии и крапивницы (гиперчувствительность немедленного типа). Данный вариант («COVID arm») не является противопоказанием для вакцинации в дальнейшем [16].

Также некоторые авторы указывают на развитие случаев генерализованной крапивницы, кореподобной сыпи, обострение опоясывающего лишая, тромбоцитопенической пурпуры после введения вакцин мРНК-типа (преимущественно «Moderna» и «Pfizer») [17]. Имеются описания вновь возникших дерматологических заболеваний, например витилиго [18]. Условно реакции, развивающиеся после введения вакцин, можно разделить на местные («COVID arm») и общие. В публикации, где проанализировано 414 случаев кожных реакций после использования м-РНК вакцин в отношении COVID-19 от «Moderna» (83%) и «Pfizer» (17%), отмечено, что нередко дерматологические проявления после введения данных вакцин в какой-то степени имитируют кожные осложнения, сопровождающие новую коронавирусную инфекцию, в особенности псевдообмо-

рожения [19].

Варианты клинического течения COVID-19 у детей отличаются от таковых у взрослых. Традиционно считается, что в педиатрической практике доминирует более легкое течение данной инфекции. По данным de Sousa T.N. с коллегами, у 14,2% детей наблюдается отсутствие симптомов (бессимптомная форма), у 36,3% – легкое течение, у 46,0% – средняя степень тяжести, у 2,1% – тяжелый вариант, у 1,2% – критическое течение. Наиболее распространенными симптомами у детей являются: лихорадка (47,5%), кашель (41,5%), назальные симптомы, такие как насморк и чувство заложенности носа, без anosмии (11,2%), диарея (8,1%), тошнота или рвота (7,1%), усталость (5%), респираторный дистресс (3,5%) [20].

К числу наиболее часто встречающихся кожных проявлений COVID-19 у детей относят так называемые «ознобления» («псевдообморожения») [21-23]. Это поражения кожи из группы так называемых акральных расстройств. Помимо «псевдообморожений» (или озноблений, или «ковидных пальцев»), в данную группу входят ливедо и некротические изменения (последние свойственны более тяжелому течению инфекции). Так называемые «ковидные пальцы» (или «псевдообморожения») клинически напоминали истинные обморожения, хотя развивались вне основного причинного фактора. Преимущественная локализация данного процесса – стопы (приблизительно в 74-100% случаев), но имеются описания расположения на кистях. Нередко в патологический процесс вовлекаются околоногтевые и подногтевые области. Считается, что ознобления чаще встречаются у более молодых пациентов с более легким течением. Приблизительно у трети больных наблюдаются боль и зуд, продолжительность существования – около 12-14 дней. Согласно так называемому «испанскому консенсусу» данные проявления были зарегистрированы у 19% из 375 пациентов с дерматологическими проявлениями COVID-19 [11].

Нередко у детей отмечаются высыпания на ладонях (Рис. 6) [24].



Рис. 6. Эритема на ладонях.

Возможны высыпания геморрагического характера (Рис. 7).



Рис. 7. Линейные геморрагические высыпания на коже у девочки на фоне COVID-19.

Среди разнообразных дерматологических проявлений новой коронавирусной инфекции особое место занимает состояние, напоминающее острый параспориаз Мухи-Габермана (острый вариолиформный параспориаз). Высыпания при данном синдроме носят преимущественно распространенный характер и представлены папулезными элементами. В сообщении Gianotti R. с соавторами упоминается о 10 наблюдениях у детей (8 мальчиков и 2 девочки), средний возраст которых составил 10,2 года, с развитием клиники острого параспориаса Мухи-Габермана. Лабораторное подтверждение COVID-19 было получено у 4 пациентов из 10. У большинства (6 человек из 10) имелись общие проявления, свойственные COVID-19 [25].

Наш собственный опыт насчитывает 2 случая поражения кожи, соответствующего острому вариолиформному параспориазу.

Под нашим наблюдением находилось двое детей: девочка 14 лет и мальчик 16 лет с кожными проявлениями COVID-19. Заболевание было подтверждено положительными тестами полимеразной цепной реакции (ПЦР). Высыпания появились через 2-3 недели после респираторных симптомов. Сыпь носила распространенный характер, располагаясь практически по всему телу. Вначале появились мелкие папулы диаметром 4-5 мм, на поверхности кото-

рых вскоре образовались геморрагические корочки, а местами – некротические струпы (Рис. 8).



Рис. 8. Мелкие папулы с геморрагическим пропитыванием под корочками, напоминающие острый параспориаз Мухи-Габермана.

Элементы частично увеличивались в размерах. После отпадения плотных геморрагических корок обнаруживались язвенные дефекты. В патологический процесс была вовлечена и кожа наружных половых органов, и красная кайма губ. Клинически высыпания расценивали как васкулит мелких и средних сосудов, внешне напоминающий острую форму параспориаса Мухи-Габермана. В обоих случаях, несмотря на проводимое лечение, включающее антибиотики, антикоагулянты, системные кортикостероидные препараты, инфузионную и наружную терапию, поражение кожи характеризовалось упорным течением с выраженным нарушением самочувствия.

Особенностью дерматологических проявлений COVID-19 у детей является развитие мультисистемного воспалительного синдрома, сходного по своим проявлениям с болезнью Кавасаки [26-28]. Первыми описали случай нового воспалительного синдрома, связанного с вирусом SARS-CoV-2 у шестимесячного ребенка, Jones V.G., Millis M. с соавт. Проявлениями данного состояния были лихорадка, стойкая сыпь на кистях и стопах, конъюнктивит [28]. Развитие данного синдрома представляет собой гипертрофическую реакцию на инфекцию, вызванную SARS-CoV-2, которая приводит к полиорганной дисфункции. Случаи его развития были зарегистрированы у детей в возрасте от 1 месяца до 20 лет.

Мультисистемный воспалительный синдром рассматривают как результат цитокинового шторма вследствие новой коронавирусной инфекции. Дерматологическая симптоматика в рамках данного состояния имеет место у 50-83% детей, причем ее проявления носят чрезвычайно разнообразный характер: уртикарные, скарлатиноподобные, эритематозные, пятнисто-папулезные, ливеноидные высыпания и т.д. [29, 30]. Развитие данного синдрома может быть фатальным, по предварительным данным, смертность достигает около 2% [31].

При новой коронавирусной инфекции также наблюдают изменения придатков кожи (ногти, волосы) (группа 3 в нашей классификации). Среди изменений ногтевых пластинок описаны как абсолютно неспецифические – истончение, повышенная ломкость, продольная исчерченность, так и характерные для ряда других инфекционных поражений – появление поперечных лейконихий (линии Ми), линий Бо-Рейля, развитие онихомадеза (отделение ногтевой пластины от ее основания) [32]. Также показано особое изменение ногтевой пластинки при вызванной COVID-19 инфекции – симптом «красного полумесяца». Отечественные авторы отметили также изменение ногтевых пластинок по типу подногтевых полосовидных геморрагий («геморрагические занозы», или симптом Ариевича) [33]. Среди изменений волосистой части головы преобладают такие расстройства, как триходиния, выпадение волос по андрогенетическому типу, телогеновое выпадение. Под триходинией понимают болезненность кожи волосистой части головы в отсутствие клинических проявлений дерматозов. Частота встречаемости триходинии при обследовании 31 пациента составила около 40% (38,7%), преобладали женщины (91,7%). Особенно-

стью данной группы явилось наличие субклинически выраженной тревоги/депрессии при оценке по специальной шкале [34].

С точки зрения Lopez-Leon S. и коллег, новая коронавирусная инфекция вызывает более 50 отдаленных эффектов, среди которых имеются и дерматологические. По данным ряда исследований, около 66-87% пациентов «сохраняют» один и более симптомов COVID-19 в течение 60 дней после получения позитивного ПЦР-теста [35-38]. Изменения кожи могут регистрироваться как в острый период заболевания, так и в рамках так называемого «long-COVID» [38]. Этот феномен наблюдается в отношении и дерматологических проявлений коронавирусной инфекции [39]. Так, в частности, такое состояние, как «ознобление» или «псевдообморожение» в ряде случаев может сохраняться более 60 дней: в публикации Mc Mahou D.E. и соавт. у 7 из 103 пациентов имело место длительное течение данного состояния. Эти же авторы отметили значительно более быстрое купирование таких дерматологических проявлений COVID-19, как уртикарная и кореподобная сыпь в отличие от «псевдообморожений» и папуло-сквамозных высыпаний [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дерматологические симптомы не являются наиболее значимыми по своим последствиям, но знание клинических проявлений данной инфекции как в остром, так и в отдаленном периоде ее течения в ряде ситуаций облегчает постановку правильного диагноза и углубляет наши представления о патологических механизмах развития данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Recalcati S.* Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2020; 34 (5): e212-e213. doi: 10.1111/jdv.16387
2. *Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382 (18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
3. *Zhao Q., Fang X., Pang Z., et al.* COVID-19 and cutaneous manifestations: a systematic review. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2020; 34 (11): 2505-2510. doi: 10.1111/jdv.16778
4. *Genovese G., Moltrasio C., Berti E., Marzano A.V.* Skin manifestations associated with COVID-19: current knowledge and future perspectives. *dermatology.* 2021; 237 (1): 1-12. doi: 10.1159/000512932
5. *Gisondi P., Di Leo S., Bellinato F., et al.* Time of onset of selected skin lesions associated with COVID-19: a systematic review. *Dermatol. Ther. (Heidelb).* 2021; 11 (3):695-705. doi: 10.1007/s13555-021-00526-8
6. *Li H., Zhao Y, Zhou L.* Cutaneous manifestations in children with SARS-CoV-2 infection and/or COVID-19: what do we know after 10 months under this pandemic? *Int. J. Dermatol.* 2022; 61 (1): 39-45. doi: 10.1111/ijd.15882
7. *Zhu R., Shi Y., Tan Y., Xiao R.* ACE2 expression on the keratinocytes and SARS-CoV-2 percutaneous transmission: are they related? *J. Invest. Dermatol.* 2021; 141 (1): 197-198. doi: 10.1016/j.jid.2020.09.019
8. *Xue X., Mi Z., Wang Z., et al.* High expression of ACE2 on keratinocytes reveals skin as a potential target for SARS-CoV-2. *J. Invest. Dermatol.* 2021; 141 (1): 206-209.e1. doi: 10.1016/j.jid.2020.05.087

9. Potekaev N.N., Zhukova O.V., Protsenko D.N., et al. Clinical characteristics of dermatologic manifestations of COVID-19 infection: case series of 15 patients, review of literature, and proposed etiological classification. *Int. J. Dermatol.* 2020; 59 (8): 1000-1009. doi: 10.1111/ijd.15030
10. Szepietowski J.C., Matusiak L., Szepietowska M., et al. Face mask-induced itch: a self-questionnaire study of 2,315 responders during the COVID-19 pandemic. *Acta Derm. Venereol.* 2020; 100 (10): adv00152. doi: 10.2340/00015555-3536
11. Galván Casas C., Català A., Carretero Hernández G., et al. Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases. *Br. J. Dermatol.* 2020; 183 (1): 71-77. doi: 10.1111/bjd.19163
12. Marzano A.V., Genovese G., Fabbrocini G., et al. Varicella-like exanthem as a specific COVID-19-associated skin manifestation: Multicenter case series of 22 patients. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2020; 83 (1): 280-285. doi: 10.1016/j.jaad.2020.04.044
13. Elsaie M.L., Youssef E.A., Nada H.A. Herpes zoster might be an indicator for latent COVID 19 infection. *Dermatol. Ther.* 2020; 33 (4): e13666. doi: 10.1111/dth.13666
14. Algaadi S.A. Urticaria and COVID-19: a review. *Dermatol. Ther.* 2020; 33 (6): e14290. doi: 10.1111/dth.14290
15. Wei N., Fishman M., Wattenberg D., et al. "COVID arm": A reaction to the Moderna vaccine. *JAAD Case Rep.* 2021; 10: 92-95. doi: 10.1016/j.jdcr.2021.02.014
16. Johnston M.S., Galan A., Watsky K.L., Little A.J. Delayed localized hypersensitivity reactions to the moderna COVID-19 vaccine: a case series. *JAMA Dermatol.* 2021; 157 (6):716-720. doi: 10.1001/jamadermatol.2021.121
17. Rodríguez-Jiménez P., Chicharro P., Cabrera L.M., et al. Varicella-zoster virus reactivation after SARS-CoV-2 BNT162b2 mRNA vaccination: report of 5 cases. *JAAD Case Rep.* 2021; 12: 58-59. doi: 10.1016/j.jdcr.2021.04.014
18. Kaminetsky J., Rudikoff D. New-onset vitiligo following mRNA-1273 (Moderna) COVID-19 vaccination. *Clin. Case Rep.* 2021; 9 (9): e04865. doi: 10.1002/ccr3.4865
19. McMahan D.E., Amerson E., Rosenbach M., et al. Cutaneous reactions reported after Moderna and Pfizer COVID-19 vaccination: A registry-based study of 414 cases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2021; 85 (1): 46-55. doi: 10.1016/j.jaad.2021.03.092
20. de Souza T.H., Nadal J.A., Nogueira R.J.N., et al. Clinical manifestations of children with COVID-19: A systematic review. *Pediatr. Pulmonol.* 2020; 55 (8): 1892-1899. doi: 10.1002/ppul.24885
21. Andina D., Noguera-Morel L., Bascuas-Arribas M., et al. Chilblains in children in the setting of COVID-19 pandemic. *Pediatr. Dermatol.* 2020; 37 (3): 406-411. doi: 10.1111/pde.14215
22. Andina D., Belloni-Fortina A., Bodemer C., et al. Skin manifestations of COVID-19 in children: Part 1. *Clin. Exp. Dermatol.* 2021; 46 (3): 444-450. doi: 10.1111/ced.14481
23. Panda M., Agarwal A., Hassanandani T. Dermatological manifestations of COVID-19 in children. *Indian Pediatr.* 2022 15; 59(5): 393-399. doi: 10.1007/s13312-022-2521-6
24. Neale H., Hawryluk E.B. COVID-19 pediatric dermatology. *Dermatol. Clin.* 2021; 39 (4): 505-519. doi: 10.1016/j.det.2021.05.012
25. Gianotti R., Restano L., Cutrone M., et al. Papulo-purpuric dermatitis of childhood: a distinct PLEVA-like eruption associated to SARS-CoV-2 infection. Clinical, histopathological and immunohistochemical study of 10 cases. *Pediatr. Dermatol.* 2021; 38 (5): 1185-1190. doi: 10.1111/pde.14777
26. Dufort E.M., Koumans E.H., Chow E.J., et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York state. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383: 347-58. doi: 10.1056/NEJMoa2021756
27. Blatz A.M., Oboite M., Chiotos K., et al. Cutaneous findings in SARS-CoV-2-associated multisystem inflammatory disease in children. *Open Forum Infect Dis.* 2021; 8: 8. 26. doi.org/10.1093/ofid/ofab074
28. Jones V.G., Mills M., Suarez D., et al. COVID-19 and Kawasaki disease: novel virus and novel case. *Hosp. Pediatr.* 2020; 10 (6): 537-540. doi: 10.1542/hpeds.2020-0123
29. Kabeerdoss J., Pilania R.K., Karkhele R., et al. Severe COVID-19, multisystem inflammatory syndrome in children, and Kawasaki disease: immunological mechanisms, clinical manifestations and management. *Rheumatol Int.* 2021; 41 (1): 19-32. doi: 10.1007/s00296-020-04749-4
30. Yozgat C.Y., Uzuner S., Bursal Duramaz B., et al. Dermatological manifestation of pediatrics multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19 in a 3-year-old girl. *Dermatol. Ther.* 2020; 33: 33. doi: 10.1111/dth.13770
31. Colonna C., Restano L., Monzani N.A., et al. Rare and common manifestations of COVID-19 in children.

JEADV Clin. Pract. 2022; 1: 21-30. <https://doi.org/10.1002/jvc2.10>

32. Гребенников В.А., Швец В.М., Гребенникова С.В. Отдаленные результаты лечения коронавирусной инфекции с оценкой состояния волос, кожи, ногтей. Тезисы 15 Международного форума дерматовенерологов и косметологов «Синтез науки и практики»; 2022: 54. [Grebennikov V.A., Shvets V.M., Grebennikova S.V. Long-term results of treatment of coronavirus infection with assessment of the condition of hair, skin, nails. Abstracts of the 15th International Forum of Dermatovenerologists and Cosmetologists "Synthesis of science and practice"; 2022: 54. (In Russ.)].

33. Филимонкова Н.Н., Байтяков В.В., Темирбулатова А.Р. Дерматологические аспекты новой коронавирусной инфекции. Современные проблемы науки и образования. 2021. №3. [Filimonkova N.N., Baytyakov V.V., Temirbulatova A.R. Dermatological aspects of a new coronavirus infection. Modern problems of science and education. 2021. №3. (In Russ.)]. doi: 10.17513/spno.30866

34. Леденцова С.С., Лисовский О.В., Парфенова М.А. Частота встречаемости триходинии у пациентов с постковидным выпадением волос. Тезисы 15 Международного форума дерматовенерологов и косметологов «Синтез науки и практики»; 2022: 54-55. [Ledentsova S.S., Lisovsky O.V., Parfenova M.A. Frequency of occurrence of trichodynia in patients with waxy hair loss. Abstracts of the 15th International Forum of Dermatovenerologists and Cosmetologists "Synthesis of Science and practice"; 2022: 54-55. (In Russ.)].

