

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 27 №3



Problems in medical mycology

Vol.27 №3

2025

EDITORIAL BOARD

Chief Editor: N.V. Vasilyeva – Honored Scientist of the Russian Federation, Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor:

K.I. Raznatovsky – M.D., prof. (Russia)

S.N. Khostelidi – M.D. (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)

Gostev V.V. – M.D. (Russia)

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)

Kaftyreva L.A. – M.D., prof. (Russia)

Kotrekova L.P. – M.D. (Russia)

Makarova M.A. – M.D. (Russia)

Mazurov V.I. – M.D., academician of RAMS, prof. (Russia)

Polachek I. – M.D. (Israel)

Samzov A.V. – M.D., prof. (Russia)

Sidorenko S.V. – Corresponding Member of the Russian

Academy of Medical Sciences, M.D., prof. (Russia)

Shadriviva O.V. – M.D. (Russia)

Shevyakov M.A. – 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. 27, № 3, 2025

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, иммунология, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 27, № 3, 2025

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., проф. (Россия)

Заместители главного редактора:

К.И. Разнатовский – д.м.н., проф. (Россия)

С.Н. Хостелиди – д.м.н. (Россия)

А.Е. Тараскина – к.б.н. (Россия)

Ответственный секретарь: Т.С. Богомоллова – к.б.н. (Россия)

Заведующий 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)

Гостев В.В. – к.б.н. (Россия)

Дюпон Б. – доктор медицины (Франция)

Кашкин К.П. – д.м.н., академик РАМН, проф. (Россия)

Кафтырева Л.А. – д.м.н., проф. (Россия)

Котрехова Л.П. – к.м.н. (Россия)

Колбин А.С. – д.м.н., проф. (Россия)

Мазуров В.И. – д.м.н., акад. РАМН, проф. (Россия)

Макарова М.А. – д.м.н. (Россия)

Полачек И. – доктор медицины (Израиль)

Самцов А.В. – д.м.н., проф. (Россия)

Сидоренко С.В. – член-корр. РАМН, д.м.н., проф. (Россия)

Титц Х.-Й. – доктор медицины (Германия)

Хурцилава О.Г. – д.м.н., проф. (Россия)

Цинзерлинг В.А. – д.м.н., проф. (Россия)

Чжан Ф. – доктор медицины (Китай)

Шадрикова О.В. – к.м.н. (Россия)

Шевяков М.А. – д.м.н., проф. (Россия)

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, immunology, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

- Фролова Е.В., Тараскина А.Е., Учеваткина А.Е., Секретарева О.В., Долго-Сабурова Ю.В., Венчакова В.В., Бурзыгина Е.В., Васильева Н.В. Ключевые аспекты иммунопатогенеза и новые терапевтические стратегии для профилактики и лечения вульвовагинального кандидоза (обзор литературы) 3

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ И ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЯ

- Кондратенко О.В., Бичурина П.Н. Особенности микроэкологии параназальных синусов у здоровой популяции и пациентов с муковисцидозом. 19
- Панова Ю.А., Хостелиди С.Н., Мошина С.М., Ковыршин С.В., Богомоллова Т.С., Чилина Г.А., Выборнова И.В., Тараскина А.Е., Васильева Н.В. Инвазивный микоз, обусловленный *Magnusiomyces capitatus* 24
- Чеснокова М.Г., Чесноков В.А. Колонизация дрожжеподобными грибами рода *Candida* и ассоциантами микробиоценоза поверхности протезов полости рта при ортопедической реабилитации. 31
- Ляшук С.С., Хостелиди С.Н., Вагин А.В., Топольскова Н.В., Богомоллова Т.С., Козлова О.П., Борзова Ю.В. Диссеминированный мукормикоз на фоне первичного иммунодефицита (клинический случай) 37
- Корнишева В.Г., Гринева Е.М., Литвиненко Е.А., Гулордава М.Д. Хроническая мигрирующая эритема (хроническая мигрирующая эритема Афцелиуса-Липшютца) – начальная стадия клещевого боррелиоза 45
- Макарова М.А., Кафтырева Л.А., Полев Д.Е., Жамборова С.Х., Саитова А.Т., Есик К.Н., Лузинова Л.Ю., Хохлова Н.Н., Лебедева Е.В., Кондратьева З.Г., Стрельченко О.В., Гордеева С.А., Богданова М.О. Острый энтероколит, обусловленный энтероагрегативной *Escherichia coli*, продуцирующей шигаподобный токсин 49

КЛИНИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- Бондарева Е.А., Евстропов А.Н., Мадонов П.Г., Захарова Л.Н., Бурова Л.Г., Кретьен С.О., Иващенко А.Е., Солдатова М.С., Ярославцев Д.В., Любушкина Е.М. Новый синтетический пептид КАМП-1 и его антимикробные свойства 54
- Рябинин И.А., Васильева Н.В., Чилина Г.А. Действие культуральных жидкостей дрожжей-аскомицетов на MALDI-ионизацию 2,5-дигидроксibenзойной кислоты как основа экспресс-обнаружения роста микроскопических грибов 62

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

- Frolova E.V., Taraskina A.E., Uchevatkina A.E., Sekretareva O.V., Dolgo-Saburova Yu.V., Ventsakova V.V., Burvygina E.V., Vasilyeva N.V. Key aspects of immunopathogenesis and new therapeutic strategies for the prevention and treatment of vulvo-vaginal candidiasis (literature review) 3