35. Lopez-Leon S., Wegman-Ostrosky T., Perelman C., et al. More than 50 long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2021; 11 (1):16144. doi: 10.1038/s41598-021-95565-8

36. Han E., Tan M.M.J., Turk E., et al. Lessons learnt from easing COVID-19 restrictions: an analysis of countries and regions in Asia Pacific and Europe. Lancet. 2020; 396 (10261): 1525-1534. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32007-9

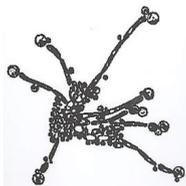
37. Carfi A., Bernabei R., Landi F., et al. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. JAMA. 2020; 324 (6): 603-605. doi: 10.1001/jama.2020.12603

38. Carvalho-Schneider C., Laurent E., Lemaigen A., et al. Follow-up of adults with noncritical COVID-19 two months after symptom onset. Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27 (2):258-263. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.052

39. McMahon D.E., Gallman A.E., Hruza G.J., et al. Long COVID in the skin: a registry analysis of COVID-19 dermatological duration. Lancet Infect Dis. 2021; 21 (3): 313-314. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30986-5

Поступила в редакцию журнала 03.10.2022

Рецензент: Л.П. Котрехова



ПАТОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ ОЧАГОВОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Гринева Е.М. (аспирант)*, Корнишева В.Г. (профессор), Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии, Санкт-Петербург, Россия)

Очаговая склеродермия (ОС) в связи с широким распространением и вариабельным клиническим течением является актуальной проблемой современной медицины. В исследование включили 132 пациента в возрасте от 19 до 76 лет, среди которых преобладали женщины (94,7%), страдавших ОС. У большей части больных (72,7%) выявлена патология щитовидной железы. В структуре всей патологии щитовидной железы у преобладающего большинства обследованных лиц (69,8%) диагностирован аутоиммунный тиреоидит (АИТ). Согласно результатам оценки влияния патологии щитовидной железы на течение ОС, наличие диффузного узлового зоба, узлового зоба, диффузного токсического зоба не влияло на степень тяжести и активность ОС, в то время как наличие у пациента АИТ ассоциировано с более тяжелым течением дерматоза ($p < 0,05$). Кожный процесс имел более выраженную активность и носил более распространенный характер.

Ключевые слова: очаговая склеродермия, склероатрофический лишай, патология щитовидной железы, аутоиммунный тиреоидит, тяжесть течения

THYROID PATHOLOGY IN PATIENTS WITH LOCALIZED SCLERODERMA

Grineva E.M. (postgraduate student), Kornisheva V.G. (professor), Raznatovsky K.I. (head of department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (department of dermatovenereology), St. Petersburg, Russia

* Контактное лицо: Гринева Екатерина Михайловна, e-mail: katerina.grineva88@mail.ru

Localized scleroderma (LS) due to its widespread and variable clinical course is an urgent problem of modern medicine. The study included 132 patients aged 19 to 76 years, among whom women predominated (94,7%), who suffered LS. The majority of patients (72,7%) have thyroid pathology. In the structure of the entire pathology of the thyroid gland, the overwhelming majority of the examined persons (69.8%) were diagnosed with autoimmune thyroiditis (AIT). According to the results of the assessment of the effect of thyroid pathology on the course of LS, the presence of diffuse nodular goiter, nodular goiter, diffuse toxic goiter did not affect the severity and activity of LS, while the presence of AIT in the patient is associated with a more severe course of dermatosis ($p < 0,05$). The skin process had a more pronounced activity and was more widespread.

Key words: localized scleroderma, morphea, lichen sclerosis, thyroid gland pathology, autoimmune thyroiditis, course severity

ВВЕДЕНИЕ

Очаговая склеродермия (ОС) – аутоиммунное заболевание соединительной ткани с различными клиническими проявлениями, с ежегодной частотой 0,4-2,7 случая на 100 000 человек [1]. Взаимодействие между генетическими факторами, эпигенетическими модификациями, иммунной и сосудистой дисфункцией, а также воздействием окружающей среды рассматриваются как основные факторы, влияющие на патогенез ОС [2]. На развитие ОС оказывают влияние нарушение функции вегетативной нервной системы и нейроэндокринные расстройства, токсические воздействия [3]. Заболевание щитовидной железы относится к наиболее частой патологии, встречающейся у человека [4]. Распространенность и структура тиреоидной патологии зависит от многих факторов, таких как возраст, пол, генетическая предрасположенность, присутствие в пище зобогенных веществ [5]. Решающим фактором в развитии заболеваний щитовидной железы является уровень йодобеспечения региона. Согласно данным, опубликованным экспертами ВОЗ, около 2 млрд. людей имеют риск развития йододефицитных заболеваний [4, 5]. Установлено, что значительное увеличение потребления йода в регионах йодного дефицита может ускорить манифестацию аутоиммунных заболеваний щитовидной железы у предрасположенных лиц [5]. В настоящее время аутоиммунный тиреоидит (АИТ) является одним из наиболее распространенных заболеваний щитовидной железы, его частота составляет 0,3-1,5 случая на 1000 человек [6]. Частота АИТ возрастает

среди европейцев, ее распространенность в популяции достигает 5% [7]. Основной фон патологической аутоиммунной реакции на щитовидной железе рассматривается как многофакторный, он связан со степенью поступления йода с пищей, инфекциями, стрессом как триггерами иммунной модуляции [8-9]. В 2014 г. было опубликовано исследование, в котором изучалась корреляция между АИТ и системной склеродермией (ССД). В исследование были включены 210 пациентов с ССД, среди которых у 29 (13,8%) женщин был АИТ [10]. ОС и ССД имеют одинаковые гистопатологические изменения кожи, поэтому целесообразно у больных с ОС обследовать функцию щитовидной железы [11].

Цель исследования: изучить патологию щитовидной железы у пациентов, страдающих ОС, и оценить ее влияние на течение дерматоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2010 г. по 2020 г. в отделении дерматовенерологии НИИ медицинской микологии им П.Н. Кашкина было проведено открытое проспективное исследование, которое включало 132 пациентов, страдающих ОС.

С целью выявления патологии щитовидной железы у больных определяли гормоны щитовидной железы (ТТГ, Т3, Т4), уровень антител к тиреопероксидазе и к тиреоглобулину, проводили ультразвуковую диагностику щитовидной железы. Все пациенты консультированы эндокринологом.

Для оценки распространенности и степени тяжести, активности кожного процесса использовали бальную оценку по Ramsden и Silman [12]. В каждой анатомической области по 3-х балльной шкале оценивали плотность кожи (0 баллов – норма, 1 балл – легкое уплотнение кожи, 2 балла – умеренное уплотнение кожи, кожу невозможно защипнуть в складку, 3 балла – сильное уплотнение кожи, утрата подвижности). Баллы, начисленные за все анатомические области, суммировались. Определяли степень тяжести кожного процесса: I степень – от 1 до 14 баллов, II степень – от 13 до 29 баллов, III степень – от 30 до 39 баллов, IV степень – более 40 баллов.

Для оценки степени склероатрофических поражений аногенитальной зоны у больных применяли индекс степени поражения и атрофии половых органов и перианальной области [12]. У женщин выделены 7 анатомических областей, у мужчин – 4. В каждой анатомической области оценивали выраженность атрофии.

Сравнение изучаемых количественных параметров осуществляли с использованием критериев

Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, медианного хи-квадрат и модуля ANOVA. Описательные статистики количественных признаков включали в себя оценку среднего арифметического, среднего квадратичного отклонения, ошибки среднего значения, медиану и квартили, а также минимум и максимум. Статистический анализ качественных показателей проводили на основе данных, сгруппированных в аналитические таблицы сопряженности, с применением критерия согласия Пирсона χ^2 и точного метода Фишера. Корреляционный анализ показателей выполняли методом Спирмена.

Для визуализации структуры исходных данных и полученных результатов использовали графические возможности системы Statistica for Windows и модуль построения диаграмм системы Microsoft Office. Количественные показатели в различных исследуемых подгруппах для полноты описания и удобства восприятия и сравнения представили в форме «Box & Whisker Plot», когда на одном поле при различных группировках на основе качественных критериев отражены среднее значение, ошибка среднего и стандартного отклонения для указанного параметра. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали величину $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследовано 132 пациента, из них 125 (94,7%) женщин и 7 (5,3%) мужчин в возрасте от 19 до 76 лет. Преобладание женщин среди пациентов с ОС также отмечено в современных исследованиях [12]. Средний возраст больных составил $53,9 \pm 14,7$ года. По возрасту пациенты распределились следующим образом: от 18 до 25 лет – 5 человек (3,8%), от 26 до 35 лет – 18 (13,6%), от 36 до 45 лет – 12 (9%), от 46 до 55 лет – 16 (12,1%), от 55 до 70 – 68 (51,5%), от 71 и старше – 13 (9,8%) (Рис. 1).

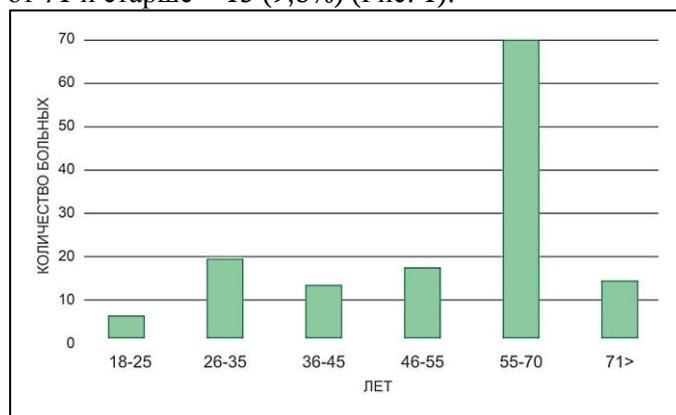


Рис. 1. Распределение пациентов с очаговой склеродермией по возрасту.

Распределение больных с зависимости от клинической формы ОС было следующим: бляшечная ОС диагностирована у 71 пациента (53,9%), сочетание ОС со склероатрофическим лишеном кожи – у 29 (22%), генерализованная (многоочаговая) склеродермия – у 17 (12,9%), линейная склеродермия – у 10 (7,5%), буллезная форма – у 1 (0,7%), глубокая форма склеродермии – у 4 (3%) (Рис. 2).

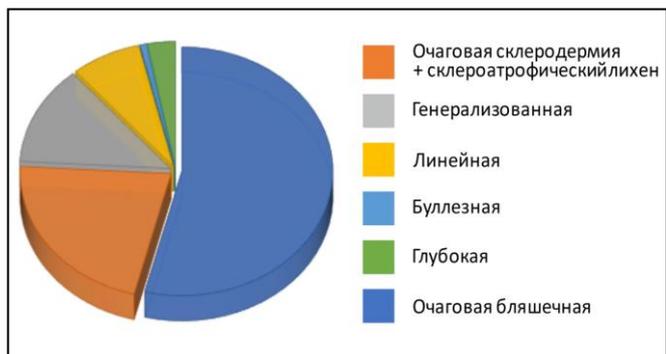


Рис. 2. Распределение больных в зависимости от клинической формы очаговой склеродермии.

При анализе данных анамнеза обследованных лиц установлено, что продолжительность ОС варьировала от 0,5 до 36 лет (медиана – $3 \pm 5,6$ лет). Длительность течения заболевания: от 0,5 до 5 лет – у 61,4% пациентов, от 5 до 10 лет – у 25,7%, более 10 лет – у 12,9%.

На основании результатов обследования щитовидной железы больные были разделены на 2 основные группы. В I группу (n=96) вошли пациенты, имевшие патологию щитовидной железы, во II группу (n=36) – пациенты, у которых патология щитовидной железы не выявлена.

Из 96 (72,7%) больных I группы, имевших патологию щитовидной железы, у 67 (69,8%) диагностирован АИТ, из которых у 37 человек (38,5%) выявлен гипотиреоз, у 30 (31,3%) – эутиреоз. У 16 (16,7%) больных обнаружен узловой зоб, у 10 (10,4%) – диффузно-узловой зоб, у одной пациентки (1,03%) – диффузный токсический зоб. В анамнезе у 2 (2,07%) женщин был рак щитовидной железы. Таким образом, при обследовании пациентов с ОС АИТ встречался более чем у половины больных I группы ($p < 0,05$).

С целью оценки влияния патологии щитовидной железы на течение очаговой склеродермии пациенты были разделены на три группы. I группу составили больные, страдающие ОС и АИТ; II группу – пациенты ОС с узловым, диффузно-узловым, диффузным токсическим зобами, раком щитовидной железы в анамнезе; III группу – лица с ОС без патологии щитовидной железы. При сравне-

нии возраста пациентов, длительности течения ОС и возраста дебюта ОС различия между группами не получено ($p > 0,05$). Таким образом, наличие патологии щитовидной железы у больных с ОС не зависело от возраста, длительности течения дерматоза и возраста начала ОС.

Таблица 1

Распространенность, степень тяжести, активность очаговой склеродермии в зависимости от наличия или отсутствия патологии щитовидной железы

	Группа I N=67		Группа II N=29		Группа III N=36		p
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Распространенность и степень тяжести ОС (по Ramsden и Silman)							
I	19	28,4	19	65,6	26	72,2	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
II	35	52,2	7	24,1	9	25	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
III	10	14,9	3	10,3	1	2,8	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
IV	3	4,5	0	0	0	0	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
Активность кожного процесса							
1	1	1,5	2	6,8	4	11,1	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
2	21	31,3	11	37,9	20	55,6	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05
3	43	64,2	13	44,8	10	27,8	p I-II<0,05 p I-III p<0,05 p II-III>0,05

При оценке распространенности, степени тяжести, активности кожного процесса статистически достоверных различий между показателями II и III групп не выявлено ($p > 0,05$). Таким образом, наличие диффузного узлового зоба, узлового зоба, диффузного токсического зоба не влияло на степень тяжести и активность ОС, в связи с чем при дальнейшем анализе группы II и III были объединены.

С возрастом увеличивалось количество больных I группы (ОС и АИТ), и пик заболеваемости приходился на 56-65 лет (Рис. 3).

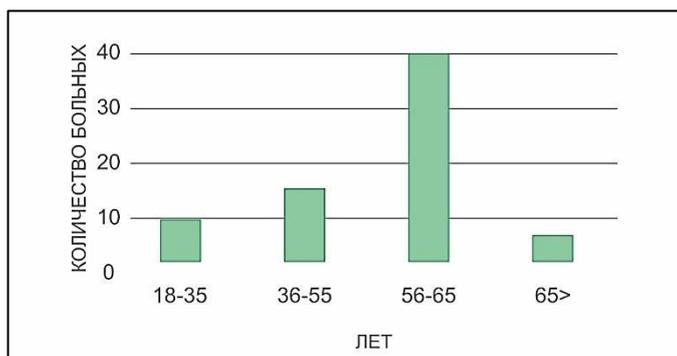


Рис. 3. Распределение больных с очаговой склеродермией и аутоиммунным тиреоидитом по возрасту.

Для решения вопроса о влиянии наличия АИТ на клинику ОС провели сравнение распространенности, степени тяжести дерматоза и активности кожного процесса у пациентов с АИТ (I группа) и без него (II и III группы). У больных I группы ОС имела более распространенный характер (II-IV степени тяжести – у 71,6%). В группе сравнения пациентов, не имевших АИТ, преобладала I степень тяжести (у 69,2%), II-IV степени тяжести были достоверно меньше, чем у лиц с АИТ ($p < 0,05$) (Рис. 4).

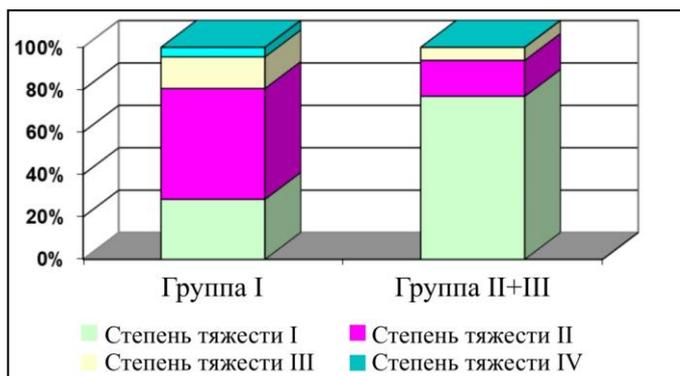


Рис. 4. Степень тяжести у больных очаговой склеродермией с аутоиммунным тиреоидитом (I группа) и без АИТ (II + III группы).

Из 132 обследованных лиц поражение аногенитальной области выявлено у 38,6% больных ОС в виде очагов истонченного эпидермиса и атрофии с белесоватым, перламутровым или ливидным оттенком. У части пациенток имелись изменения структуры вульвы и из-за выраженного склероза – сужение входа во влагалище.

Индекс степени поражения и атрофии аногенитальной зоны достоверно выше был в I группе больных, страдающих ОС и АИТ ($p < 0,05$, Рис. 5).

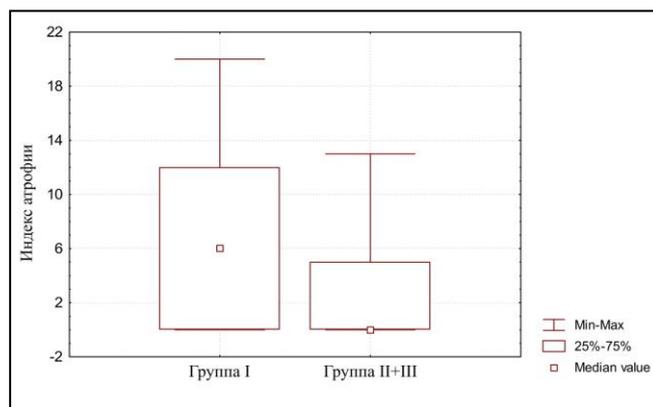


Рис. 5. Индекс атрофии аногенитальной зоны у пациентов с очаговой склеродермией и аутоиммунным тиреоидитом (I группа) и без АИТ (II + III группы).

Склероатрофический лишай аногенитальной области обнаружен у 52,2% больных ОС и АИТ, из них I степени тяжести у 7,5%, II – у 37,3%, III – у 7,5%. В группе сравнения поражение аногенитальной зоны встречалось в два раза реже и было выявлено у 24,6% пациентов, из них I степени тяжести – у 7,7%, II – у 16,9% ($p < 0,05$).

Таким образом, у больных ОС с АИТ кожный процесс имел более выраженную активность и носил более распространенный характер по сравнению с пациентами без АИТ ($p < 0,05$). При анализе клинических форм ОС у больных с АИТ и без него получены статистически значимые различия. У пациентов с АИТ достоверно чаще преобладала очаговая склеродермия в сочетании со склероатрофическим лишаем кожи и аногенитальной области (у 52,2%, $p < 0,05$) и генерализованная форма склеродермии (у 17,9%, $p < 0,05$). В группе сравнения преобладала бляшечная форма ОС (у 69,2%, Рис. 6).