CLINICAL MYCOLOGY AND DERAMATOVENEREOLOGY

- Kondratenko O.V., Bichurina P.N. Features of the microecology of paranasal sinuses in a healthy population and patients with cystic fibrosis. 19
- Panova Yu.A., Khostelidi S.N., Moshina S.M., Kovyrshin S.V., Boqomolova T.S., Chilina G.A., Vybornova I.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V. Invasive mycosis caused by *Magnusiomyces capitatus* 24
- Chesnokova M.G., Chesnokov V.A. Colonization by yeast-like fungi of the genus *Candida* and microbiocenosis associates of the surface of oral pro-theses during orthopedic rehabilitation. 31
- Lyashuk S.S., Khostelidi S.N., Vaqin A.V., Topolskova N.V., Boqomolova T.S., Kozlova O.P., Borzova Yu.V. Disseminated mucormycosis on the background of primary immunodeficiency (clinical case) 37
- Kornisheva V.G., Grineva E.M., Litvinenko E.A., Gulordava M.D. Chronic erythema migrans (Afzelius-Lipschutz chronic erythema migrans) – the initial stage of tick-borne borreliosis 45
- Makarova M.A., Kaftyreva L.A., Polev D.E., Zhamborova S.H., Saitova A.T., Esik K.N., Luzinova L.Yu., Khokhlova N.N., Lebedeva E.V., Kondratyeva Z.G., Strelchenko O.V., Gordeeva S.A., Bogdanova M.O. Acute enterocolitis caused by enteroaggregative *Escherichia coli* producing shigal-like toxin 49

CLINICAL AND MEDICAL MICROBIOLOGY

- Bondareva E.A., Evstropov A.N., Madonov P.G., Zakharova L.N., Burova L.G., Cretien S.O., Ivashenko A.E., Soldatova M.S., Yaroslavtsev D.V., Lyubushkina E.M. New synthetic peptide CAMP-1 and its antimicrobial properties.. 54
- Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Chilina G.A. Impact of ascomycete yeast culture fluids on MALDI-ionization of 2,5-dihydroxybenzoic acid as the basis for rapid detection of microscopic fungal growth 62

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина

Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45

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

E-mail: mycobiota@szgmu.ru, elena.gukova@szgmu.ru. Manager of Editorial Office: E.S. Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Рег. № 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 20.10.2025 г., дата выхода в свет 24.10.2025 г.

Для цитирования: Фролова Е.В., Тараскина А.Е., Учеваткина А.Е., Секретарева О.В., Долго-Сабурова Ю.В., Венчакова В.В., Бурьгина Е.В., Васильева Н.В. Ключевые аспекты иммунопатогенеза и новые терапевтические стратегии для профилактики и лечения вульвовагинального кандидоза (обзор литературы). Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 3-18. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-3-18

For citation: Frolova E.V., Taraskina A.E., Uchevatkina A.E., Sekretareva O.V., Dolgo-Saburova Yu.V., Ventsakova V.V., Burygina E.V., Vasilyeva N.V. Key aspects of immunopathogenesis and new therapeutic strategies for the prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis (literature review). Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 3-18. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-3-18

КЛЮЧЕВЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА И НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВУЛЬОВОАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Фролова Е.В. (зав. лаб.),* Тараскина А.Е. (зав. лаб.), Учеваткина А.Е. (с.н.с.), Секретарева О.В. (н.с.), Долго-Сабурова Ю.В. (врач-гинеколог), Венчакова В.В. (лаборант-исследователь), Бурьгина Е.В. (ассистент), 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

Candida spp., являясь представителями нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек человека, могут вызывать оппортунистические заболевания, начиная от поверхностных инфекций до опасного для жизни инвазивного кандидоза. В настоящее время вульвовагинальный кандидоз (кандидозный вульвовагинит, КВВ) занимает второе место среди всех инфекций влагалища и является одной из распространенных причин обращения женщин за медицинской помощью. Рецидивирующий КВВ (РКВВ) характеризуется 4 или более эпизодами заболевания в год, развивается примерно в 5-10% случаев и существенно влияет на качество жизни пациентов. В соответствии с современными представлениями, в основе иммунопатологических процессов КВВ/РКВВ лежит сочетание патологической активности грибов рода *Candida*, таких как диморфный переход микромицетов в гифальную форму и продукция широкого спектра факторов вирулентности с неконтролируемыми воспалительными реакциями слизистой оболочки влагалища, обусловленной активацией инфламасомы NLRP3 и привлечением дисфункциональных нейтрофилов в очаг инфекции.

В обзоре обсуждены последние достижения в понимании механизмов взаимодействия эпителиальных клеток влагалища, клеток врожденного и адаптивного иммунитета и грибов рода *Candida* при КВВ/РКВВ. Также приведены сведения о разрабатываемых вакцинах и терапевтических средствах в борьбе с вагинальными грибковыми заболеваниями.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз, *Candida spp.*, иммунный ответ, инфламасома, воспаление влагалища, факторы вирулентности *Candida*, *Lactobacillus spp.*, пробиотики, противогрибковые лекарственные препараты, вакцины

KEY ASPECTS OF IMMUNOPATHOGENESIS AND NEW THERAPEUTIC STRATEGIES FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF VULVOVAGINAL CANDIDIASIS (LITERATURE REVIEW)

Frolova E.V. (head of the laboratory), Taraskina A.E. (head of the laboratory), Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), Sekretareva O.V. (scientific researcher), Dolgo-Saburova Yu.V. (gynecologist), Ventsakova V.V. (research assistant), Burygina E.V. (assistant), 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

Candida spp., being representatives of the normal microbiota of human skin and mucous membranes, can cause opportunistic diseases ranging from superficial infections to life-threatening invasive candidiasis.

Currently, vulvovaginal candidiasis (vulvovaginitis candidiasis, VVC) ranks as the second most common vaginal infection and is one of the most common causes of women seeking medical care. Recurrent VVC (RVVC) is characterized by 4 or more episodes of the disease per year, develops in about 5-10% of cases and significantly impacts patients' quality of life. According to modern concepts, the basis of the immunopathological processes of VVC/RVVC is a combination of the pathological activity of fungi of the genus *Candida*, such as the dimorphic switch of microfungi into a hyphal form and the production of a wide range of virulence factors, with uncontrolled inflammatory reactions of the vaginal mucosa caused by the activation of the NLRP3 inflammasome and the attraction of dysfunctional neutrophils to the infection site.

The review discusses recent advances in understanding the mechanisms of interaction between vaginal epithelial cells, cells of innate and adaptive immunity, and *Candida spp.* in VVC/RVVC. It also provides information on vaccines under development and therapeutic agents for combating vaginal fungal infections.

Key words: vulvovaginal candidiasis, *Candida spp.*, immune response, inflammasome, vaginal inflammation, *Candida* virulence factors, *Lactobacillus spp.*, probiotics, antifungal drugs, vaccines

* Контактное лицо: Фролова Екатерина Васильевна,
e-mail: ekaterina.frolova@szgmu.ru

ВВЕДЕНИЕ

Грибы являются малоизученными представителями микробиоты человека. Они могут существовать в качестве комменсалов, не приводя к заболеваниям, но при определенных условиях, например, при ослаблении иммунитета, становятся патогенными, вызывая грибковые инфекции. *Candida albicans* – один из наиболее распространенных грибковых представителей микробиоты кожи и слизистых оболочек обнаруживается примерно у 70-80% здоровых людей [1]. Как условно-патогенный микроорганизм *C. albicans* вызывает широкий спектр заболеваний, начиная от поверхностных поражений кожи и слизистых оболочек, до тяжелых, угрожающих жизни инвазивных форм. Наиболее распространенной инфекцией человека, обусловленной *C. albicans*, является вульвовагинальный кандидоз (кандидозный вульвовагинит, КВВ), который поражает примерно 75% женщин по крайней мере один раз в течение жизни [2, 3]. Примерно 5-10% женщин репродуктивного возраста подвержены рецидивирующему КВВ (РКВВ), который характеризуется 4 или более эпизодами заболевания в год. По последним оценкам, около 350 миллионов женщин во всем мире страдают от РКВВ в течение жизни, что существенно сказывается на ее качестве и имеет неблагоприятный социально-экономический эффект [4]. Несмотря на высокие медицинские расходы, на текущий момент не существует высокоэффективных диагностических и терапевтических стратегий у пациентов с КВВ/РКВВ. Применение флуконазола в качестве поддерживающей терапии для предотвращения рецидива РКВВ может привести к возникновению резистентности к противогрибковым препаратам грибов рода *Candida* [5]. Кроме того, в последнее время частота видов *Candida non-albicans* (НАС) и атипичного КВВ стремительно растет, что затрудняет использование стандартных методов лечения [6, 7].

Отметим, что *Candida* spp. обнаруживаются в половых путях у 20-30% здоровых женщин детородного возраста в качестве резидентной микробиоты влагалища [8]. При исследовании вагинального содержимого пациентов с КВВ в 70-90% случаев выявляют *C. albicans*. Другие часто встречающиеся виды включают *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis*, а также иные виды *Candida*, относящиеся к НАС [9]. В результате взаимодействия эпителиальных клеток влагалища и резидентных микроорганизмов, которое регулируется эндокринной и иммунной системами, формируется микрорекосистема влагалища. Вагинальный микробиом способствует поддержанию комменсализма грибов рода *Candida*. *Lactobacillus* spp. преобладают у 96% здоровых женщин, являются основными представителями облигатной микробиоты, выполняют защитную функцию, связанную с колонизирующей способностью и непосредственной антимикробной активностью [10]. Поэтому неудивительно, что экзогенным

фактором риска КВВ является антибактериальная терапия, которая влияет на состав микробиоты влагалища [3]. *Lactobacillus* spp. способны вырабатывать короткоцепочечные жирные кислоты, в частности, некоторые штаммы производят бутират, который подавляет рост патогенных дрожжей [11]. Лактат, вырабатываемый всеми лактобациллами, играет ключевую роль в повышении кислотности влагалища и рассматривается как основное антимикробное соединение из-за его способности модулировать патогенность *Candida* spp. [12, 13]. Тем не менее, в отличие от бактериального вагиноза, pH влагалища обычно не меняется у пациентов с КВВ, что свидетельствует о том, что низкий pH влагалища не может предотвратить развитие кандидозной инфекции [14].

В соответствии с современными представлениями, в основе иммунопатологических процессов КВВ/РКВВ лежит сочетание патологической активности грибов рода *Candida* с неконтролируемыми воспалительными реакциями слизистой оболочки влагалища [15]. Различные факторы могут способствовать возникновению КВВ/РКВВ, например, дисбиоз влагалища, диабет, беременность, заместительная гормональная терапия и использование оральных контрацептивов [3]. Однако эти факторы не являются общими для всех пациентов с КВВ или РКВВ, и у многих женщин не установлены какие-либо состояния, однозначно предрасполагающие к инфекции [2, 4]. В отличие от кандидоза других локализаций, при КВВ не выявлены признаки угнетения клеток адаптивного иммунитета [15]. Напротив, механизмы иммунного ответа, ответственные за защиту от инвазивного кандидоза и орофарингеального кандидоза (ОФК), способствуют иммунопатологическим реакциям и тяжести течения КВВ/РКВВ. Впервые Fidel P.L. с соавторами высказали гипотезу, что патогенез КВВ/РКВВ обусловлен особенностями взаимодействия грибов рода *Candida* с эпителиальными вагинальными клетками (ЭВК). У здоровых женщин, которые были инфицированы живыми *C. albicans*, клинические симптомы заболевания развивались вследствие неконтролируемого воспалительного ответа, связанного с продукцией IL-1 β и привлечением нейтрофилов [16]. Эта гипотеза существенно поменяла парадигму иммунопатогенеза КВВ/РКВВ и нашла подтверждение в других исследованиях [17, 18]. Напротив, состояние толерантности, способствующее бессимптомной колонизации нижних половых путей *Candida* spp., может быть достигнуто только тогда, когда иммунная система макроорганизма не реагирует на их присутствие [15]. Yano J. с соавт. предложили термин «порог активации ЭВК», обозначающий механизм, поддерживающий состояние гомеостаза за счет индукции иммунологической толерантности, предотвращающей воспалительную реакцию [18].

В обзоре представлены последние достижения в понимании механизмов взаимодействия эпителиальных клеток влагалища, клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа и грибов рода *Candida* при КВВ/ПКВВ. Также приведены сведения о разрабатываемых вакцинах и терапевтических средствах в борьбе с вагинальными грибковыми заболеваниями.