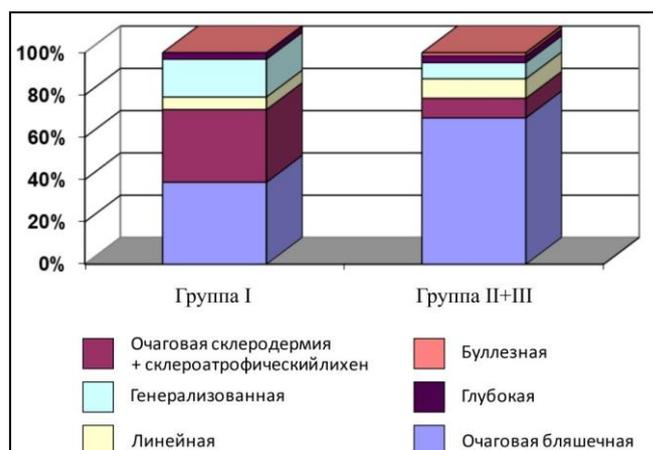


Рис. 6. Распределение клинических форм очаговой склеродермии у больных с аутоиммунным тиреоидитом (I группа) и без АИТ (II + III группы).

При ретроспективном анализе сроков развития АИТ и ОС выявлено, что медиана возраста, в котором отмечены первые клинические проявления ОС, составила $54 \pm 13,3$ года, медиана дебюта АИТ – $50 \pm 11,3$ лет, что на 4 года раньше появления ОС. Известно, что аутоиммунный тиреодит диагностируется у женщин в пять-десять раз чаще, чем у мужчин, и его частота увеличивается с возрастом (пик приходится на период от 45 до 65 лет) [7]. У пациенток с ОС и АИТ пик заболеваемости пришелся на период от 56 до 65 лет (Рис. 3). При проведении корреляционного анализа между возрастными дебютами ОС и АИТ обнаружена значимая взаимосвязь ($r = 0,82$).

Таким образом, из всей патологии щитовидной железы у больных очаговой склеродермией АИТ встречался достоверно чаще ($p < 0,05$). Связь очаговой склеродермии с наиболее распространенным аутоиммунным заболеванием – АИТ была установлена ранее в педиатрической популяции [13]. Клинически у 52,2% женщин I группы отмечено сочетание ОС со склероатрофическим лихеном аногенитальной области, что было достоверно чаще, чем у пациенток ОС без АИТ ($p < 0,05$). В своем исследовании Kreuter A. и соавторы диагностировали склероатрофический лихен у 5,7% больных с ОС. В целом у 8,1% пациентов с ОС были выявлены другие аутоиммунные заболевания [14]. Существенные различия в частоте встречаемости АИТ у больных ОС можно объяснить увеличением потребления йода в регионе проживания, для которого характерен йодный дефицит. Это может ускорить манифестацию аутоиммунных заболеваний щитовидной железы у предрасположенных лиц. В то же самое время йододефицитное состояние может способствовать развитию аутоиммунной патологии щитовидной железы [5]. В 2019 г., в ходе проведенного Ю.П. Молокановой и соавторами исследования морфологического и функционального состояния щитовидной железы у населения центрального региона выявлены йододефицитные состояния у 80% обследованных. По результатам ультразвукового исследования щитовидной железы, признаки морфологических нарушений обнаружены более чем у 60% пациентов, дисфункция щитовидной железы подтверждена результатами лабораторного исследования крови у 35%, у 10% – выявлены признаки аутоим-

мунного процесса [15]. Очаговая склеродермия и склероатрофический лихен являются аутоиммунными заболеваниями, которые могут быть связаны с другими аутоиммунными расстройствами. Сосуществование двух аутоиммунных заболеваний не случайно, и, вероятнее всего, связано с аутоиммунными реакциями, вызванными распознаванием общих антигенов [16]. По данным Снарской Е.С. и соавторов, частота встречаемости склероатрофического лихена аногенитальной локализации при ОС составила 59,6% [12]. Обращает на себя внимание, что у большинства наших пациенток склероатрофический лихен был диагностирован через несколько лет после установленного диагноза ОС. При оценке степени тяжести, атрофии аногенитальной зоны активность ОС была выше в группе больных ОС, имевших склероатрофический лихен и АИТ ($p < 0,05$). Таким образом, пациенты с АИТ и ОС имеют повышенный риск развития склероатрофического лихена. Полученные результаты подтверждают важную роль АИТ в патогенезе ОС и его влияние на тяжесть течения заболевания.

ВЫВОДЫ

1. При обследовании 132 больных очаговой склеродермией у 72,7% выявлена следующая патология щитовидной железы: у 67 (69, 8%) – АИТ, у 16 (16,7%) – узловой зоб, у 10 (10,4%) – диффузно-узловой зоб, в анамнезе у 2 (2,07%) женщин – рак щитовидной железы, у одной пациентки (1,03%) – диффузный токсический зоб. Сопутствующая патология щитовидной железы не зависела от возраста и длительности течения ОС, кроме АИТ.

2. Из 96 больных ОС, имевших патологию щитовидной железы, у 69,8% наблюдали аутоиммунный тиреодит, частота которого увеличивалась с возрастом. АИТ диагностировался на 3-4 года раньше первых клинических проявлений ОС. Пик заболеваемости ОС и АИТ – 56-65 лет.

3. Аутоиммунный тиреодит – фактор, утяжеляющий течение очаговой склеродермии. Кожный процесс имел более выраженную активность и носил более распространенный характер. Клинически у этой группы пациентов преобладала очаговая склеродермия в сочетании со склероатрофическим лихеном ано-генитальной области (52,2%, $p < 0,05$).

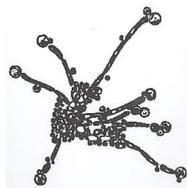
ЛИТЕРАТУРА

1. Ferreli C., Gasparini G., Parodi A., et al. Cutaneous manifestations of scleroderma and scleroderma-like disorders: a comprehensive review. Clin. Rev. Allergy Immunol. 2017; 53 (3): 306-336. doi.org/10.1007/s12016-017-8625-4
2. Volkman E.R., Varga J. Emerging targets of disease-modifying therapy for systemic sclerosis. Nat. Rev. Rheumatol. 2019; 15 (4): 208-224. doi.org/10.1038/s41584-019-0184-z

3. Florez-Pollack S., Kunzler E., Jacobe H.T. Morphea: Current concepts. Clin. Dermatol. 2018; 36 (4): 475-486. doi: 10.1016/j.clindermatol.2018.04.005
4. Дора С.В., Красильникова Е.И., Волкова А.Р. и др. Взаимосвязь показателей йодобеспечения Санкт-Петербурга и аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. 2012; XIX (3):108-110. [Dora S.V., Krasilnikova E.I., Volkova A.R., et al. The relationship of indicators of iodine supply in St. Petersburg and autoimmune diseases of the thyroid gland. Scientific notes of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University. 2012; XIX (3):108-110. (In Russ.)].
5. Алферова В.И., Мустафина С.В., Рымар О.Д. Йодная обеспеченность в России и мире: что мы имеем на 2019 год? Клиническая и экспериментальная тиреоидология. 2019, том 15.-№2.- С. 73-81. [Alferova V.I., Mustafina S.V., Rymar O.D. Iodine status of the population in Russia and the world: what do we have for 2019? Clinical and experimental thyroidology. 2019; 15 (2):73-82. (In Russ.)]. doi.org/10.14341/ket10353
6. Santaguida M.G., Gatto I., Mangino G., et al. BREG cells in Hashimoto's thyroiditis isolated or associated to further organ-specific autoimmune diseases. Clin. Immunol. 2017; 184: 42-47. doi: 10.1016/j.clim.2017.04.012
7. Pyzik A., Grywalska E., Matyjaszek-Matuszek B., et al. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? J. Immunol. Res. 2015; 2015: 979167. doi.org/10.1155/2015/979167
8. Wiersinga W.M. Clinical relevance of environmental factors in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease. Endocrinol. Metab. (Seoul). 2016; 31: 213-22. doi.org/10.3803/EnM.2016.31.2.213
9. Song H., Fang F., Tomasson G., et al. Association of stress-related disorders with subsequent autoimmune disease. JAMA. 2018; 319: 2388-400. doi.org/10.1001/jama.2018.7028
10. Toki S., Motegi S., Yamada K., et al. Demographic and clinical features of autoimmune thyroid disorder in Japanese patients with systemic sclerosis. J. Dermatol. 2014; 41: 1053. doi.org/10.1111/1346-8138.12698
11. Wenzel D., Haddadi N.S., Afshari K., et al. Upcoming treatments for morphea. Immun. Inflamm. Dis. 2021; 9 (4): 1101-1145. doi: 10.1002/iid3.475
12. Снарская Е.С., Семечак Ю.А. Склероатрофический лишай аногенитальной локализации: клинико-морфологические, дифференциально-диагностические особенности и комплексный метод лечения. РМЖ. 2019; 12: 9-13. [Snarskaya E.S., Semechek Yu.A. Scleroatrophic lichen of anogenital localization: clinical and morphological, differential diagnostic features and a comprehensive method of treatment. RMZH. 2019; 12: 9-13. (In Russ.)].
13. Dańczak-Pazdrowska A., Polańska A., Synakiewicz J., et al. Morphea and antithyroid antibodies. Postepy Dermatol. Alergol. 2018; 35 (5): 470-473. doi: 10.5114/ada.2018.75839
14. Kreuter A., et al. Coexistence of lichen sclerosus and morphea: A retrospective analysis of 472 patients with localized scleroderma from a German tertiary referral center. J. Am. Acad. Dermatol. 2012; 67 (6): 1157-62. doi: 10.1016 / j.jaad.2012.04.003
15. Молоканова Ю.П., Сапрыгин В.П. Исследование заболеваемости населения центрального региона Российской Федерации болезнями щитовидной железы. Актуальные проблемы биологической и химической экологии. Сб. материалов VI международной научно-практической конференции. М.: из-во: Московский Гос. Обл. Университет, 2019; с 56. [Molokanova Yu.P., Saprykin V.P. Study of the morbidity of the population of the central region of the Russian Federation with thyroid diseases. Actual problems of biological and chemical ecology. digest of materials of the VI International Scientific and Practical Conference. M.: Moscow State Regional University, 2019; p 56. (In Russ.)].
16. Iffat H., et al. Thyroid dysfunctions in morphea: A preliminary report. Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. 2014; 80 (6): 579. doi: 10.4103/0378-6323.144230

Поступила в редакцию журнала 07.11.2022

Рецензент: А.А. Вашкевич



АЛГОРИТМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ НЕВУСА СЕТТОНА И РЕГРЕССИРУЮЩЕЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

Павлова А.Г. (врач-дерматолог)*, Ключарёва С.В. (профессор), Новицкая Т.А. (доцент)

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

Проведен ретроспективный анализ клинических данных, анамнеза, дерматоскопического, гистологического и иммуногистохимического исследований 60 пациентов с диагнозом невуса Сеттона I-III стадии и регрессирующей меланомы кожи с целью обоснования выбора тактики дифференциальной диагностики.

Ключевые слова: невус Сеттона, регрессирующая меланома кожи, гистология, дерматоскопия, иммуногистохимия, дифференциальный диагноз

ALGORITHM FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF SETTON'S NEVUS AND REGRESSIVE SKIN MELANOMA

Pavlova A.G. (dermatologist), Kluchareva S.V. (professor), Novitskaya T.A. (associate professor)

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

A retrospective analysis of clinical data, anamnesis, dermatoscopic, histological and immunohistochemical studies of 60 patients diagnosed with Setton's nevus stage I-III and regressing skin melanoma was carried out in order to substantiate the choice of tactics of differential diagnosis.

Key words: nevus Setton, regressive skin melanoma histology, dermatoscopy, immunohistochemistry, differential diagnosis

ВВЕДЕНИЕ

Невус Сеттона (НС) в литературе также описывается как галоневус. По данным Мордовцевой В.В., частота встречаемости НС в популяции составляет около 1%, средний возраст пациентов – 16 лет [1]. Munding G.S. наблюдал, что в 25-50% случаев НС был представлен множественными образованиями, что значительно снижало качество жизни пациентов [2]. Клинически НС I-III стадии выглядит как пигментное образование с зоной регресса по периферии, что, по мнению Suzuki N., вызывает необходимость дифференциальной диагностики с частично регрессирующей и меланомой кожи с феноменом гало [3]. Основная опасность постановки неправильного диагноза заключается в разности этиологий и патогенеза исследуемых нозологий и их высокой клинической схожести. В связи с этим неправильно выставленный диагноз и, соответственно, выбранная методика могут привести к провокации на рост и метастазированию злокачественной опухоли в процессе лечения. В своей статье Гагарина О.Е. и соавторы подтверждают, что в настоящее время в мировой литературе нет единой методики диагностики меланоцитарных образований, в том числе невуса Сеттона [4]. Это увеличивает риск диагностической ошибки и, как следствие, выбор неправильной методики лечения [5].

Отсутствие единого мнения о патогенезе НС не позволяет выбрать безопасную терапевтическую стратегию для каждой стадии заболевания [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические исследования выполнены в период с 2011 по 2021 гг. на базе кафедры дерматовенерологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Объектом исследования были 60 пациентов в возрасте 18-77 лет (средний возраст медиана 29 квартили [22; 37] лет), мужчин – 25, женщин – 35, с диагнозом невуса Сеттона (n=30) и регрессирующей меланомы кожи (n=30). По данным анамнестического и клинического исследований были сформированы предварительные группы с предположительным диагнозом невуса Сеттона (1 группа) и регрессирующей меланомы кожи (2 группа). Далее всем пациентам была проведена эксцизионная биопсия под местной анестезией хирургическим путем. Полученный материал подвергали гистологическому и иммуногистохимическому исследованию, на основании последнего устанавливали окончательный диагноз и формировали группы для статистической обработки результатов. Данный протокол исследования позво-

* Контактное лицо: Павлова Анна Геннадьевна, e-mail: zhigulinaag@gmail.com

лил провести ретроградную оценку значимости критериев диагностики и определить диагностическую ошибку неинвазивных методов при выявлении исследуемых нозологий.

Статистический анализ полученных результатов выполняли в программной среде Statistica (ver. 10, лиц. ВХХR310F964808FA-V). Сравнительный анализ как количественных, так и качественных показателей осуществляли методом проверки статистических гипотез.

Качественные показатели представлены распределением частот, интервальную оценку которых в виде 95% доверительного интервала (ДИ) вычисляли в соответствии с методом Уилсона (Wilson). При выявлении различий качественных показателей вычисляли χ^2 значения критерия ² (хи-квадрат), использовали точный критерий Фишера. Для оценки количественной меры взаимосвязи исхода (наличия злокачественных/доброкачественных образований) с изучаемыми клиническими, дерматоскопическими, гистологическим и иммуногистохимическими (ИГХ) показателями рассчитывали отношение шансов (ОШ). Для показателей со значимой оценкой ОШ вычисляли их диагностическую эффективность, в том числе чувствительность, специфичность, точность. Различия признавали статистически значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$. Для оценки диагностической информативности показателей, полученных при выполнении ИГХ и гистологического исследований, и для определения точки отсчета достоверности градации суммы отношения шансов при составлении алгоритма проведения дифференциальной диагностики выполняли ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic – операционная характеристика приемника).

Цель исследования: разработать и научно обосновать проведение дифференциальной диагностики невуса Сеттона и регрессирующей меланомы кожи для выбора дальнейшей тактики лечения.

Сформулированы следующие задачи:

1. Определить значимые клинические, дерматоскопические критерии дифференциальной диагностики невуса Сеттона и регрессирующей меланомы кожи.

2. Разработать совокупность критериев неинвазивных методов исследования, позволяющих повысить точность постановки клинического диагноза невуса Сеттона и регрессирующей меланомы кожи.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы было установлено, что применение совокупности признаков позволяет значимо сни-

зить диагностическую ошибку при дифференциальной диагностике невуса Сеттона и регрессирующей меланомы кожи. Выделены и распределены по группам статистически значимые неинвазивные критерии (анамнестические, клинические, дерматоскопические): «опасные», «безопасные», «условно опасные», «условно безопасные».

Критерии, включенные в группу «опасные», имеют высокие показатели специфичности (90-100%) и прогностичности положительного результата (87,0-100%) относительно выявления регрессирующей меланомы кожи. В связи с этим наличие одного из тринадцати признаков, включенных в таблицу 1, является показанием для проведения диагностической эксцизионной биопсии.

Таблица 1
Неинвазивные критерии диагностики, высокоспецифичные для регрессирующей меланомы кожи («опасные»)

Признаки классифицируемые как «опасные»	РМК, n=30	НС I-III, n=30	Ч	С	Т	ППР	ПОР
Субъективные ощущения (зуд)	20	3	66,7	90,0	78,3	87,0	73,0
Изменение формы	25	1	83,3	96,7	90,0	96,2	85,3
Клинические признаки							
Фестончатый край	18	1	60,0	96,7	78,3	94,7	70,7
Асимметрия формы по 2 осям	23	0	76,7	100,0	88,3	100,0	81,1
Клинически 3 цвета	11	0	36,7	100,0	68,3	100,0	61,2
Клинически 4 и более цветов	15	0	50,0	100,0	75,0	100,0	66,7
Черный цвет	12	1	40,0	96,7	68,3	92,3	61,7
Цвет синий/серый	14	0	46,7	100,0	73,3	100,0	65,2
Дерматоскопические признаки							
Атипичная пигментная сеть	16	1	53,3	96,7	75,0	94,1	67,4
Атипичные точки, глобулы	18	0	53,3	100,0	76,7	100,0	68,2
Гомогенный серый / синий паттерн	13	0	43,3	100,0	71,7	100,0	63,8
Многокомпонентный паттерн	16	0	53,3	100,0	76,7	100,0	68,2
Древовидные сосуды	8	0	26,7	100,0	63,3	100,0	57,7
4 и более цветов	23	0	76,7	100,0	88,3	100,0	81,1

Для «безопасных» критериев характерна высокая специфичность (96,7-100%) и прогностичность положительного результата (95,8-100%) при диагностике невуса Сеттона I-III стадии. К данной группе мы отнесли такие признаки, как множественные очаги и один цвет при клиническом и дерматоскопическом обследовании. При клиническом и дерматоскопическом выявлении только «безопасных» критериев возможен выбор любой тактики лечения данного образования.

Группа «условно опасных» критериев представлена пятнадцатью показателями. К ним относятся: анамнестические (темнеет пигментная часть, рост пигмента за последние 6 месяцев); клинические: форма регресса – полукольцо (Фото 1), единичный очаг, локализация на конечностях, асимметрия по 1 оси (Фото 2), диаметр пигмента, процент площади регресса от площади образования; дерматоскопические (глобулы, бесструктурные розовые области, неспецифический паттерн, розовый цвет, сосуды линейно-извитые, точеные сосуды).