Роль эпителиальных клеток влагалища во взаимодействии с грибами рода *Candida* и развитии воспалительного процесса.

Эпителиальные клетки слизистой оболочки влагалища являются первыми клетками, вступающими в прямой контакт с микроорганизмами и препятствующими их адгезии и вторжению в подлежащие ткани. ЭВК экспрессируют на своей поверхности рецепторы распознавания образов (pattern recognition receptors, PRRs), с помощью которых связывают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), консервативные структуры, входящие в состав различных микроорганизмов. Клеточная стенка *C. albicans* состоит из двух слоев: внешний слой обогащен маннопротеином, внутренний слой содержит скелетные полисахариды β -1,3-глюкан и хитин [19]. Основными рецепторами, участвующими в обнаружении *C. albicans*, являются Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLR), среди них: TLR2 и TLR4, лектиновый рецептор С-типа (C-type Lectin Receptors, CLR), Dectin-1 и неклассический PRR – рецептор эфрина типа А 2 (ephrin-type-A receptor 2, EphA2) [20]. Стимуляция PRRs вызывает синтез широкого спектра иммунологических медиаторов, обладающих противогрибковой активностью. Прежде всего, это антимикробные пептиды, такие как нейтрофильный желатиназный липокалин, лактоферрин, кальпротектин, бета-дефензины и кателицидины, а также маннозосвязывающий лектин (MBL) [21]. Установлено, что женщины с дефицитом MBL, обусловленным генетическим полиморфизмом, более восприимчивы к РКВВ [22]. Интерфероны (IFN) I типа, синтез которых запускается активацией митохондриальной ДНК, как было показано на клеточной линии вагинальных эпителиальных клеток, повышают их устойчивость к *Candida* spp. и подавляют воспалительные реакции [23]. Роль интерферонов I типа в поддержании вагинального гомеостаза подтверждена наблюдением, что у здоровых женщин уровень IFN- β , в отличие от IFN- α , в вагинальной жидкости был значимо выше, чем у женщин с КВВ [24]. Гликоген, синтезируемый в ЭВК под действием эстрогенов, расщепляется *Lactobacillus* spp. до молочной кислоты, что необходимо для поддержания кислой pH влагалищной среды. В условиях кислой среды *Lactobacillus* spp. конкурируют с другими микроорганизмами за возможность адгезии к ЭВК, а также стимулируют иммунные клетки к выработке sIgA и антимикробных

пептидов [25]. Таким образом, согласованные действия различных защитных механизмов на уровне клеток слизистых оболочек влагалища препятствуют колонизации нижних отделов половых путей грибами рода *Candida*.

Тем не менее *Candida* spp. обычно присутствуют в вагинальном содержимом в небольшом количестве. ЭВК способны различать комменсальную дрожжевую Y-форму и патогенную гифальную H-форму грибов. Активация механизмов локального врожденного иммунитета макроорганизма зависит как от морфотипа, так и от уровня грибковой нагрузки [26]. Установлено, что переход *Candida* spp. в гифальную форму и увеличение количества грибковых клеток вызывают интенсивную воспалительную реакцию [27]. Первоначально клетки микромицетов способны прикрепляться к поверхности ЭВК за счет сил Ван-дер-Ваальса, гидрофобных и электростатических взаимодействий. Впоследствии межмолекулярные контакты усиливаются и стабилизируются за счет связывания грибковых адгезинов с поверхностными рецепторами клеток и компонентами внеклеточного матрикса [28-30]. Наиболее изученными являются адгезины с агглютининоподобной последовательностью (Als), образующие семейство, состоящее из восьми представителей (Als1-7 и Als9). Диморфный переход от дрожжевой к гифальной форме приводит к экспрессии дополнительных адгезинов, таких как Als3p, Hwp1p (гиф-ассоциированный GPI-связанный белок) и Ssa1p (поверхностный белок, относящийся к семейству белков теплового шока Hsp70). Эти белки усиливают прикрепление микромицетов к ЭВК, взаимодействуя с Е-кадгеринном – ключевым компонентом межклеточных соединений [31] и с гетеродимерным рецепторным комплексом, состоящим из рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и Her2 (EGFR/Her2) [32].

После адгезии гифы *Candida* spp. могут проникать в ЭВК посредством двух взаимодополняющих механизмов: индуцированного эндоцитоза и активной пенетрации. Индуцированный эндоцитоз опосредуется взаимодействием грибковых белков Ssa1p и Als3p с кадгеринами и EGFR/Her2 [33, 34]. Активная пенетрация обусловлена вдавливанием гиф микромицетов в мембрану ЭВК и повреждением ее целостности за счет высвобождения факторов вирулентности, включая цитолитический пептидный токсин кандидализин, секреторные аспартилпротеиназы (Sap), липазы и фосфолипазы. Moyes D.L. с коллегами установили, что удаление гена *ECE1*, кодирующего кандидализин, делает *C. albicans* практически неспособными наносить вред ЭВК [35]. Взаимодействие ЭВК и *C. albicans* инициирует внутриклеточный сигнальный путь, центральным компонентом которого являются транскрипционный фактор NF- κ B и двухфазный ответ MAPK (mitogen-activated protein kinase, митоген-акти-

вируемая протеинкиназа). При низкой степени колонизации *Candida* spp. происходит активация NF-κB, первой фазы ответа MAPK и стимуляция фактора транскрипции c-Jun, но этого недостаточно для полноценной индукции механизмов врожденного иммунного ответа [36, 37]. В том случае, когда количество грибов превышает определенный порог, активируется вторая пролонгированная фаза ответа MAPK и, как следствие, фактор транскрипции c-Fos, что приводит к синтезу провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-1α, IL-6, IL-8 и гранулоцитарно-макрофагального колонистимулирующего фактора (GM-CSF) [37]. Roselletti E. с соавторами выявили активацию внутриклеточных сигнальных путей (NF-κB/c-Fos и p-38) и повышенный синтез IL-1β и IL-8 на уровне слизистой оболочки влагалища в группе пациенток с РКВВ, в отличие от здоровых женщин и бессимптомных носителей *C. albicans* [38]. Показано, что кандидализин индуцирует c-Fos и митоген-активируемое протеинкиназой высвобождение провоспалительных цитокинов IL-1α, IL-1β и хемокина IL-8 в линии вагинальных эпителиальных клеток A431, что подтверждает важную роль фактора вирулентности, связанного с гифами, в иммунопатогенезе КВВ [39].

Состояние иммунитета при КВВ/РКВВ.

Роль нейтрофилов и макрофагов в иммунопатогенезе КВВ/РКВВ.

Провоспалительные хемокины и цитокины, высвобождаемые ЭКВ в ответ на взаимодействие с *Candida* spp., привлекают к очагу инфекции профессиональные фагоциты, такие как нейтрофилы, макрофаги и дендритные клетки (DC). Как и ЭВК, фагоцитарные клетки распознают компоненты клеточной стенки грибов за счет широкого спектра PRRs, включая TLR-2, TLR-4, Dectin-1, Dectin-2 и рецептор маннозы, что приводит к активации внутриклеточных сигнальных путей и развитию воспалительного иммунного ответа [40]. Распознавание β-глюкана рецептором Dectin-1 запускает фагоцитоз, активацию инфламасом, продукцию цитокинов/хемокинов, респираторный взрыв, образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) и активацию Т-клеток [41]. Dectin-2 связывает α-маннан грибковых патогенов и участвует в запуске продукции цитокинов через сигнальную ось Syk-CARD9-NF-κB [42] и в высвобождении NETs через NADPH-оксидазо-независимый путь [43]. Rosentul D.C. с соавторами выявили, что генетическая вариация в TLR2 ассоциирована с риском развития РКВВ за счет подавления механизмов защиты макроорганизма от *Candida* spp. [44].

Среди фагоцитарных клеток нейтрофилы считаются наиболее эффективными в борьбе с инфекциями, вызванными *Candida* spp., поскольку они могут убивать как дрожжевые, так и гифальные формы посредством внутриклеточных и внеклеточных механизмов.

Внутриклеточный механизм опосредован фагоцитозом, гидролитическими ферментами, антимикробными пептидами и активными формами кислорода (ROS), в то время как внеклеточный механизм включает высвобождение NETs, аутофагию и синтез ROS [41, 45]. Нейтрофилы за счет продукции TNF-α и IL-12 участвуют в активации DC, которые в свою очередь вырабатывают IL-6 и IL-23, что определяет сдвиг дифференцировки наивных Т-хелперов (Th) в Th17 [46]. Однако Zambrano F. с коллегами обнаружили, что механизмы уклонения *C. albicans* от действия NETs могут быть связаны с продукцией ДНКазы и образованием биопленки на поверхности слизистой оболочки влагалища [47]. Помимо кандидализина, секретируемые Sap представляют собой важные факторы вирулентности *C. albicans* [36]. В экспериментальном исследовании на мышах установлено, что Sap2 и Sap6 ответственны за выработку хемокинов IL-8 и MIP-2 вагинальными эпителиальными клетками, хемотаксис нейтрофилов и развитие асептического воспаления влагалища [48]. Показано, что Sap1 и Sap2 вызвали повреждение эпителиальных клеток влагалища [49]. Sap4 и Sap5, связанные с переходом грибов в гифальную форму, способствовали хемотаксису нейтрофилов в слизистую оболочку влагалища, что предполагает их участие в патогенезе кандидозной инфекции [50]. Мутанты *C. albicans*, лишенные комбинации генов SAP1, SAP2 и SAP3, продемонстрировали сниженную вирулентность в модели КВВ у мышей [51]. Напротив, по данным другого экспериментального исследования, делеция SAP1-3 не повлияла на колонизационную активность грибов, содержание нейтрофилов и IL-1β, определяемых в вагинальном содержимом. Лишение грибов способности к продукции либо Sap4-6, либо Sap5 по отдельности снизило инфильтрацию нейтрофилов и продукцию IL-1β без изменения количества *C. albicans*. Полученные результаты позволили предположить, что не все белки Sap в равной степени участвуют в патогенезе КВВ [52].

Поскольку нейтрофилы погибают во время нетоза, последующее высвобождение их ядерного и цитоплазматического содержимого может способствовать воспалению влагалища и приводить к повреждению тканей. Несмотря на активное привлечение нейтрофилов в просвет влагалища, они не только не способны уничтожить *C. albicans*, но и усугубляют повреждение, вызванное грибами, что приводит к усилению непротекторной провоспалительной реакции [15]. Одним из механизмов, лежащим в основе дисфункции нейтрофилов у пациентов с КВВ/РКВВ, является наличие специфических факторов, которые могут ингибировать эффекторные функции миелоидных клеток. Так, нарушение микробицидной активности нейтрофилов может быть обусловлено неспособностью рецептора комплемента 3 (CR3) взаимодействовать

вать с белком клеточной стенки грибка рН-регулируемым антигеном 1 (Pra1). В обычных условиях взаимодействие CR3 с Pra1 приводит к образованию NETs и эффективному уничтожению гифальной формы грибов [53]. Однако это взаимодействие ингибируется в вагинальной жидкости гепарансульфатом, который конкурентно связывается с CR3, предотвращая его взаимодействие с Pra1, что способствует выживанию *Candida spp.* и развитию инфекционного процесса [18]. Синтез гепарансульфата индуцируется эстрогеном. Это дает возможность предположить, что женщины с высоким уровнем эстрогена более склонны к возникновению КВВ/ПКВВ. Ardizzoni A. с соавторами выявили, что перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела (pANCA), содержание которых значимо выше у пациенток с КВВ по сравнению со здоровыми женщинами, существенно снижают способность нейтрофилов к уничтожению грибов. Значительное увеличение pANCA обнаружено в белковом экстракте клеточной фракции вагинального лавжа у пациенток в фазе обострения КВВ по сравнению с бессимптомными носителями *C. albicans*. Инкубация нейтрофилов периферической крови с pANCA *ex vivo* привела к значительному снижению способности фагоцитов разрушать *C. albicans* [54]. Однако необходимы дополнительные исследования, чтобы определить вклад аутоантител и гепарансульфата в развитие заболевания.