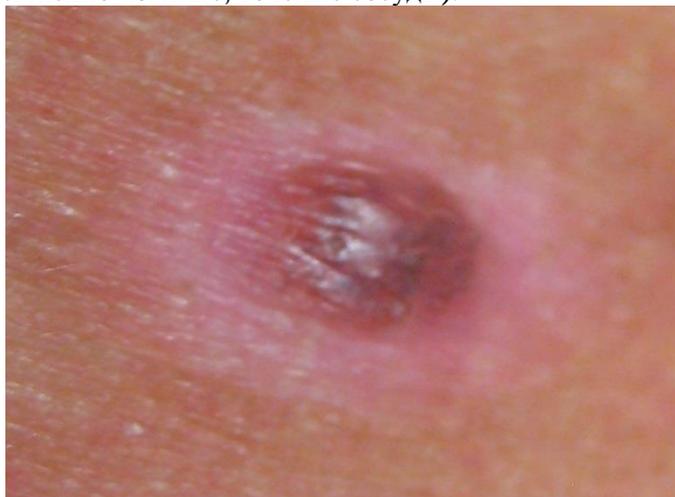


Фото 1. Невус Сеттона II стадии. Клинически нельзя исключить меланому кожи (розовый венчик депигментации, неравномерно распределенный пигмент полихромия).



Фото 2. Множественные невусы Сеттона II стадии. Слева: очаг без особенностей. Справа: клинически нельзя исключить меланому кожи с регрессией (полихромия, асимметрия пигментной части и зоны депигментации).

Данные признаки имеют достаточно высокий уровень специфичности (56,7-96,7%) и прогностичности положительного результата (70,0-89,7%) для частично регрессирующей меланомы кожи (ЧРМК). Для количественных величин проведен ROC-анализ и установлены точки отсечения характеристической кривой показателей. Для признака «процент площади регресса от площади образования» точкой стало 42,8% (ОШ=58,50; 95% ДИ: 11,92-287,13; $p < 0,001$), в которой обеспечивается чувствительность – 96,7%

и специфичность – 80,0% при дифференциальной диагностике НС I-III ст. и ЧРМК. Для критерия «диаметр пигмента» точкой стало $\geq 0,65$ мм (ОШ=15,17; 95% ДИ: 4,09-56,25; $p < 0,001$). Для выбора тактики дальнейшего ведения пациента использовали сумму отношения шансов выявленных критериев. Данные приведены в таблице 2.

Таблица 2

Отношение шансов «условно опасных» признаков

Признак	Отношение шансов	95% ДИ	p
Темнеет пигментная часть	5,0	1,51-16,56	0,0022
Рост пигмента за последние 6 месяцев	20,0	5,38-74,30	< 0,001
Форма регресса: полукольцо	58,5	11,9-287,1	< 0,001
Единичный очаг	95,3	10,9-830,8	< 0,001
Локализация на конечностях	28,03	1,53-540,54	0,025
Асимметрия по 1 оси	58,5	11,9-287,1	< 0,001
Диаметр пигмента 1 (по 1-й оси) $\geq 0,65$ мм	15,17	4,09-56,25	< 0,001
% площади регресса от площади образования $\leq 48,2\%$	58,5	11,92-287,13	< 0,001
Глобулы	3,5	1,11-11,02	0,032
Бесструктурные розовые области	10,55	1,23-90,66	0,032
Неспецифический паттерн	10,7	2,15-53,35	0,0038
Розовый цвет	14,0	2,82-69,56	0,0013
Белый цвет	8,1	1,61-40,77	0,011
Сосуды линейно-извитые	7,43	2,08-26,55	< 0,001
Точеные сосуды	14,0	2,82-69,56	< 0,001
Максимальная сумма ОШ	407,28		
Минимальная сумма ОШ	0,0		

Для вычисления диагностических пороговых значений показателя «сумма ОШ «условно-опасных» признаков», позволяющих определиться с тактикой ведения пациентов с НС I-III стадии и ЧРМК, применяли алгоритм деревьев классификации. Было вычислено 2 пороговых значения: 59,453 и 229,71. При сумме ОШ больше или равно 229,71 используется тактика «эксцизионной биопсии», при сумме ОШ меньше 229,71, но более 59,453 применяется вариант «динамического наблюдения 3-6 месяцев», при сумме ОШ меньше или равно 59,453 выбирается любая методика для лечения интрадермальных меланоцитарных невусов (наблюдение, иссечение, лазерное удаление).

«Условно безопасные» признаки высокоспецифичны для невуса Сеттона I-III стадии (специфичность – 60,0-90,0% и прогностичность положительного результата – 70,7-88,0%). Особенности: светлеет пигментная часть, начало регресса – с ареола, ровный край, симметричный очаг, клинически – два цвета, дерматоскопически – два цвета, толщина об-

ласти регресса $>0,45$ см (точка отсечения определена ROC-анализом). Для выбора тактики ведения пациентов с наличием признаков данной группы необходимо высчитать сумму отношения шансов (табл. 3).

Таблица 3

Отношение шансов «условно безопасных» признаков

Признак	Отношение шансов	95% ДИ	p
Светлеет пигментная часть	0,14	0,04-0,59	0,0067
Начало регресса сразу с ареола	0,073	0,021-0,26	$<0,001$
Ровный край	0,023	0,0028-0,19	$<0,001$
Симметричный очаг	0,017	0,0035-0,084	$<0,001$
Клинически не более 2-х цветов	0,0028	0,0001-0,054	$<0,001$
Зона регресса: ареол	0,017	0,0035-0,084	$<0,001$
Толщина области регресса $> 0,45$ см	0,077	0,021-0,023	0,028
Дерматоскопически – не более 2-х цветов	0,012	0,0023-0,067	$<0,001$
Максимальная сумма ОШ	0,3618		
Минимальная сумма ОШ	0,0		

Пороговое значение показателя «сумма ОШ «условно-безопасных» признаков», равно $0,139$, определено с помощью алгоритма деревьев классификации (Рис.).

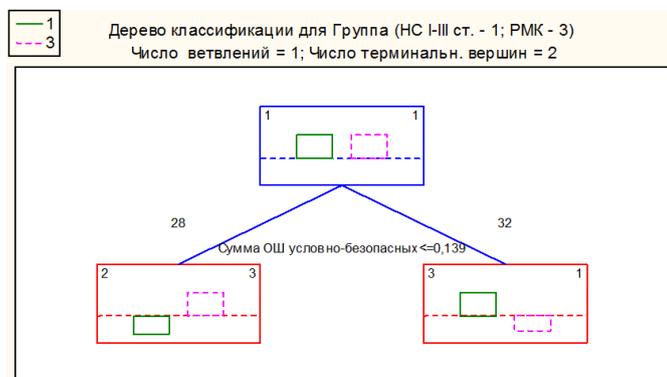


Рис. Пороговые значения показателя «сумма ОШ «условно-безопасных» признаков», вычисленные с применением алгоритма деревьев классификации.

Таким образом, при сумме ОШ менее $0,139$ относим образование к доброкачественным и выбираем любую тактику лечения, оптимальную для меланоцитарных интрадермальных невусов. При показателе ОШ более $0,139$ предпочитаем динамическое наблюдение в течение 3-6 месяцев.

Благодаря применению распределения критериев по группам «опасные», «безопасные», «условно опасные», «условно безопасные» точность клинического выявления невуса Сеттона I-III стадии приравнивается к 85%, при дерматоскопическом исследовании частота диагностической ошибки снижается на 13,3%.

ВЫВОДЫ

В ходе проведенной работы впервые проанализирована и установлена совокупность клинических, дерматоскопических, гистологических и иммуногистохимических признаков, характерных для невуса Сеттона. Нами выделены группы неинвазивных критериев («опасные», «безопасные», «условно опасные», «условно безопасные»). Данная классификация признаков позволяет снизить частоту диагностической ошибки на 13,3% при дифференциальной диагностике невуса Сеттона I-III стадии с регрессирующей меланомой кожи. Разработанные нами группы критериев позволяют оценить вероятность их малигнизации и выбрать оптимальную тактику ведения пациента с диагнозом «невус Сеттона I-III стадии».

ЛИТЕРАТУРА

1. Мордовцева В.В., Сергеев Ю.Ю. Гало-феномен: обзор литературы и редкие клинические случаи. Фарматека. 2018; S1: 52-56. [Mordovtseva V.V., Sergeev Yu.Yu. Halo phenomenon: literature review and rare clinical cases. Pharmateca. 2018; S1: 52-56 (In Russ)].
2. Munding G.S. Halo Phenomenon. N. Engl. J. Med. 2014; 370: 262. doi: 10.1056/NEJMicm1306230
3. Suzuki N., Dalapicola M., Argenziano G. et al. Halo and pseudo-halo melanoma. Am. Acad. Dermatol. 2016; 74 (4): e59-61. doi: 10.1016/j.jaad.2015.09.027

4. *Гаранина О.Е., Самойленко И.В., Шливно И.Л. и др.* Неинвазивные методы диагностики опухолей кожи и их потенциал применения для скрининга меланомы кожи: систематический обзор литературы. Медицинский совет. 2020; 9: 102-120. [Garanina O.E., Samoylenko I.V., Shlivko I.L., et al. Non-invasive diagnostic techniques for skin tumors and their potential for use in skin melanoma screening: a systematic literature review. Medical advice. 2020; 9: 102-120 (In Russ)]. doi.org/10.21518/2079-701X-2020-9-102-120
5. *Nedelcu R., Dobre A., Brinzea A., et al.* Current challenges in deciphering Sutton nevi – literature review and personal experience. J. Pers. Med. 2021; 11 (9): 904. doi: 10.3390/jpm11090904
6. *Потекаев Н.Н.* Организационная модель ранней диагностики злокачественных новообразований кожи. Полипептидная терапия: новые возможности для России. М., 2021: 72-74. [Potekaev N.N. Organizational model of early diagnosis of malignant neoplasms of the skin. Polypeptide therapy: New opportunities for Russia. M., 2021: 72-74 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 24.08.2022

Рецензент: Л.П. Котрехова



ДЕФИЦИТ ВИТАМИНА Д У БОЛЬНЫХ ГНЕЗДНОЙ АЛОПЕЦИЕЙ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Кукушкина К.С. (аспирант) *, Корнишева В.Г. (профессор), Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии), Санкт-Петербург, Россия

В последние годы возросло количество исследований о связи между витамином Д и аллергическими заболеваниями.

Целью работы было изучение содержания витамина Д в сыворотке крови у больных гнездной алопецией в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего атопического дерматита.

Материалы и методы. На базе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в период 2017-2022 гг. проведено проспективное когортное исследование, в ходе которого обследовано 160 пациентов с диагнозом «гнездная алопеция» (ГА), из них 69 мужчин и 91 женщина в возрасте от 18 до 66 лет (средний возраст – 38,6 лет). Сопутствующая патология выявлена у 118 больных. Концентрацию активной формы витамина Д (25 (ОН) Д) – 25-гидроксиголекальциферола (кальцидола) определяли с помощью метода хемилуминесцентного иммуноанализа на частицах, уровень общего IgE – методом иммуноферментного анализа.

Результаты. При обследовании 160 пациентов средняя концентрация витамина Д была снижена и составила $23 \pm 1,5$ нг/мл. При гнездной алопеции дефицит витамина Д (ниже 20 нг/мл) выявлен более, чем у половины пациентов с сопутствующим атопическим дерматитом в стадии ремиссии (65,2%). У больных ГА и атопическим дерматитом, имеющих дефицит витамина Д, повышенный уровень общего IgE наблюдали у 78,8%. Обнаружена обратная корреляционная связь между уровнем витамина Д и содержанием общего IgE.

Выводы. Наиболее выраженный дефицит витамина Д отмечен у пациентов с гнездной алопецией, имеющих сопутствующий атопический дерматит. Это снижение было тесно связано с уровнем общего IgE. Выявлена обратная корреляционная связь между уровнем витамина Д и содержанием общего IgE. Больным с ГА и дефицитом витамина Д следует исключать атопию и аллергический фон как фактор,отягощающий течение заболевания.

Ключевые слова: витамин Д, гнездная алопеция, 25-гидроксиголекальциферол, атопический дерматит, общий IgE

VITAMIN D DEFICIENCY IN PATIENTS WITH ALOPECIA AREATA AND ATOPIC DERMATITIS

Kukushkina K.S. (postgraduate student), Kornisheva V.G. (professor), Raznatovsky K.I. (head of department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (department of dermatovenereology), St. Petersburg, Russia

In recent years, the number of studies on the relationship between vitamin D and allergic diseases has increased.

The aim of the work was to study the content of vitamin D in the blood serum of patients with alopecia areata, depending on the presence or absence of concomitant atopic dermatitis.

Materials and methods. A prospective cohort study was conducted on the basis of the Kashkin Research Institute of Medical Mycology in the period 2017-2022, during which 160 patients with the diagnosis of "alopecia areata" (AA) were examined, 69 of them men and 91 women aged 18 to 66 years (average age – 38,6 years). Concomitant pathology was detected in 118 patients. The concentration of the active form of vitamin D ((25 (OH) D) – 25-hydroxycholecalciferol (calcidiol)) was determined using the method of chemiluminescent immunoassay on particles, the level of total IgE – enzyme immunoassay.

Results. In the examination of 160 patients, the average concentration of vitamin D was reduced to $23 \pm 1,5$ ng/ml. With alopecia areata, vitamin D deficiency (below 20 ng/ml) was detected in more than half of patients with concomitant atopic dermatitis in remission (65,2%). In patients with AA and atopic dermatitis with vitamin D deficiency, an increased level of total IgE was observed in 78,8%. An inverse correlation was found between the level of vitamin D and the content of total IgE.

Conclusions. The most pronounced vitamin D deficiency was observed in patients with alopecia areata and concomitant atopic dermatitis. This decrease was closely related to the level of total IgE. An inverse correlation was found between the level of vitamin D and the content of total IgE. Patients with AA and vitamin D deficiency should exclude atopy and allergic background as a factor aggravating the course of the disease.

Key words: vitamin D, alopecia areata, 25-hydroxycholecalciferol, atopic dermatitis, general IgE

* Контактное лицо: Кукушкина Ксения Сергеевна,
e-mail: kseniyasergeevna88prof@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Гнездная алопеция – хроническое органоспецифическое аутоиммунное воспалительное заболевание с генетической предрасположенностью, характеризующееся поражением волосяных фолликулов, иногда – ногтевых пластин (у 7-66% больных), стойким или временным нерубцовым выпадением волос [1].

Проблема коморбидных состояний у пациентов с гнездной алопецией (ГА) является актуальной и обусловлена их влиянием на течение и прогноз самого заболевания, выбором тактики лечения и качеством жизни больных. Сопутствующие заболевания могут появиться до развития ГА, в период обострения или ремиссии. Пациенты с ГА подвержены повышенной частоте развития иммуновоспалительной патологии, что объясняется общностью иммунологических механизмов развития этих заболеваний [2].

Наблюдается значительная вариабельность клинических проявлений ГА – от возникновения мелкоочагового выпадения волос до полной потери волосяного покрова головы и тела. У генетически предрасположенных людей триггерные факторы вызывают преимущественно аутоиммунную реакцию, опосредованную CD8+ Т-лимфоцитами, против волосяных фолликулов с регулирующим влиянием Th1, приводящую к острой потере волос [1-4].

Действие витамина Д на волосяной фолликул реализуется через рецепторы, расположенные на эпидермальных кератиноцитах и мезодермальных клетках волосяного сосочка. Обнаружено, что недостаточность рецепторов к витамину Д ассоциируется с повышенной экспрессией гена облысения. При дефиците витамина Д могут нарушаться дифференцировка кератиноцитов и цикл развития волосяного фолликула. Как показали исследования, при выраженной недостаточности витамина Д наблюдается дистрофия волосяного фолликула в фазе катагена. Постепенно волосяной сосочек отделяется от фолликула и, как следствие, новая фаза анагена не начинается [3].

В крупнейшем метаанализе от 2020 г., в который были включены данные о 1585 пациентах с гнездной алопецией, опубликованы сведения о более частом дефиците витамина Д в сыворотке крови у больных ГА по сравнению с группой контроля. Степень дефицита витамина Д не всегда коррелировала с выраженностью клинических симптомов гнездного облысения и длительностью заболевания [5].

По данным различных эпидемиологических исследований, риск возникновения очаговой алопеции выше у пациентов, имеющих указания в анамнезе на наличие атопии (атопический дерматит, бронхиальная астма, аллергический ринит). При обследовании 2115 больных у 38,2% отмечена атопия, проявляю-

щаяся в виде аллергического ринита, астмы или экземы [6]. Ассоциация гнездной алопеции была обнаружена с псориазом, витилиго, заболеваниями щитовидной железы. Возможным объяснением сосуществования данных заболеваний является наличие общих генетических перестроек, схожих популяций иммунных клеток, цитокинового профиля, установленных при генетических исследованиях. Выявлена ассоциация генов, ответственных за развитие очаговой алопеции и ревматоидного артрита, целиакии, сахарного диабета I типа. Атопия по сравнению с общей популяцией встречалась в два раза чаще у больных ГА [7, 8].

Ассоциация атопии при тяжелых формах ГА, предположительно, связана с мутацией филлагрина и нарушением целостности эпидермального барьера. Наличие в семьях двух генетических линий предрасположенности и к атопии, и к ГА может привести к развитию у потомства тяжелых сочетанных проявлений этих двух заболеваний [8, 9]. По результатам систематического обзора и метаанализа показано, что между тяжелыми формами ГА (тотальная и универсальная алопеция) и атопическим дерматитом связь более сильная, чем при более легких формах ГА. Эти данные подтверждены в другом исследовании со значимой положительной корреляцией между степенью тяжести атопического дерматита и ГА, оцениваемыми индексами EASI (Eczema Area and Severity Index) и SALT (Severity of Alopecia Tool) соответственно [8]. Связь атопических заболеваний с ГА позволила ввести новый термин – «атопическая алопеция». Отмечено также, что такая форма алопеции тяжелее поддается лечению и часто прогрессирует до тотальной и универсальной форм, особенно если облысение возникло до полового созревания [8].

Цель работы: изучить содержание витамина Д в сыворотке крови у больных гнездной алопецией в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего атопического дерматита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в период 2017-2022 гг. проведено проспективное когортное исследование, в ходе которого обследовано 160 пациентов с диагнозом «гнездная алопеция», из них 69 мужчин и 91 женщина в возрасте от 18 до 66 лет (средний возраст – 38,6 лет). Сопутствующая патология выявлена у 118 человек. Концентрацию активной формы витамина Д (25(OH) D) – 25-гидроксиколекальциферола (кальцидола) определяли с помощью метода хемиллюминесцентного иммуноанализа на частицах, уровень общего IgE – методом иммуноферментного анализа.