Макрофаги активно поглощают грибковые клетки, но способность к внутриклеточному уничтожению у них ниже, чем у нейтрофилов [55]. Гифальная форма *C. albicans* относительно устойчива к фагоцитозу и способна ускользать от микробицидных механизмов макрофагов с помощью нескольких стратегий. В частности, кандидализин и ответственный за механизмы пироптоза гасдермин D вызывают повышение проницаемости мембраны макрофагов [56, 57]. Это способствует не только иммунному уклонению *C. albicans*, но и развитию воспалительных процессов, и подразумевает, что макрофаги также могут играть определенную роль в иммунопатогенезе КВВ/ПКВВ.

Роль адаптивного иммунного ответа в иммунопатогенезе КВВ/ПКВВ

В то время как успешное уничтожение *C. albicans* в значительной степени зависит от активности нейтрофилов, роль адаптивного иммунитета при КВВ/ПКВВ остается не совсем ясной. Среди клеток адаптивного иммунитета Th17 играют доминирующую роль в координации защитного иммунного ответа слизистых оболочек при ОФК и хроническом кандидозе кожи и слизистых (ХККС) [58-60]. Повышенный риск грибковых инфекций, включая кожный и урогенитальный кандидоз, наблюдался у пациентов с псориазом, получавших ингибиторы IL-17 [61]. В исследовании на экс-

периментальных животных показано, что IL-17 активирует ЭКВ к синтезу антимикробных пептидов и таким образом контролирует рост *C. albicans* [62]. Напротив, Yano J. с коллегами использовали генетически модифицированные линии мышей и установили, что дефицит IL-17 не влиял на хемотаксис и функциональную активность нейтрофилов при КВВ [63]. Peters В.М. с соавторами также продемонстрировали, что иммунная ось Th17/IL-17/IL-22 не является необходимой для противогрибковой защиты при экспериментальном КВВ у мышей [64]. По данным Monin L. с коллегами, преобладающими клетками, секретирующими IL-17 в слизистой оболочке влагалища, являются $\gamma\delta$ Т-лимфоциты, а у мышей с дефицитом IL-17A (*IL-17A^{-/-}*) имело место усиление роста микромицетов в просвете влагалища, связанное со снижением притока нейтрофилов [65]. Эти результаты противоречат предыдущим исследованиям, доказывающим, что нейтрофилы, активно мигрирующие в слизистые оболочки нижних половых путей, не способны эффективно уничтожать грибковые клетки, но играют важную роль в поддержании воспалительного процесса. Другими авторами установлено, что полиморфные варианты генов *IL-17A*, *IL-17F* и *IL-23R* связаны с повышенными уровнями сывороточных цитокинов *IL-17* и *IL-23* и увеличивают риск развития КВВ в этнической китайской популяции [66]. Поэтому необходимы дополнительные исследования для определения роли $\gamma\delta$ Т-клеток, а также CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, инвариантных Т-клеток, ассоциированных со слизистой оболочкой (MAIT), врожденных лимфоидных клеток (ILC), естественных киллеров (NK) и NKT-клеток в локальном противогрибковом иммунитете.

Вклад В-клеток и гуморальных реакций в защиту от КВВ/ПКВВ не был непосредственно изучен на уровне слизистых оболочек влагалища. Предполагается, что он может быть несущественным, поскольку у пациентов с X-сцепленной агаммаглобулинемией, у которых отсутствуют зрелые В-клетки и продукция антител, а также у лиц, получающих моноклональные антитела, разрушающие В-клетки и истощающие плазматические клетки, ритуксимаб и даратумумаб соответственно, КВВ/ПКВВ не развиваются [58].

Нарушение регуляции инфламмасы NLRP3 – ключевого фактора иммунопатогенеза КВВ/ПКВВ

Особая роль во врожденном иммунном ответе отводится семейству белков Nod-подобных рецепторов (NLR – nucleotide-binding leucine-rich repeat containing, т.е. связывающие нуклеотид и содержащие обогащенные лейцином повторы), вовлеченных в формирование и активацию инфламмасом. Инфламмасомы представляют собой крупные внутриклеточные многобелковые комплексы, опосредующие активацию каспазы-1, что приводит к секреции IL-1 β и IL-18. Важнейшими компонентами инфламмасом являются NLR

(включая NLRP1, NLRP3 и NLRC4) и адаптерный апоптоз-ассоциированный Speck-подобный белок, содержащий CARD (apoptosis-associated speck like protein containing a CARD, ASC), которые ответственны за связывание микробных и эндогенных PAMPs и активацию цистеиновой протеазы каспазы-1. На сегодняшний день наиболее изученной является инфламмасома NLRP3. Считается, что активация NLRP3-инфламмасы в клетках врожденного иммунного ответа проходит в два этапа. Первый этап, так называемый «прайминг», происходит после связывания Toll- и/или NLR-рецепторов клеток организма-хозяина с различными PAMPs микроорганизмов. Это приводит к активации универсального фактора транскрипции NF- κ B, контролирующего экспрессию генов иммунного ответа. Высвобожденный NF- κ B перемещается в ядро и связывается с κ B-сайтами внутри промоторов соответствующих генов для активации их транскрипции, в частности усиливается экспрессия NLRP3. Второй этап: «активация» запускается несколькими внутриклеточными событиями. Этот процесс обусловлен оттоком ионов калия или хлорида, потоком ионов кальция, разрушением лизосом, митохондриальной дисфункцией, метаболическими изменениями. После активации NLRP3 образует инфламмасому вместе с ASC и прокаспазой-1, в результате чего каспаза-1 приобретает каталитически активную форму и расщепляет про-IL-1 β и про-IL-18 до зрелых секретлируемых форм IL-1 β и IL-18 [67, 68]. В свою очередь, IL-1 β активирует сигнальный каскад, который имеет сходство с каскадом TLR-рецепторов через общий адаптер MyD88, для усиления транскрипции генов интерферонов и провоспалительных цитокинов [68]. Активация инфламмасы NLRP3 сопровождается пироптозом, который характеризуется гидролизом фрагмента гасдермина-D вследствие расщепления его каспазой-1, что приводит к лизису клеток и последующему высвобождению компонентов цитоплазмы [69]. Нарушения в механизмах сборки и регуляции инфламмасы могут быть связаны с различными иммунопатологическими состояниями [70].

Получены убедительные доказательства того, что активация инфламмасы играет важную роль в запуске протективного иммунного ответа при ОФК и инвазивном кандидозе [71]. Взаимодействие между компонентами клеточной стенки грибов рода *Candida* и PRRs эпителиальных клеток слизистых оболочек и фагоцитов инициирует активацию инфламмасы NLRP3 и вызывает различные клеточные реакции, приводящие к синтезу IL-1 β , TNF α , CXCL2, IL-23, IL-6 и IL-10, а также хемотаксису нейтрофилов в очаг воспаления и уничтожению патогенов [27, 72]. Однако при использовании комплексных геномных, иммунологических и фармакологических подходов выявили, что активация инфламмасы NLRP3 непосредственно связана с иммунопатологическим состоянием

при КБВ/ПКБВ [52, 73]. При моделировании КБВ у экспериментальных животных установлена повышенная активность NLRP3, высокое содержание нейтрофилов и IL-1 β в вагинальной промывной жидкости. После заражения *C. albicans* у мышей, лишенных NLRP3, и мышей дикого типа (WT), получавших ингибитор инфламмасы – глибурид, в вагинальном содержимом обнаружены существенно более низкие показатели количества нейтрофилов и уровней провоспалительных медиаторов по сравнению с контрольными животными. Однако не было найдено отличий в степени микробной колонизации. Это позволило сделать выводы о том, что инфламмасома NLRP3 является важным сигнальным макромолекулярным комплексом, опосредующим иммунопатологический ответ на *C. albicans* в пределах слизистой оболочки влагалища, а также о необходимости дальнейшего изучения механизмов, лежащих в основе воспалительного процесса в ответ на грибковую инфекцию [52]. Были проведены клинические исследования по изучению роли инфламмасы NLRP3 в патогенезе КБВ/ПКБВ. Roselletti E. с соавторами установили связь между повышенной экспрессией генов, кодирующих NLRP3 и каспазу-1, и высоким содержанием IL-1 β , IL-8 и нейтрофилов во влагалищных смывах пациенток с КБВ, чего не наблюдалось у бессимптомных носителей *C. albicans* и неcolonизированных здоровых женщин [73]. Методом иммуногистохимического исследования слизистой оболочки нижнего полового тракта пациенток с ПКБВ подтверждено участие в воспалительной реакции инфламмасы NLRP3 и нейтрофилов, а также выявлено присутствие непротективного фенотипа макрофагов M2 (CD163⁺) [74]. При анализе полиморфизмов tandemных повторов переменного числа (VNTR) в гене *NLRP3* определена их связь с частотой эпизодов КБВ/ПКБВ [75, 76]. Повышенное содержание IL-1 β в сочетании со сниженной концентрацией IL-1Ra обнаружено в вагинальных смывах у пациенток с ПКБВ с генотипом 12/9. Авторы сделали вывод, что чрезмерная активация инфламмасы и усиленная продукция IL-1 β , но не IL-18, играют важное значение в активации воспалительной реакции при ПКБВ, а полиморфные вариации в гене *NLRP3* оказывают существенное влияние на этот механизм [76]. Таким образом, на основании приведенных данных можно заключить, что инфламмасома NLRP3 не имеет значения в протективном иммунном ответе, контролирующем избыточный рост грибов на слизистой оболочке влагалища. Однако чрезмерная локальная активация NLRP3 и продукция IL-1 β могут способствовать возникновению клинических проявлений КБВ/ПКБВ.

Хорошо известно, что, наряду с протективным иммунным ответом (резистентностью), препятствующим инвазии и распространению патогенов во время инфекции, механизмы толерантности имеют важное

значение в защите макроорганизма от повреждений, вызванных неконтролируемой активацией иммунной системы [27, 58]. Значительная роль в формировании противогрибковой резистентности слизистых оболочек разных локализаций отводится IL-22. Данный цитокин стимулирует эпителиальные клетки слизистых оболочек к продукции антимикробных пептидов, способствует регенерации эпителия, тем самым обеспечивая стабильность нормобиоты, и препятствует колонизационной активности патогенов [72]. Главным регулятором противогрибковой толерантности, контролирующим баланс между стимуляцией и подавлением активности иммунного ответа, является индоламин 2,3-диоксигеназа 1 (IDO1) – фермент, ограничивающий скорость деградации триптофана по пути кинуренина [77]. Считается, что резистентность и толерантность – взаимодополняющие защитные механизмы организма-хозяина, которые допускают персистенцию грибов с низкой вирулентностью на слизистой оболочке влагалища. В экспериментальной работе на животных De Luca A. с соавторами показали, что IL-22 опосредует резистентность на ранних сроках после заражения *C. albicans*, тогда как IDO1 необходим для сдерживания воспаления на более поздних стадиях инфекции и для дифференцировки антиген-специфических Т-клеток памяти. Заместительная терапия кинуренинами восстанавливала иммунную защиту при экспериментальном КБВ. Об этом свидетельствовало уменьшение грибковой колонизации и признаков воспаления слизистой оболочки влагалища, снижение уровней IL-17A и увеличение продукции IL-10 на 21 день после интравагинального заражения грибами. Установлено, что, наряду с Т-лимфоцитами, ILC3, экспрессирующие AhR (Aryl hydrocarbon receptor, арильный углеводородный рецептор), были основными клетками, продуцирующими IL-22 у мышей. Данные, полученные в эксперименте на животных, нашли подтверждение в клиническом исследовании. Полиморфные варианты в генах *IL22* и *IDO1* связаны с устойчивостью к РКБВ и повышенной локальной экспрессией IL-22, IDO1 и кинуренина. Авторы заключили, что IL-22 и IDO1 ответственны за поддержание противогрибковой резистентности и толерантности к *C. albicans* на уровне слизистой оболочки влагалища, а их недостаток или снижение функциональной активности являются факторами риска РКБВ [78].