Все результаты, полученные в ходе исследования, были обработаны статистическими методами вариационного анализа с использованием пакета прикладных программ для статистической обработки Excel 7 и Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении проспективного когортного исследования обследовано 160 пациентов. Средняя концентрация витамина Д у больных была снижена и составила $23 \pm 1,5$ нг/мл. На основании полученных результатов уровней витамина Д пациенты были разделены на 3 группы. В I группу (n=68) вошли больные ГА с выявленным дефицитом витамина Д ($25(\text{OH})\text{D} \leq 20$ нг/мл), во II группу (n=70) – с недостаточностью витамина Д ($25(\text{OH})\text{D} = 21-29$ нг/мл), в III группу (n=22) – с адекватным уровнем содержания данного витамина в сыворотке крови ($25(\text{OH})\text{D} \geq 30$ нг/мл).

Коморбидная патология выявлена у 118 пациентов (73,8%). Из сопутствующих заболеваний наиболее часто встречались заболевания щитовидной железы (32,6%), атопический дерматит в стадии ремиссии или в анамнезе (20%), заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (17,5%) и заболевания ЛОР-органов (9,1%) (табл.).

Таблица

Концентрации витамина Д у больных гнездной алопецией в зависимости от наличия сопутствующих заболеваний

Сопутствующие заболевания и ГА	Дефицит витамина Д (ниже 20 нг/мл)		Недостаточность витамина Д (от 20-29 нг/мл)		Витамин Д в норме (от 30 нг/мл и выше)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Заболевания щитовидной железы (n= 35)	18	60,0	11	36,7	1	3,3
Атопический дерматит (n= 23)	15	65,2	8	34,8	0	0
Заболевания ЖКТ (n= 22)	7	31,8	13	59,1	2	9,1
Заболевания ЛОР-органов (n= 12)	5	41,7	5	41,7	2	16,6

При гнездной алопеции дефицит витамина Д (ниже 20 нг/мл) наблюдали более, чем у половины больных атопическим дерматитом (65,2%).

У пациентов с ГА и сопутствующими заболеваниями ЖКТ, не имеющих атопический дерматит, дефицит исследуемого витамина был у наименьшего процента обследованных и составил 31,8% (p<0,05). Уровень витамина Д от 20 до 29 нг/мл оценивали как недостаточность, которая выявлена у наименьшего процента больных атопическим дерматитом (34,8%) и у наибольшего процента пациентов

с заболеваниями ЖКТ (59,1%, p<0,05). Содержание кальцидола было в пределах нормы только у 9,1% лиц с заболеваниями ЖКТ и ни у одного больного атопическим дерматитом (p<0,05) (Рис.).



Рис.1 Концентрация уровня 25-гидроксикальциферола у больных гнездной алопецией с атопическим дерматитом и заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Для выявления взаимосвязи уровня витамина Д с содержанием общего IgE у больных ГА, имеющих атопический дерматит, проведено исследование общего IgE. У 80% пациентов обнаружен повышенный уровень общего IgE (минимальный уровень – 115 Ед/мл, максимальный – 330 Ед/мл, средняя концентрация – 215 Ед/мл). У больных с дефицитом витамина Д повышенный уровень общего IgE наблюдали у 78,8%. При недостаточности 25-гидроксикальциферола в сыворотке крови общий IgE был повышен только у 21,2%. При проведении корреляционного анализа между уровнем витамина Д и содержанием общего IgE у пациентов с ГА и атопическим дерматитом установлена выраженная обратная корреляционная связь (r=-0,503, p=0,0008).

Таким образом, при обследовании 160 пациентов с диагнозом «гнездная алопеция» сопутствующая патология выявлена у 73,8% больных, из которых атопический дерматит встречался у 20%. Средняя концентрация витамина Д у 160 пациентов была снижена и составила $23 \pm 1,5$ нг/мл. Наиболее низкая концентрация витамина Д отмечена у больных атопическим дерматитом. У 65,2% пациентов обнаружен дефицит витамина Д, у 34,8% – недостаточность (p<0,05). Ни у одного больного не было нормального содержания витамина Д в отличие от результатов, полученных В.Ю. Пестовой и соавторами (2015), которые при проведении обследования 122 больных атопическим дерматитом адекватные уров-

ни 1,25(OH)D3 в сыворотке крови (более 30 нг/мл) зарегистрировали у 29 человек (23,7%) [13]. В нашем исследовании при гнездной алопеции дефицит витамина Д (ниже 20 нг/мл) выявлен более, чем у половины пациентов с atopическим дерматитом (65,2%), в группе больных ГА, не имевших atopический дерматит (с заболеваниями ЖКТ), дефицит витамина Д отмечен только у 31,8% ($p < 0,05$). Более выраженный дефицит витамина Д у обследованных лиц обусловлен наличием гнездной алопеции и atopического дерматита. Нарушения эпидермального барьера у больных atopическим дерматитом могут способствовать формированию ГА при наличии общих генетических перестроек, схожих популяций иммунных клеток, цитокинового профиля [8]. Существуют взаимные негативные влияния одного патологического процесса на другой в виде снижения супрессивной активности Т-регуляторных клеток и повышения воспалительной и аутоиммунной активности Th17-лимфоцитов. Показано влияние гиперергического Th2-ответа на клинические проявления ГА, ассоциированной с atopическим дерматитом [8].

Витамин Д – ключевой гормон, модулирующий иммунную реакцию на тканевом уровне. Дефицит витамина Д в сыворотке крови является триггером для индукции аномального аутоиммунитета [3]. Кератиноциты обладают ферментативным механизмом для синтеза активного витамина Д, то есть 1,25-дигидроксивитамина D3 [сывороточный 1,25(OH)D3], и экспрессируют рецептор витамина Д (VDR), который необходим для поддержания нормального цикла волос [2]. Кроме того, 1,25(OH)D3 действует как иммуномодулятор функций врожденного и адаптивного иммунитета, нацеленный на различные иммунные клетки, такие как Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги и дендритные клетки [3].

В нашем исследовании у больных ГА и atopическим дерматитом, имеющих дефицит витамина Д,

выявлен повышенный уровень общего IgE у 78,8%. Обнаружена обратная корреляционная связь между уровнем витамина Д и содержанием общего IgE. С повышением в крови у этой группы больных уровня витамина Д снижался уровень общего IgE. Полученные результаты не противоречат литературным данным. На связь низкого уровня циркулирующего витамина Д с риском развития астмы, atopического дерматита, аллергического ринита и повышенным уровнем общего иммуноглобулина Е указывает ряд работ [10-12]. Однако нет исследований, посвященных связи витамина Д с уровнем общего IgE у больных ГА. До конца не выявлен механизм взаимосвязи общего IgE с концентрацией витамина Д. Известно, что тучные клетки экспрессируют рецептор витамина Д (VDR). Неясно, в какой степени 1 α ,25-дигидроксивитамин D3 (1 α ,25[OH]2D3) или его преобладающий неактивный метаболит-предшественник в кровотоке, 25-гидроксивитамин D3 (25OHD3), может влиять на IgE-опосредованную активацию тучных клеток и пассивную кожную анафилаксию *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании показано, что уровень витамина Д в сыворотке крови у больных гнездной алопецией снижен. Наиболее выраженный дефицит витамина Д выявлен у пациентов с гнездной алопецией, имеющих сопутствующий atopический дерматит. Кроме того, это снижение было тесно связано с уровнем общего IgE. Обнаружена обратная корреляционная связь между уровнем витамина Д и содержанием общего IgE. Больным с ГА и дефицитом витамина Д следует исключать atopию и аллергический фон как фактор, отягощающий течение заболевания. Исследование будет продолжено.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Федеральные клинические рекомендации*. Гнездная алопеция: М., 2020. [Federal clinical guidelines. Nest alopecia: M., 2020. (In Russ.)].
2. Кукушкина К.С., Корнишева В.Г. Витамин D3 и коморбидные состояния при гнездной алопеции. Проблемы медицинской микологии. 2022; 24 (2): 91. [Kukushkina K.S., Kornisheva V.G. Vitamin D3 and comorbid conditions in alopecia areata. Problems of medical mycology. 2022; 24 (2): 91. (In Russ.)].
3. Корнишева В.Г., Кукушкина К.С. Значение витамина D в иммунной системе и патогенезе аутоиммунных процессов кожи (обзор). Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (3): 15-20. [Kornisheva V.G., Kukushkina K.S. Significance of vitamin D in the immune system and pathogenesis of the autoimmune processes of the skin (review). Problems of medical mycology. 2018; 20 (3): 15-20. (In Russ.)].
4. Гаджигороева А.Г. Клиническая трихология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022; 264 с. [Gadzhigoroeva A.G. Clinical trichology. M.: GEOTAR-Media, 2022; 264 p. (In Russ.)].
5. Liu Y., Li J., Liang G., et al. Association of alopecia areata with vitamin d and calcium levels: a systematic review and metaanalysis. Dermatol. Ther. (Heidelb). 2020; 10: 967-983. doi.org/10.1007/s13555-020-00433-4

6. Lee S., Lee H., Lee C.H., Lee W.-S. Comorbidities in alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019; 80 (2): 466-477.e16. doi: 10.1016/j.jaad.2018.07.013
7. Mohan G.C., Silverberg J.I. Association of vitiligo and alopecia areata with atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 2015; 151 (5): 522-528. doi: 10.1001/jamadermatol.2014.3324
8. Петрова С.Ю., Альбанова В.И. Гнездная алопеция у больных атопическим дерматитом: совпадение или закономерность? *РМЖ. Медицинское обозрение.* 2022; 6 (2): 85-91. [Petrova S.Yu., Albanova V.I. Alopecia areata in atopic dermatitis: coincidence or regularity? *Russian Medical Inquiry.* 2022;6 (2): 85-91 (In Russ.)]. doi: 10.32364/2587-6821-2022-6-2-85-91.
9. Пестова В.Ю. Применение альфакальцидола в комплексной терапии атопического дерматита // *Казанский медицинский журнал.* 2015; 96 (6): 952-958. [Pestova Yu. Alfacalcidol use in complex therapy of atopic dermatitis. *Kazan Medical Journal.* 2015; 96 (6): 952-958. (In Russ.)]. doi: 10.17750/KMJ2015-95
10. Demir MG. Comparison of 1 α -25-dihydroxyvitamin D3 and IgE levels between allergic rhinitis patients and healthy people. *Int Arch Otorhinolaryngol.* 2018; 22 (4): 428-431. doi: 10.1055/s-0038-1649492
11. Iraj M., Darvish S., Quej D., et al. Association of serum 25-OH vitamin D3 with serum IgE and the Pediatric Asthma Severity Score in patients with pediatric asthma. *Allergy Asthma Proc.* 2020; 41 (2): 126-133. doi: 10.2500/aap.2020.41.190025
12. Manousaki D., Paternoster L., Standl M., et al. Vitamin D levels and susceptibility to asthma, elevated immunoglobulin E levels, and atopic dermatitis: A Mendelian randomization study/*PLoS Med.* 2017; 14 (5): e1002294. doi: 10.1371/journal.pmed.1002294

Поступила в редакцию журнала 30.10.2022

Рецензент: А.В. Соболев



ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *CANDIDA AURIS* В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ НА ЖИВОТНЫХ

Босак И.А. (с.н.с.)*, Выборнова И.В. (н.с.), Чилина Г.А. (зав. лаб.), Павлова И.Э. (н.с.), Богомолова Т.С. (зав. лаб.), Ковыршин С.В. (студент), Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), Карпов С.А. (зав. лаб.), Оганесян Э.Г. (ассистент кафедры), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО "Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова", Санкт-Петербург, Россия

*В статье приведены результаты изучения вирулентности десяти клинических штаммов *C. auris* на модели экспериментального инвазивного кандидоза у мышей в состоянии иммуносупрессии при внутривенном способе заражения. Получены данные о степени патогенности изолятов *C. auris*, выделенных из различных видов биосубстратов пациентов и различающихся по профилям чувствительности к основным противогрибковым лекарственным препаратам. Дана оценка результатов культуральных и гистологических исследований органов и тканей экспериментальных животных.*

Ключевые слова: экспериментальная модель, нейтропения, вирулентность, *Candida auris*, чувствительность микроорганизмов

VIRULENCE STUDY OF *CANDIDA AURIS* CLINICAL ISOLATES IN THE EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL

Bosak I.A. (senior scientific researcher), Vybornova I.V. (scientific researcher), Chilina G.A. (head of the laboratory), Pavlova I.V. (scientific researcher), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Kovyrshin S.V. (student), Avdeenko Y.L. (senior scientific researcher), Karpov S.A. (head of the laboratory), Oganesyanyan E.G. (assistant of the department), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

* Контактное лицо: Босак Илья Алексеевич,
e-mail: Galina.Chilina@szgmu.ru

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

*The article presents results of the virulence study of ten *C. auris* clinical strains on a model of experimental invasive candidiasis in mice in a state of immunosuppression with an intravenous method of infection. As a result, data were obtained on the degree of pathogenicity of *C. aureus* isolates from various kinds of clinical materials and with different susceptibility profiles to antifungal drugs. The results of cultural and histological investigation of organs and tissues of experimental animals are presented.*

Key words: experimental model, neutropenia, virulence, *Candida auris*, susceptibility of microorganisms.

ВВЕДЕНИЕ

C. auris – новый мультирезистентный возбудитель инвазивного кандидоза, способный вызывать трудно ликвидируемые внутрибольничные вспышки. Этот вид *Candida* включен в «Список приоритетных грибковых патогенов», разработанный Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) [1], в качестве патогена, имеющего критически важное значение. Многие аспекты биологии этого микромицета, включая факторы патогенности, изучены недостаточно. Имеются лишь немногочисленные публикации, посвященные сравнительному изучению вирулентности различных штаммов *C. auris* на экспериментальных моделях [2-6].

Цель работы: изучить вирулентность клинических изолятов *C. auris*, выделенных от пациентов в России, на экспериментальной модели инвазивного кандидоза, обусловленного этим возбудителем, у мышей в состоянии нейтропении при внутривенном способе заражения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные. Использовали самцов беспородных белых мышей с массой тела 18-20 г. Для введения животных в состояние нейтропении внутрибрюшинно вводили Эндоксан (циклофосфан) в дозе 150 мг/кг двукратно по двум схемам. Анализ выживаемости животных проводили в сравнении с использованной ранее схемой четырехкратного введения аналогичной дозы Эндоксана в -3, 0, +4 и +8 дни эксперимента (схема III) [2]:

- 3 и 0-й день (схема I);
- 3 и +4-й день (схема II).

Штаммы грибов. С целью оптимизации схемы введения цитостатического препарата были отобраны два штамма с изученной ранее вирулентностью (табл.1).

Таблица 1

Штаммы *C. auris*, использованные для отработки схемы иммуносупрессии

№ п.п.	№ штамма	Биосубстрат выделения	Данные ДНК секвенирования
1	РКПГ У-1821	кровь	Идентичность 100%, ITS
2	РКПГ У-1945	моча	Идентичность 100%, ITS

Для изучения вирулентности *C. auris* были отобраны 10 штаммов, изолированных от больных в различных стационарах Москвы и Санкт-Петербурга в 2020-2022 гг. Биосубстратом выделения культур *C. auris* были кровь и моча (по 5 штаммов) пациентов с диагнозом COVID-19 и летальным исходом (табл.2).

Таблица 2

Штаммы, использованные для изучения вирулентности *C. auris*

№ п.п.	№ штамма / изолята	Биосубстрат выделения	Данные ДНК секвенирования
1	РКПГ У -2124	кровь	Идентичность 100%, ITS
2	РКПГ У- 2065	кровь	Идентичность 100%, ITS
3	РКПГ У -2209	моча	Идентичность 100%, ITS
4	РКПГ У- 2267	моча	Идентичность 100%, ITS
5	РКПГ У -2228	кровь	Идентичность 100%, ITS
6	РКПГ У - 2268	моча	Идентичность 100%, ITS
7	РКПГ У -2360	моча	Идентичность 100%, ITS
8	С278-Е20	моча	Идентичность 100%, ITS
9	С290-Е20	кровь	Идентичность 100%, ITS
10	С310-Е20	кровь	Идентичность 100%, ITS

Определение чувствительности к противогрибковым препаратам

Чувствительность *C. auris* к противогрибковым лекарственным средствам (ПГЛС) определяли, используя колориметрические планшеты Sensititre YeastOne10 AST (Thermo Fisher Scientific, Великобритания), в соответствии с инструкцией производителя. Минимальной подавляющей концентрацией (МПК) считали концентрацию препарата, при которой наблюдали значимое подавление роста изолята на основании изменения цвета индикатора в сравнении с контрольной лункой, не содержащей препарат, при визуальной оценке.

Интерпретацию результатов проводили в соответствии с рекомендациями CDC (Centers for Disease Control) по тестированию чувствительности к противогрибковым лекарственным средствам для *C. auris* [7]. Пороговыми значениями МПК для резистентных штаммов *C. auris* считали следующие: амфотерицин В ≥ 2 мкг/мл, флуконазол ≥ 32 мкг/мл, анидулафунгин ≥ 4 мкг/мл, каспофунгин ≥ 2 мкг/мл, микафунгин ≥ 4 мкг/мл.

Методика заражения животных. Из суточной культуры гриба на агаре Сабуро в стерильном 0,85%

растворе NaCl готовили взвесь густотой 2 ЕД по МакФарланд. Заражение мышей выполняли путём внутривенного введения в боковую вену хвоста животных 0,5 мл приготовленной взвеси. В качестве контроля была сформирована группа из 9 животных в состоянии нейтропении без заражения.

Наблюдение за зараженными мышами проводили ежедневно, учитывали количество погибших в группах. В день гибели животного стерильно извлекали ткани для культурального и гистологического исследований. Оценку наличия гриба в тканях зараженных мышей осуществляли путем посева органов (лёгкие, почка, печень, селезёнка, сердце и головной мозг) погибших животных на среду Сабуро агар методом отпечатков. Чашки инкубировали в термостате до появления роста культур *C. auris*. Идентификацию выделенных культур грибов выполняли по морфологическим признакам. Вирулентность штаммов оценивали путем сравнения выживаемости животных в группах методом Каплана-Мейера. Данные обрабатывали статистически с помощью программы STATISTICA for Windows.

Гистологическое исследование.

Органы (головной мозг, легкие, сердце, печень, почки, селезенка), взятые у мышей, зараженных различными штаммами *C. auris*, фиксировали в 10% растворе забуференного формалина. Материал проводили через серию изопропилового спирта и гистомикса с помощью гистологического процессора марки Tissue-Tek@ VIP. Затем образец, пропитанный гистомиксом, переносили в заливочную станцию для изготовления парафиновых блоков, с которых на санном микротоме Slide 2003 получали серийные срезы толщиной 3 мкм. Срезы после удаления гистомикса ксиолом окрашивали гематоксилином и эозином, а также PAS-методом. После заключения в среду Bio-Mount срезы просматривали в световом микроскопе Leica Axio Lab A1 и фотографировали при увеличениях 100x, 400x и 1000x.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Чувствительность *C. auris* к противогрибковым препаратам.

Результаты определения чувствительности изучаемых штаммов *C. auris* приведены в таблице 3. Все штаммы были резистентны к флуконазолу и чувствительны к эхинокандинам. Один изолят был резистентным к амфотерицину В. Предполагаемые пороговые значения МПК флуцитозина, позаконазола, итраконазола и вориконазола в отношении *C. auris* в документе CDC [7] отсутствуют.

Таблица 3

Чувствительность штаммов *S. auris* к противогрибковым препаратам (n=10)

№ штамма/ изолята	МПК Флуконазола мкг/мл	МПК Амфотерицина Б мкг/мл	МПК Флуцитозина мкг/мл	МПК Анидулафунгина мкг/мл	МПК Микафунгина мкг/мл	МПК Каспофунгина мкг/мл	МПК Позаконазола мкг/мл	МПК Итраконазола мкг/мл	МПК Вориконазола мкг/мл
РКПГ У-2124	256	2	0,06	0,12	0,12	0,12	0,5	1	4
РКПГ У- 2065	256	1	0,06	0,12	0,12	0,25	0,5	0,5	4
РКПГ У- 2209	256	1	0,12	0,12	0,12	0,25	1	1	8
РКПГ У-2267	256	0,5	0,25	0,12	0,12	0,25	0,25	0,06	0,25
РКПГ У- 2228	128	0,5	0,06	0,12	0,12	0,25	0,03	0,06	0,5
РКПГ У- 2268	256	0,5	0,06	0,06	0,06	0,25	0,03	0,06	0,5
РКПГ У- 2360	64	1	0,06	0,12	0,12	0,12	0,03	0,03	0,12
С278-Е20	128	1	0,06	0,12	0,12	0,25	0,03	0,06	0,25
С290-Е20	256	1	0,12	0,12	0,12	0,25	0,25	0,5	4
С310-Е20	256	1	32	0,12	0,12	0,25	0,5	0,5	4

Выбор схемы иммуносупрессии у животных.

При сравнении выживаемости животных, зараженных *S. auris* РКПГ У-1821, с использованием трех схем иммуносупрессии достоверных различий не выявлено (Рис. 1).

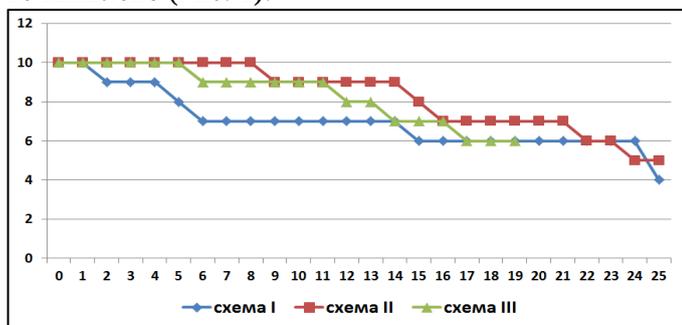


Рис. 1. Выживаемость животных при использовании различных схем иммуносупрессии. Штамм *S. auris* РКПГ У-1821. По оси абсцисс – дни эксперимента, по оси ординат – количество выживших животных.

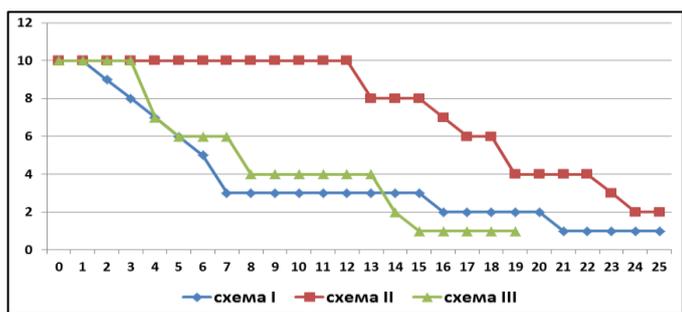


Рис. 2. Выживаемость животных при использовании различных схем иммуносупрессии. Штамм *S. auris* РКПГ У-1945. По оси абсцисс – дни эксперимента, по оси ординат – количество выживших животных.

По результатам анализа выживаемости животных, зараженных *S. auris* РКПГ У-1945, при использовании схемы I и ранее применённой схемы III с четырехкратным введением цитостатического препарата достоверных различий выявлено не было. Дальнейшее изучение вирулентности десяти вышеперечисленных штаммов *S. auris* проводили при двукратном внутрибрюшинном введении Эндоксана

в дозе 150 мг/кг в -3 и 0 дни эксперимента, что предупреждало развитие агранулоцитоза у животных.

Вирулентность штаммов *S. auris*.

При статистической обработке данных о выживаемости лабораторных животных в течение 30 суток после заражения методом Каплана-Мейера (Рис.3) достоверных различий между штаммами по вирулентности для мышей в состоянии нейтропении не обнаружено.

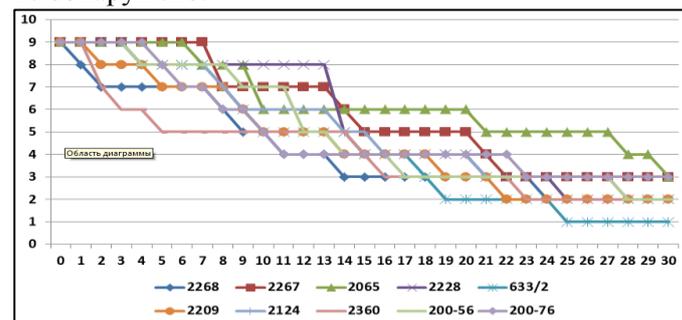


Рис. 3. Выживаемость мышей после заражения различными штаммами *S. auris*.

Медианы выживаемости (количество дней после заражения, за которое погибли 50% животных) для групп мышей, зараженных различными штаммами *S. auris*, составили от 5 до 21 суток (табл. 4).

Таблица 4

Медианы выживаемости животных, зараженных различными штаммами *S. auris*

№ п.п.	№ штамма/изолята	Субстрат выделения	Медиана выживаемости, дни
1.	РКПГ У -2124	кровь	14
2.	РКПГ У -2065	кровь	21
3.	РКПГ У -2209	моча	13
4.	РКПГ У - 2267	моча	15
5.	РКПГ У -2228	кровь	14
6.	РКПГ У - 2268	моча	9
7.	РКПГ У -2360	моча	5
8.	С278-Е20	моча	14
9.	С290-Е20	кровь	10
10.	С310-Е20	кровь	12

При анализе выживаемости животных, зараженных штаммами *C. auris*, выделенными из крови и мочи, различий в зависимости от вида биоматериала выявлено не было ($p=0,24$) (Рис. 4). Гибели животных в контрольной группе без заражения не наблюдали в течение всего периода эксперимента.

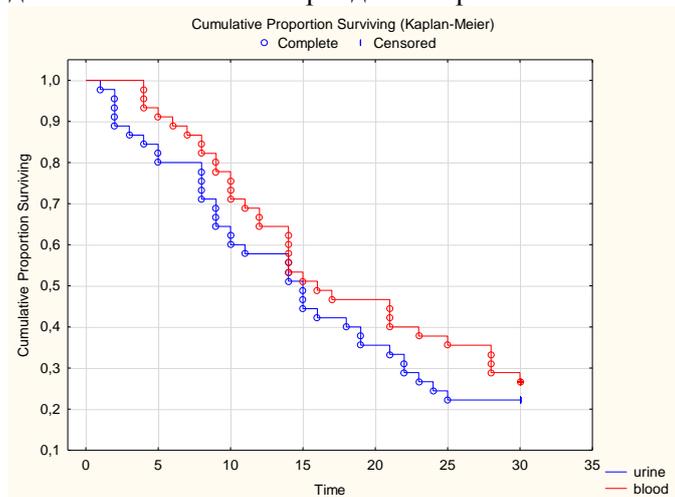


Рис. 4. Сравнение выживаемости животных, зараженных штаммами *C. auris*, выделенными из различных биосубстратов.

Штамм *C. auris* РКПГУ-2124 с МПК амфотерицина Б 2 мкг/мл и изолят *C. auris* С310-Е20 с МПК флуцитозина 32 мкг/мл не отличались по летальности от таковых с более низкими показателями МПК противогрибковых препаратов.

Культуральное исследование.

При посеве на плотную питательную среду рост *C. auris* отмечали во всех пробах биоматериала, полученного от погибших животных. Отсутствие поддерживающей иммуносупрессивной терапии после внутривенного заражения мышей свидетельствует о высокой способности возбудителя к длительной персистенции в организме экспериментальных животных.

Гистологическое исследование.

При гистологическом исследовании патоморфологические изменения в виде очагов альтеративного воспаления, некроза фиксировали преимущественно в почках (Рис. 6), миокарде (Рис. 7,8), печени (Рис. 9), реже – в головном мозге (Рис. 10), в легких (Рис. 11), находили скопления почкующихся дрожжевых клеток гриба сферической формы диаметром 2-4,3 мкм. В почках (мозговой слой, корковый слой, канальцы), миокарде и печени эти многочисленные крупные скопления клеток грибов визуализированы в сосудах и межклеточных пространствах с признаками некроза и лизиса тканей.

Поскольку перед заражением все животные получали цитостатическую терапию для развития нейтропении, в тканях всех мышей были выражены

явления иммуносупрессии, проявляющиеся атрофией и обеднением белой пульпы селезенки, а также отсутствием или наличием скудной воспалительной реакции со стороны макроорганизма на рост и размножение дрожжевых клеток гриба в тканях.

Для заражения использовали 10 разных штаммов гриба, однако существенной разницы в гистологической картине при изучении микропрепаратов не выявлено. Морфологические изменения были сходными во всех исследованных нами органах. Лишь у двух мышей грибы не были обнаружены не во всех органах.

Различия между штаммами отмечали в количестве очагов поражения в тканях, в размерах очагов поражения и в продолжительности жизни мышей от заражения до гибели (табл. 5, Рис. 5).

Таблица 5

Количество очагов роста грибов в различных органах и продолжительность жизни мышей в зависимости от штамма

Штамм	Количество очагов	Продолжительность жизни мышей
РКПГ Y -2268	22,4	8,8
РКПГ Y -2209	10,0	9,8
РКПГ Y -2360	29,6	7,1
РКПГ Y -2228	4,0	13,0
С310-Е20	14,3	11,6
С278-Е20	16,0	11,4
РКПГ Y -2124	23,4	10,4
С290-Е20	48,16	9,1
РКПГ Y -2065	11,6	9,0
РКПГ Y -2267	32,2	11,2

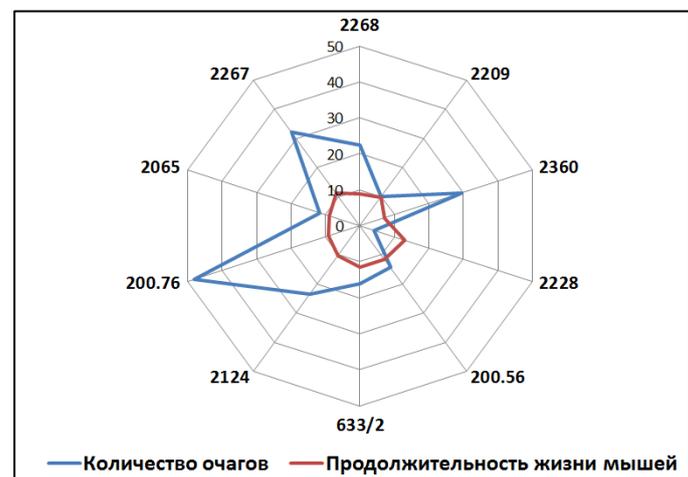


Рис. 5. Числа на диаграмме указывают количество очагов поражения в тканях и продолжительность жизни мышей в днях.

Как видно из таблицы и рисунка 5, наибольшее число очагов роста грибов в тканях вызвали штаммы 200120376, РКПГ Y-2267, РКПГ Y-2360, РКПГ Y-2124 и РКПГ Y-2065.

Зараженные этими штаммами животные погибли раньше других, что при сходной гистологической картине может свидетельствовать о их большей вирулентности по сравнению, например, со штаммом

РКПГ Y-2228, который вызвал наименьшее число очагов в органах мыши с максимальной продолжительностью жизни.

У мыши, зараженной штаммом РКПГ Y-2360 и погибшей через 48 часов после заражения, в очагах некроза миокардиоцитов обнаружены нити псевдомицелия гриба диаметром 1,7-2,2 мкм, длиной до 10 мкм, а также почкующиеся сферические клетки гриба диаметром 2-4,3 мкм.

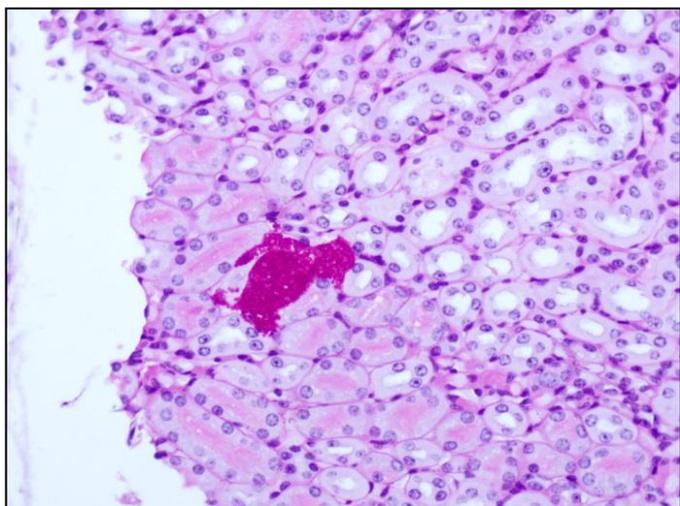


Рис. 6. Почка животного, зараженного штаммом РКПГ Y-2268, 48 часов после заражения, очаговое скопление окрашенных ярко PAS-методом дрожжевых клеток гриба в канальцах мозгового слоя с распространением клеток гриба на окружающие ткани, некрозом канальцев. Воспалительная реакция отсутствует. Окраска PAS-методом, увеличение – 400х.

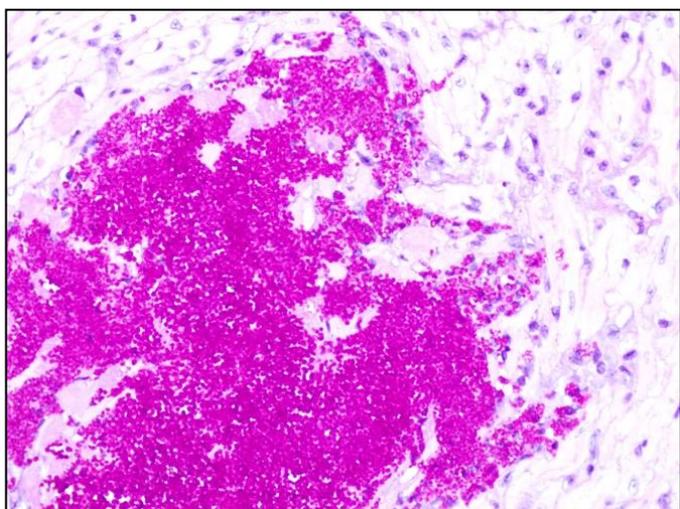


Рис. 7. Миокард животного, зараженного штаммом РКПГ Y-2360, 5 суток после заражения, массивное скопление окрашенных PAS-методом дрожжевых клеток гриба с некрозом и лизисом миокардиоцитов, воспалительная реакция скудная, представлена небольшими скоплениями нейтрофилов, макрофагов. Окраска PAS-методом, увеличение – 400х.

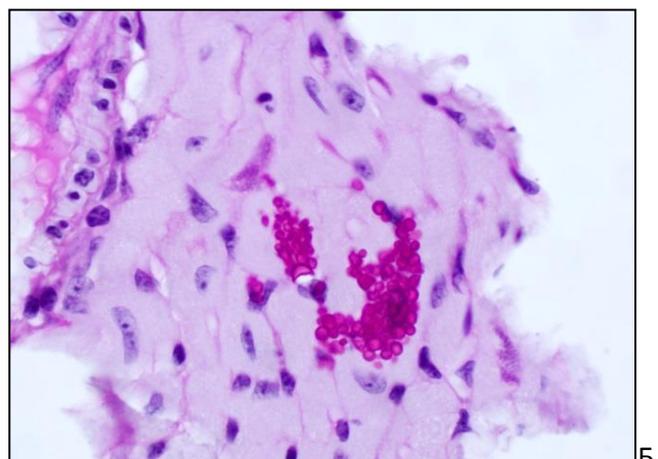
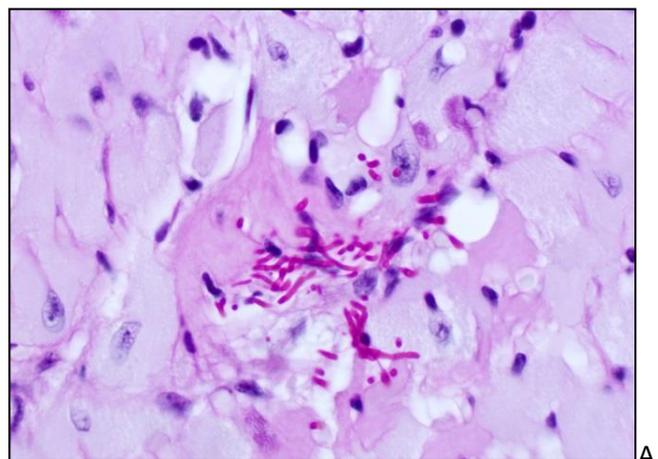


Рис. 8. Миокард животного, зараженного штаммом РКПГ Y-2360, 48 часов после заражения, многочисленные мелкие скопления окрашенных PAS-методом дрожжевых клеток гриба с некрозом миокардиоцитов, воспалительная клеточная реакция отсутствует. На фото А видны нити псевдомицелия гриба диаметром 1,7-2,2 мкм, длиной до 10 мкм, Б – сферические клетки гриба диаметром 2-4,3 мкм. Окраска PAS-методом, увеличение – 1000.

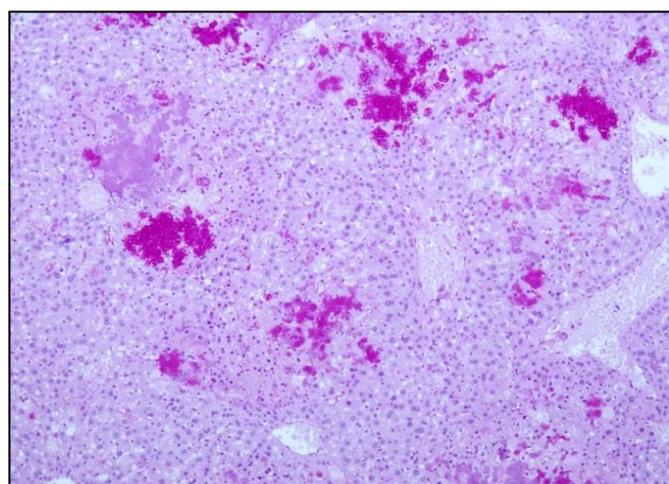


Рис. 9. Печень животного, зараженного штаммом 200157956, 4 дня после заражения, массивные скопления окрашенных PAS-методом дрожжевых клеток гриба в очагах некроза. В ткани печени: венозное полнокровие, дисконфлексация балок, массивные очаги некроза, воспалительная реакция скудная, представлена небольшими скоплениями нейтрофилов. Окраска PAS-методом, увеличение – 100х.

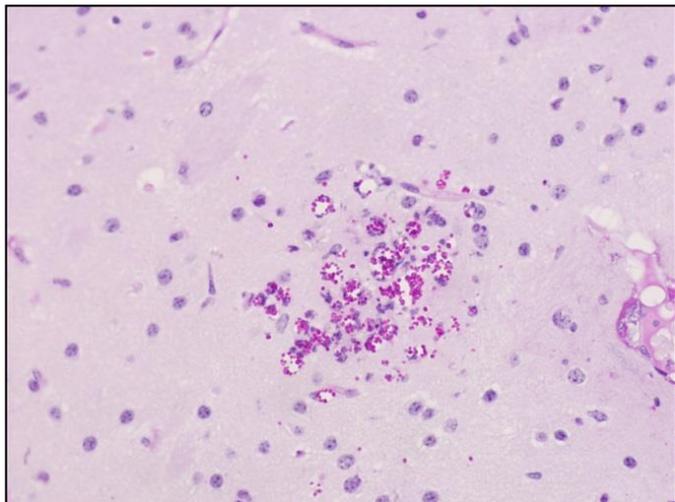


Рис.10. Ткань головного мозга животного, зараженного штаммом РКПГ Y-2268, 8 дней после заражения, мелкие скопления почкующихся дрожжевых клеток гриба, окрашенных ярко PAS-методом. Визуализируются участки лизиса цитоплазмы клеток нейронов, а также участки фагоцитоза глиальными клетками. Окраска PAS-методом, увеличение – 400х.

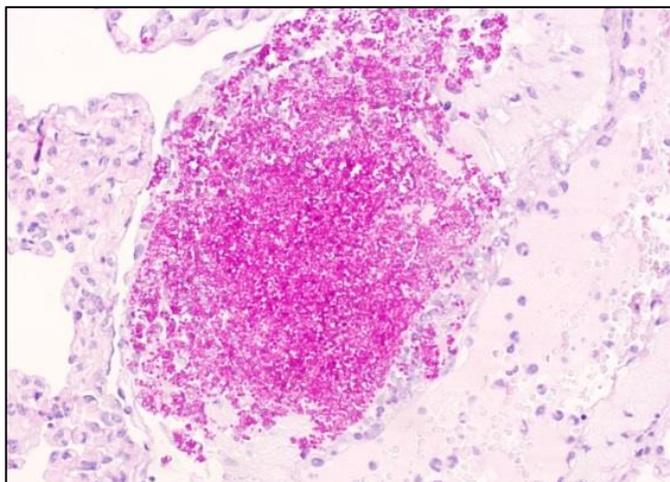


Рис. 11. Легкое животного, зараженного штаммом РКПГ Y-2124, 5 дней после заражения, скопления окрашенных PAS-методом почкующихся дрожжевых клеток гриба в стенке крупного сосуда, стенка утолщенная, почти разрушена, имеются участки прорастания клеток через эндотелий. Воспалительная реакция скудная, представлена небольшими скоплениями нейтрофилов, макрофагов. Окраска PAS-методом, увеличение – 400х.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования нами изучена вирулентность 10 штаммов *C. albicans*, выделенных от пациентов в России, на модели экспериментального кандидоза при внутривенном способе заражения у беспородных мышей в состоянии

нейтропении. Следует заметить, что способность к длительной персистенции *C. albicans* в организме позволяет использовать схему двукратного введения цитостатического препарата, что исключает развитие агранулоцитоза у экспериментальных животных.

В данном исследовании достоверных различий по летальному действию на животных между штаммами не выявлено. Не было обнаружено различий в вирулентности между группами штаммов, изолированных из различных биосубстратов (мочи и крови). Штаммы со сниженной чувствительностью к амфотерицину В и флуцитозину не отличались по вирулентности от штаммов *C. albicans*, чувствительных к этим препаратам. Выявленные нами морфологические изменения при гистологическом исследовании были сходными с описанными в работах других авторов [5]. Между некоторыми штаммами отмечены различия в количестве и размерах очагов поражения в тканях органов погибших животных.

В работе Forgas L. et al.[5] на аналогичной экспериментальной модели было показано, что существенные различия в вирулентности проявляют штаммы *C. albicans*, относящиеся к разным географическим кладам. Наибольшую летальность (96% через 21 день после заражения) проявили штаммы Южно-Американской клады, тогда как штаммы из Южно-Азиатской клады вызывали к этому сроку гибель 80% мышей. Изученные нами изоляты *C. albicans* принадлежат к одной кладе – Южно-Азиатской. Необходимо интенсифицировать дальнейшие исследования патогенности *in vivo* штаммов *C. albicans*, выделенных в различных регионах РФ, что, несомненно, внесет вклад в глобальное изучение свойств патогена, имеющего критическое значение по определению ВОЗ [1].

ВЫВОД

Изученные штаммы *C. albicans*, выделенные из различных биосубстратов больных COVID-19 и отличающиеся по чувствительности к противогрибковым лекарственным средствам, не различаются по вирулентности (выживаемости) при использовании данной экспериментальной модели.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России на 2022-2024 гг. «Генетические биомаркеры и биологические особенности Candida albicans – возбудителя инвазивного кандидоза» (№ НИОКТР 122012100283-8).

ЛИТЕРАТУРА

1. *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. *Borman A.M., Szekeley A., Johnson E.M.* Comparative pathogenicity of united kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. *mSphere*. 2016; 1 (4): e00189-16. doi: 10.1128/mSphere.00189-16
3. *Xin H., Mohiuddin F., Tran J., et al.* Experimental mouse models of disseminated *Candida auris* infection. *mSphere*. 2019; 4 (5): E00339-19. doi: doi.org/10.1128/mSphere.00339-19
4. *Torres S.R., Pichowicz A., Torres-Velez F., et al.* Impact of *Candida auris* infection in a neutropenic murine model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2020; 64 (3): e01625-19. doi: 10.1128/AAC.01625-19
5. *Forgacs L., Borman A.M., Prepost E., et al.* Comparison of *in vivo* pathogenicity of four *Candida auris* clades in a neutropenic bloodstream infection murine model. *Emerging Microbes & infections*. 2020; 9: 1160-1169. doi: 10.1080/22221751.2020.1771218
6. *Васильева Н.В., Босак И.А., Степанова А.А. и др.* Изучение вирулентности мукоромицетов в экспериментальной модели на животных. *Проблемы медицинской микологии*. 2020; 22 (3): 59. [Vasilyeva N.V., Bosak I.A., Stepanova A.A., et al. Virulence study of mucoromycetes in an experimental animal model. *Problems in Medical Mycology*. 2020; 22 (3): 59. (In Russ.)].
7. *Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation*. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>

Поступила в редакцию журнала 24.11.2022

Рецензент: Ю.В. Борзова



ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОФИЛЕЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВАМ *IN VITRO*

Выборнова И.В. (н.с.), Ковыршин С.В. (студент, лаборант-исследователь), Чилина Г.А. (зав. лаб.), Босак И.А. (с.н.с.), Павлова И.Э. (н.с.), Игнатьева С.М. (в.н.с.), Богомолова Т.С. (зав. лаб.)*, Васильев О.Д. (доцент), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Изучены профили чувствительности 68 штаммов Candida spp., депонированных в Российскую коллекцию патогенных грибов и выделенных от пациентов с инвазивным кандидозом в период с 2015 по 2022 гг. Мультирезистентность к азолам и амфотерицину В выявлена у 4 изолятов C. krusei (РКПГ-1728, 1806, 1944, 1806). Резистентными к флуконазолу были 2 штамма C. glabrata (РКПГ-2368, 2377) и 3 штамма C. parapsilosis (РКПГ-1889, 2038, 2553). Полирезистентность к флуконазолу и вориконазолу обнаружена у 1 штамма C. albicans (РКПГ-1997) и у 1 штамма C. parapsilosis (РКПГ-2038).

Ключевые слова: чувствительность, резистентность, противогрибковые лекарственные средства, *Candida* spp., инвазивный кандидоз, коллекция патогенных грибов

CHARACTERIZATION OF *IN VITRO* ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITIES PROFILES OF INVASIVE CANDIDIASIS ETIOLOGICAL AGENTS STRAINS DEPOSITED IN THE COLLECTION

Vybornova I.V. (scientific researcher), Kovyrshin S.V. (student, research assistant), Chilina G.A. (head of the laboratory), Bosak I.A. (senior scientific researcher), Pavlova I.E. (scientific researcher), Ignatieva S.M. (leading scientific researcher), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Vasilyev O.D. (associate professor), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Antifungal susceptibilities profiles were determined for 68 Candida spp. isolates from patients with invasive candidiasis (2015-2022) deposited in the Russian Collection of Pathogenic Fungi. Multidrug resistance to azoles and amphotericine B was revealed in 4 strains of C. krusei (RCPF-1728, 1806, 1944, 1806). Two strains of C. glabrata (RCPF-2368, 2377) and 3 strains of C. parapsilosis (RCPF -1889, 2038, 2553) were resistant to fluconazole. Poly resistance to fluconazole and voriconazole was found in 1 strain of C. albicans (RCPF-1997) and 1 strain of C. parapsilosis (RCPF-2038).

Key words: susceptibility, resistance, antifungal drugs, *Candida* spp., invasive candidiasis

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивный кандидоз (ИК) – тяжелое заболевание, вызываемое условно-патогенными дрожжевыми грибами рода *Candida*, наиболее часто встречающееся у пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Летальность у больных ИК составляет 40-45% [1]. Наиболее распространенным видом рода *Candida*, вызывающим ИК, является *C. albicans*, но такие виды, как *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. auris*, также являются возбудителями значительной части случаев этой инфекции. В научной литературе описано более 40 видов *Candida* spp., способных вызвать ИК, причем соотношение видов в структуре

* Контактное лицо: Богомолова Татьяна Сергеевна, e-mail: tatiyana.bogomolova@szgmu.ru

возбудителей различается в зависимости от географического региона. Так, в многоцентровом исследовании, проведенном в Российской Федерации в период 2011-2014 гг., установлено, что возбудителями ИК были 14 видов *Candida* spp., причем преобладали виды *C. albicans* и *C. parapsilosis* [2].

Для лечения ИК применяют противогрибковые лекарственные средства (ПГЛС), относящиеся к разным классам химических веществ: азола (флуконазол, вориконазол, позаконазол), полиены (амфотерицин В), эхинокандины (каспофунгин, анидулафунгин, микафунгин). Среди возбудителей ИК имеются виды, первично резистентные к некоторым ПГЛС. Так, штаммы *C. krusei* природно резистентны к флуконазолу. Подавляющее большинство изолятов открытого в 2009 г. вида *C. auris*, получившего к настоящему времени широкое распространение в качестве возбудителя внутрибольничного ИК во всем мире, резистентны к флуконазолу и вориконазолу. Для штаммов *C. glabrata* характерна промежуточная чувствительность к флуконазолу и быстрое формирование вторичной резистентности к этому препарату. Среди изолятов других видов рода *Candida*, в том числе *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, изолированных от больных ИК, также встречаются штаммы, резистентные к отдельным или нескольким ПГЛС (мультирезистентные), причем отмечается тенденция к росту частоты резистентности возбудителей кандидоза [3]. В связи с этим необходимо проводить мониторинг чувствительности штаммов *Candida* spp., выделенных из в норме стерильных биоматериалов, к применяемым для лечения ИК ПГЛС.

Первое в России исследование видового состава возбудителей ИК и их чувствительности к ПГЛС было проведено в период 1998-2003 гг. У пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии ряда стационаров Санкт-Петербурга в качестве возбудителей ИК было выявлено 12 видов *Candida* spp. У 50 изолятов стандартизованным диско-диффузионным методом NCCLS M44-P была определена чувствительность к флуконазолу. Резистентные штаммы составили 34% и были представлены преимущественно видами *C. krusei* и *C. glabrata* [4].

В рамках международного многоцентрового исследования ARTEMIS Disk в России было изучено 335 штаммов *Candida* spp., выделенных из крови в период 2003-2008 гг. Резистентность к флуконазолу обнаружена у 16% возбудителей ИК [5].

При изучении чувствительности 322 штаммов *Candida* spp., полученных из в норме стерильных биосубстратов пациентов с ИК в 6 федеральных округах России (2011-2014 гг.), установлено, что резистентными к флуконазолу были 12%, к вориконазолу – 1,6% [6]. В этом исследовании использова-

ли метод серийных микроразведений согласно документу CLSI M27 A3 [7].

Цель работы: определить чувствительность штаммов *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*), выделенных от больных ИК в период 2015-2022 гг. и депонированных в Российскую коллекцию патогенных грибов (РКПГ), к пяти ПГЛС (флуконазолу, вориконазолу, позаконазолу, амфотерицин В и каспофунгину) *in vitro* методом серийных микроразведений согласно документу EUCAST E.Def 7.3.2 [8] и в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы грибов. В исследование включили 68 штаммов грибов рода *Candida* (*C. albicans* – 18, *C. parapsilosis* – 24, *C. glabrata* – 8, *C. krusei* – 8, *C. tropicalis* – 5, *C. guilliermondii* – 5), выделенных из в норме стерильных биоматериалов больных ИК. Видовая идентификация культур дрожжей проведена методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass-Spectrometry). Изученные штаммы *Candida* spp. хранятся в «Российской коллекции патогенных грибов» на базе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Метод определения чувствительности к ПГЛС. Определение чувствительности микромицетов к ПГЛС осуществляли методом серийных микроразведений в жидкой питательной среде согласно протоколу EUCAST E.DEF 7.3.2 (2020) [8] и в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [9]. Использовали субстанции амфотерицина В (US Biological Life Sciences, США), вориконазола, позаконазола, каспофунгина и флуконазола (Sigma-Aldrich, Германия), питательную среду RPMI-1640 с глутамином, без бикарбоната, с 2% глюкозы. Учет результатов проводили с помощью измерения оптической плотности в лунках планшет для микротитрования с плоским дном, используя планшетный спектрофотометр Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия). Значение МПК соответствовало минимальной концентрации препарата в лунке, в которой отмечали значительное снижение оптической плотности ($\geq 90\%$ – для амфотерицина В, $\geq 50\%$ – для остальных ПГЛС) по сравнению с лункой, не содержащей ПГЛС.

Для контроля качества использовали штамм *C. parapsilosis* ATCC 22019 (РКПГ-1245).

Отнесение штаммов *Candida* spp. к той или иной категории чувствительности (чувствительный, уме-

ренно чувствительный, резистентный) проводили согласно клинически значимым пороговым значениям МПК в соответствии с документом EUCAST (версия 3, 2022) [10].

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы STATISTICA for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты определения чувствительности *in vitro* к амфотерицину В, вориконазолу, позаконазолу, каспофунгину и флуконазолу штаммов дрожжей рода *Candida*, выделенных от больных ИК, представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Минимальные подавляющие концентрации противогрибковых лекарственных средств в отношении изученных штаммов *Candida* spp.

Вид гриба (количество штаммов)	Препарат	Минимальные подавляющие концентрации (мг/л)			
		Диапазон	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Среднее геометрическое
<i>C. albicans</i> (18)	Амфотерицин В	0,06 - 0,5	0,25	0,25	0,19
	Вориконазол	0,015 - 4	0,03	0,06	0,05
	Позаконазол	0,007 - 0,06	0,015	0,03	0,02
	Каспофунгин	0,03 - 0,25	0,06	0,25	0,05
	Флуконазол	0,125 - 32	0,25	0,5	0,35
<i>C. krusei</i> (8)	Амфотерицин В	0,25 - 2	1	2	1
	Вориконазол	0,25 - 4	0,5	2	0,84
	Позаконазол	0,015 - 0,5	0,125	0,5	0,1
	Каспофунгин	0,03 - 0,25	0,06	0,125	0,08
	Флуконазол	16 - 32	32	32	29,34
<i>C. parapsilosis</i> (24)	Амфотерицин В	0,06 - 0,5	0,25	0,5	0,23
	Вориконазол	0,015 - 1	0,06	0,25	0,09
	Позаконазол	0,015 - 0,03	0,015	0,03	0,02
	Каспофунгин	0,007 - 4	0,05	0,25	0,38
	Флуконазол	0,125 - 32	1	8	0,89
<i>C. guilliermondii</i> (5)	Амфотерицин В	0,06 - 0,5	0,125	0,25	0,14
	Вориконазол	0,03 - 0,125	0,06	0,06	0,06
	Позаконазол	0,007 - 0,03	0,015	0,03	0,02
	Каспофунгин	0,06 - 1	0,125	0,5	0,19
	Флуконазол	0,125 - 32	2	2	1,74
<i>C. tropicalis</i> (5)	Амфотерицин В	0,125 - 2	0,5	0,5	0,44
	Вориконазол	0,03 - 4	0,06	0,25	0,16
	Позаконазол	0,015 - 0,03	0,015	0,015	0,02
	Каспофунгин	0,03 - 0,06	0,06	0,06	0,05
	Флуконазол	0,5 - 2	1	1	0,87
<i>C. glabrata</i> (8)	Амфотерицин В	0,125 - 0,25	0,25	0,25	0,20
	Вориконазол	0,25 - 2	0,5	1	0,58
	Позаконазол	0,03 - 4	1	2	0,63
	Каспофунгин	0,03 - 0,125	0,06	0,125	0,06
	Флуконазол	8 - 32	16	32	18,66

Примечания: * – минимальная концентрация, подавляющая рост 50% штаммов,

** – минимальная концентрация, подавляющая рост 90% штаммов

Таблица 2

Распределение штаммов *Candida spp.* в зависимости от МПК амфотерицина В, вориконазола, позаконазола, каспофунгина и флуконазола

Вид гриба (количество штаммов)	ПГЛС	МПК (мг/мл)/количество штаммов											
		≤0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	≥32
<i>C. albicans</i> (18)	AMB			2	4	11	1						
	VOR	2	11	3		1				1			
	POS	14	3	1									
	CAS		8	6		4							
	FLU				3	9	5						1
<i>C. krusei</i> (8)	AMB					1	2	1	4				
	VOR					2	2	1	2	1			
	POS	2	1		1	2	2						
	CAS		1	4	2	1							
	FLU											1	7
<i>C. parapsilosis</i> (24)	AMB			1	7	10	6						
	VOR	1	4	9	4	5		1					
	POS	15	9										
	CAS	3		1	1	4	4	7	3	1			
	FLU				1	4	6	8	2		2		1
<i>C. guilliermondii</i> (5)	AMB			2	1	1	1						
	VOR		1	3	1								
	POS	3	2										
	CAS			2	1		1	1					
	FLU				1			1	2				1
<i>C. tropicalis</i> (5)	AMB				1	1	2		1				
	VOR		1	2		1				1			
	POS	3	2										
	CAS		2	3									
	FLU						2	2	1				
<i>C. glabrata</i> (8)	AMB				3	5							
	VOR					1	5	1	1				
	POS					2	1	2	2	1			
	CAS		1	5	2								
	FLU										1	5	2

Примечание: 1) AMB – амфотерицин В, VOR – вориконазол, POS – позаконазол, CAS – каспофунгин, FLU – флуконазол.

2) Цветом выделены ячейки, соответствующие резистентным штаммам.

Все изученные штаммы *C. albicans* были чувствительны к амфотерицину В и позаконазолу. К флуконазолу были чувствительны 17 из 18 штаммов. Один изолят (РКПГ-1997), выделенный из крови недоношенного новорожденного, проявил полирезистентность к флуконазолу и вориконазолу. Еще один изолят (РКПГ-2143), выявленный из крови ВИЧ-инфицированного больного, проявил умеренную чувствительность к вориконазолу (МПК – 0,25 мг/л).

В документе EUCAST [10] не указаны клинически значимые пороговые значения МПК каспофунгина для грибов рода *Candida*, что затрудняет интерпретацию полученных результатов. Установленные значения МПК каспофунгина для изученных штаммов *C. albicans* не превышали 0,25 мг/л. Принимая во внимание пороговые значения МПК каспофунгина, указанные в документах CLSI [11],

можно допустить, что изученные штаммы *C. albicans* чувствительны к этому ПГЛС.

Среди штаммов *C. krusei* обнаружены 4 (РКПГ-1728, 1806, 2522, 1944) с резистентностью к амфотерицину В (МПК – 2 мг/л). Этот вид *Candida* является природно резистентным к флуконазолу: МПК для 7 штаммов составили ≥32 мг/л. Клинически значимые пороговые значения МПК вориконазола и позаконазола в отношении *C. krusei* в документе EUCAST [10] отсутствуют, но приводятся значения эпидемиологических точек отсечения (ЕСOFF). Нами выделены 3 штамма *C. krusei* – РКПГ-1728, 1806, 2397, в отношении которых МПК вориконазола превышали ЕСOFF и составили 2-4 мг/л. МПК позаконазола для изученных штаммов *C. krusei* не превышали ЕСOFF. Выявленные значения МПК каспофунгина для штаммов этого вида не превыша-

ли 0,125 мг/л, что соответствовало категории «чувствительные» по документу CLSI [11].

Таким образом, по результатам определения чувствительности обнаружены 4 штамма *C. krusei*, мультирезистентные к двум классам ПГЛС (азолам и полиенам), – РКПГ-1728, 1806, 2522, 1944.

Все исследованные штаммы вида *C. parapsilosis* были чувствительны к амфотерицину В и позаконазолу. Выявлены 3 изолята (РКПГ-1889, 2038, 2553), резистентные к флуконазолу. Один из этих штаммов (РКПГ-2038) был резистентным и к вориконазолу. Умеренную чувствительность к вориконазолу (МПК – 0,25 мг/л) проявили 5 штаммов *C. parapsilosis*. МПК каспофунгина для штаммов этого вида не превышали 2 мг/л (пороговое значение, согласно CLSI [11]), за исключением одного изолята (РКПГ-2301, МПК – 4 мг/л).

Все изученные штаммы *C. tropicalis* были чувствительны к флуконазолу и позаконазолу. Отмечена устойчивость к вориконазолу у 1 изолята (РКПГ-2147, МПК – 4 мг/л). При исследовании чувствительности *C. tropicalis* к амфотерицину В также обнаружен один изолят, резистентный к этому ПГЛС (РКПГ-2069, МПК – 2 мг/л). МПК каспофунгина для штаммов *C. tropicalis* не превышали 0,06 мг/л (пороговое значение, согласно CLSI [11]).

Все изоляты *C. glabrata* были чувствительными к амфотерицину В (МПК ≤ 0,25 мг/л). К флуконазолу резистентны 2 штамма (РКПГ- 2377, 2368), умеренно чувствительны – 6. Для вориконазола и позаконазола клинически значимые пороговые значения МПК по отношению к *C. glabrata* в документе EUCAST отсутствуют, но приведены значения ECOFF (1 мг/л) для обоих ПГЛС. Среди изученных нами штаммов *C. glabrata* выявлены 3 – РКПГ-2368, 2554, 1965, для которых МПК позаконазола были выше ECOFF, и один штамм (РКПГ-2368) с МПК вориконазола выше ECOFF. МПК каспофунгина для изученных штаммов *C. glabrata* не превышали 0,125 мг/л (пороговое значение, согласно CLSI [11]).

Клинически значимые пороговые значения МПК ПГЛС в отношении штаммов *C. guilliermondii* в документе EUCAST отсутствуют. Приведено лишь значение ECOFF для позаконазола – 0,25 мг/л. Установленные нами значения МПК позаконазола для изученных штаммов этого вида не превышали 0,06 мг/л. Интерпретация результатов определения МПК, полученных для других ПГЛС в отношении *C. guilliermondii*, затруднена. Следует отметить, что максимальные значения МПК получены для флуконазола – до ≥32 мг/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

В последнее десятилетие во всем мире наблюдается тенденция к росту резистентности возбу-

лей инвазивного кандидоза к противогрибковым препаратам, в том числе отмечается появление мультирезистентных штаммов, устойчивых к нескольким классам ПГЛС [1, 3, 12].

Нами изучены профили чувствительности 68 штаммов *Candida* spp., выделенных из стерильных в норме биоматериалов пациентов с инвазивным кандидозом и депонированных в РКПГ, к пяти противогрибковым препаратам референсным методом микроразведений с определением МПК согласно протоколу EUCAST и Российских клинических рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Установлено, что 100% штаммов *C. albicans* чувствительны к амфотерицину В и позаконазолу. Полирезистентность к флуконазолу и вориконазолу выявлена у одного штамма (РКПГ-1997), что согласуется с данными литературы о редкой встречаемости азолрезистентных изолятов *C. albicans* среди возбудителей инвазивного кандидоза (0-5%) [12].

Природной резистентностью к флуконазолу обладает вид *C. krusei* [12, 13], что подтверждают и полученные нами данные: для 7 штаммов МПК составили ≥32 мг/л. Отсутствие утвержденных клинически значимых пороговых значений МПК вориконазола в отношении *C. krusei* затрудняют оценку распространенности устойчивости к этому препарату. Однако учитывая, что у 3 штаммов МПК превышали значение ECOFF, следует заключить, что частота резистентности к вориконазолу не менее 38%, поскольку превышение ECOFF указывает на наличие механизмов резистентности. У 4 штаммов *C. krusei* выявлена устойчивость к амфотерицину В, что свидетельствует о мультирезистентности к двум классам ПГЛС.

Резистентность к азолам обнаружена у штаммов вида *C. parapsilosis*: к флуконазолу резистентны 3 изолята, к флуконазолу и вориконазолу – 1. Умеренную чувствительность к вориконазолу проявили еще 5 изолятов. О перекрестной резистентности к азолам у штаммов *C. parapsilosis* сообщают и исследователи из Франции, хотя доля таких изолятов составила лишь 3% [13].

Среди небольшого количества изученных нами изолятов *C. tropicalis* выявлены по 1 штамму, резистентному к амфотерицину В и вориконазолу. В исследовании, проведенном в Тайване, было установлено, что хотя *C. tropicalis* не является самым распространенным видом среди *Candida non-albicans*, частота резистентности у этого вида выше по сравнению с другими *Candida* spp. [14].

Среди штаммов *C. glabrata* резистентными к флуконазолу были 2. Сходные данные о распространенности резистентности к флуконазолу у штаммов вида *C. glabrata* приводят и зарубежные

исследователи. Кроме того, сообщается о мультирезистентных штаммах *C. glabrata*, устойчивых не только к азолам, но и к эхинокандинам [15]. Так, в Национальном референсном центре по инвазивным грибковым инфекциям Германии при изучении 178 штаммов *C. glabrata*, выделенных от больных ИК, 38% были устойчивы к флуконазолу и 14% – устойчивы и к эхинокандинам [16].

В документе EUCAST [10] отсутствуют клинически значимые пороговые значения МПК каспофунгина, однако они указаны в документе CLSI [11]. Поскольку результаты определения МПК противогрибковых препаратов двумя методами (EUCAST и CLSI) сопоставимы, можно предположить, что изученные нами изоляты грибов рода *Candida*, за исключением одного штамма *C. parapsilosis*, чувствительны к каспофунгину.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мы изучили профили чувствительности 68 коллекционных штаммов возбудителей инвазивного кандидоза, относящихся к 6 видам рода *Candida*, в отношении пяти противогрибковых препаратов. Мультирезистентность к двум классам ПГЛС обнаружена у штаммов *C. krusei* (РКПГ-1728, 1806, 2522, 1944), полирезистентность к азолам – у

C. albicans (РКПГ-1997) и *C. parapsilosis* (РКПГ-2038). Резистентными к флуконазолу были 2 штамма *C. glabrata* (РКПГ-2368, 2377) и 3 штамма *C. parapsilosis* (РКПГ-1889, 2038, 2553). С целью выявления устойчивости к ПГЛС критически важных грибковых патогенов в соответствии с определением ВОЗ, изучения молекулярных механизмов резистентности и разработки диагностических тест-систем по определению биомаркеров резистентности необходимо проводить мониторинг чувствительности возбудителей инвазивного кандидоза к противогрибковым лекарственным препаратам по стандартным методикам в соответствии с протоколами EUCAST и Российскими клиническими рекомендациями по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, сохраняя их в рабочих коллекциях с последующим депонированием в РКПГ.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Минздрава России на 2022-2024 гг. «Разработка средств быстрой диагностики тяжелых грибковых инфекций и индикации генетических маркеров устойчивости возбудителей инвазивного кандидоза к противогрибковым лекарственным средствам» (№ НИОКТР 121111000019-5).

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022
2. Vasilyeva N.V., Raush E.R., Rudneva M.V., et al. Etiology of invasive candidosis agents in Russia: a multicenter epidemiological survey. *Frontiers of Medicine*. 2018; 12 (1): 84-91. doi: 10.1007/s11684-017-0612-x
3. Sanglard D. Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Frontiers of Medicine*. 2016; 3: 11. doi.org/10.3389/fmed.2016.00011
4. Пестова Л.А. Кандидемия и острый диссеминированный кандидоз у больных в отделениях интенсивной терапии. Автореф... канд. дисс. СПб, 2004; 24 с. [Pestova L.A. Candidemia and acute disseminated candidiasis in patients in intensive care units. Author's abstract... cand. diss. St. Petersburg, 2004; 24 p. (In Russ.)].
5. Веселов А.В., Клишко Н.Н., Кречикова О.И. и др. *In vitro* активность флуконазола и вориконазола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS Disk в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008; 10 (4): 345-354. [Veselov A.V., Klimko N.N., Krechikova O.I., et al. *In vitro* activity of fluconazole and voriconazole against more than 10000 yeast strains: results of a 5-year prospective ARTEMIS Disk study in Russia. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2008; 10 (4): 345-354. (In Russ.)].
6. Рауш Е.Р. Особенности возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза. Автореф... канд. дисс. СПб, 2015; 24 с. [Raush E.R. Features of pathogens of nosocomial invasive candidiasis. Author's abstract... cand. diss. St. Petersburg, 2015; 24 p. (In Russ.)].
7. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard – Third edition. CLSI document M27-A3. USA, 2008
8. Arendrup M.C., Meletiadis J., Mouton J.W., et al. EUCAST Definitive Document E.Def 7.3.2 (2020). Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts. www.eucast.org
9. Рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Версия 2021-01. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии.

10. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.3, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures. Version 3, 2022. www.eucast.org
11. *CLSI*. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
12. *Whaley S.G., Berkow E., Rybak S.M., et al.* Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans Candida* species. *Front. Microbiol.* 2017; 7: 2173. doi: 10.3389/fmicb.2016.02173
13. *Desnos-Ollivier M., Lortholary O., Bretagne S., Dromier F.* Azole susceptibility profiles of more than 9000 clinical yeast isolates belonging to 40 common and rare species. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2021; 65 (6): e02615-20. doi: 10.1128/AAC.02615-20
14. *Tseng K., Liao Y., Chen F., Lo H.* A predominant genotype of azole-resistant *Candida tropicalis* clinical strains. *Correspondence.* 2022; 3 (9): E646. doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00179-3
15. *Martinez-Herrera E., Frias-de-Leon M., Hernandez-Castro R., et al.* Antifungal resistance in clinical isolates of *Candida glabrata* in Ibero-America. *J. Fungi (Basel).* 2021; 8 (1): 14. doi: 10.3390/jof8010014
16. *Aldejohann A., Herz M., Martinb R., et al.* Emergence of resistant *Candida glabrata* in Germany. *JAC-Antimicrobial Resistance.* 2021; 3 (3). doi.org/10.1093/jacamr/dlab122

Поступила в редакцию журнала 24.11.2022

Рецензент: О.П. Козлова



XXXI КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)*,
²Леина Л.М. (доцент)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

XXXI CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEROLOGY (EADV)

¹Medvedeva T.V. (dermatovenerologist),
²Leina L.M. (associate professor)

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²St.Petersburg State Pediatric Medical University, St.Petersburg, Russia

7-10 сентября 2022 г. в Милане состоялся очередной XXXI Конгресс Европейской Академии Дерматологии и Венерологии (EADV). Формат проводимого мероприятия был смешанным, очно-заочным.

Прошедшие два года (2020 и 2021) позволяли проводить мероприятия только в заочном (on-line) режиме, что было связано с пандемией новой коронавирусной инфекции, но на посещаемости нынешнего Конгресса это никоим образом не сказалось. В форуме приняли участие делегаты более чем из 170 стран.



Вопросы микологии – это традиционное направление Конгресса EADV. Обсуждению данной тематики был посвящен специальный симпозиум

«Грибковые инфекции кожи», в рамках которого состоялись доклады ведущих микологов из различных стран.

В сообщении Saunte D.M. (Дания) была затронута чрезвычайно интересная тема резистентности при лечении дерматофитий. Отмечена необходимость разделения понятий клинической и микологической резистентности. Подробно освещена история вопроса: случаи резистентности к такому антифунгальному препарату, как гризеофульвин, отмечались с 60-х годов XX века, особенностью наблюдения последних лет явилась нарастающая резистентность к лечению тербинафином. Основное количество случаев в отношении тербинафина опубликовано в Индии. В заключение автор сообщения предложила возможные варианты преодоления резистентности, такие как применение препаратов из новых групп и использование комбинаций различных лекарственных средств.

В докладе выдающегося миколога из Великобритании профессора Hay R.J. были затронуты вопросы микозов у пациентов с иммуносупрессией. Интерес представила демонстрация случаев поражения кожи, вызванных *Talaromyces marneffe* – редкого возбудителя, эндемичного для Юго-Восточной Азии.

В сообщении Lecerc P. (Бельгия), посвященном микозам волосистой части головы, особое внимание было уделено социально-экономическим аспектам данной проблемы. Автор доклада отметила увеличение доли антропофильных возбудителей в этиологической структуре микозов волосистой части головы, что является следствием активной миграции из стран Африки в европейские государства.

Доклад профессора Rodrigues-Cerdeira C. (Испания), касающийся фотодинамической терапии при грибковых инфекциях кожи, для многих представил больше теоретический интерес, т.к. данный метод лечения не является вполне конкурентноспособным по сравнению с медикаментозными стандартными способами лечения.

Микологическая тематика также была освещена и на других симпозиумах, проведенных в рамках Конгресса EADV. Затрагиваемые на форуме темы были чрезвычайно многообразны: большой удельный вес занимали симпозиумы, посвященные атопическому дерматиту и псориазу. Новых данные по патогенезу этих заболеваний, а также применение различных средств биологической терапии находились в центре внимания. Продолжала оставаться актуальной и проблема дерматологических стигм при новой коронавирусной инфекции: несколько заседаний в рамках мероприятия было посвящено проблеме COVID-19.

Следующий XXXII Конгресс EADV планируется провести в Берлине (Германия).

* Контактное лицо: Медведева Татьяна Владимировна,
e-mail: medvedeva43@mail.ru