В экспериментальном исследовании Borghi M. с коллегами оценили вклад нескольких инфламмасом в патогенез КБВ. Интравагинальное введение *C. albicans* максимально активировало инфламмасому NLRP3 на ранних сроках инфекции, что способствовало продукции IL-1 β , привлечению нейтрофилов и развитию воспалительной реакции. IL-22 играл важную роль в активации инфламмасы NLRC4 в ЭКВ посредством фосфорилирования протеинкиназы

дельта (PKC δ), что приводило к устойчивой продукции антагониста рецептора IL-1 (IL-1Ra), который в свою очередь ограничивал активность NLRP3, продукцию IL-1 β и ингибировал хемотаксис нейтрофилов. Введение анакиры (рекомбинантного IL-1Ra) уменьшало воспаление, опосредованное NLRP3, и защищало от *C. albicans* в экспериментальной модели КБВ. Эти данные нашли подтверждение при изучении локального цитокинового статуса у пациенток с КБВ/ПКБВ. Были выявлены высокое содержание IL-1 β , низкая концентрация IL-1Ra и IL-22 в вагинальных жидкостях в данной группе пациентов [79]. Таким образом, IL-22, непосредственно участвующий в защите слизистых оболочек от грибов рода *Candida*, также действует как сигнал опасности, регулирующий ось IL-22/NLRC4/IL-1Ra для предотвращения развития хронического воспалительного состояния (Рис. 1).

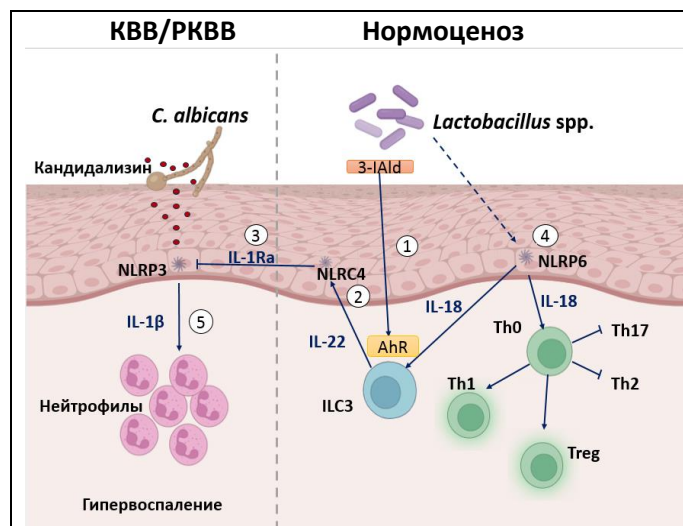


Рис. 1. Значение оси IL-22/NLRC4/IL-1Ra в предотвращении развития хронического воспалительного состояния при КБВ/ПКБВ. Примечание: 3-IAld – индол-3-альдегид; AhR – арильный углеводородный рецептор; ILC3 – врожденные лимфоидные клетки типа 3; Th – Т-хелперные клетки; Treg – регуляторные Т-клетки. **Нормоценоз.** 1. Микробный метаболит *Lactobacillus* spp. 3-IAld посредством AhR активирует ILC3 к продукции IL-22; 2. IL-22 активирует инфламмасому NLRC4, что приводит к устойчивой продукции антагониста рецептора IL-1 (IL-1Ra); 3. IL-1Ra сдерживает воспаление и обеспечивает защиту от *Candida* spp. за счет подавления активности NLRP3, продукции IL-1 β и хемотаксиса нейтрофилов; 4. Активация инфламмасы NLRP6 вызывает выработку IL-18, который усиливает экспрессию IL-22 и активность индоламин 2,3-диоксигеназы, сдвигая баланс в сторону Th1/Treg. **КБВ/ПКБВ.** 5. *C. albicans* (кандидализм) активируют инфламмасому NLRP3, что приводит к продукции IL-1 β , который способствует привлечению нейтрофилов и развитию воспалительного ответа.

Ранее были получены данные о способности IL-22 стимулировать синтез IL-18 в эпителиальных клетках кишечника для развития противинфекционного иммунитета [80]. При моделировании КБВ у мышей

была установлена бимодальная продукция IL-18 с пиками как на ранней, так и на поздней фазах инфекции. Нейтрализация IL-18 приводила к прогрессированию воспаления и повышению уровней миелопероксидазы, а также S100A8 и S100A9 – молекулярных паттернов DAMPs (Damage-associated molecular patterns), ассоциированных с повреждениями, в вагинальных смывах экспериментальных животных после заражения *C. albicans*. Полученные результаты свидетельствовали о том, что IL-18, в отличие от IL-1 β , играет защитную роль при КБВ, хотя механизмы, регулирующие его синтез, не вполне ясны [79]. В последующем было установлено, что на ранней стадии кандидозной инфекции у экспериментальных животных происходит активация инфламماسомы NLRP6 в ЭКВ, что способствует синтезу активной формы IL-18, который в свою очередь увеличивает продукцию IL-22 – ключевого цитокина для активации инфламماسомы NLRC4. Инфламмасома NLRC4 является критически важным элементом в молекулярных взаимодействиях, так как способствует продукции IL-18, тем самым замыкая петлю положительной обратной связи в сдерживании иммунновоспалительных процессов [81]. Также известно, что IL-18, стимулируя активность IDO1, способен регулировать адаптивный иммунный ответ, сдвигая баланс в сторону Th1/Treg. [82]. Это свойство IL-18 может способствовать поддержанию толерантности на уровне слизистой оболочки влагалища. Ранее в работе Levy M. с соавторами отмечено, что инфламмасома NLRP6 совместно с ASC и каспазой-1 образуют комплекс, который активирует эпителиальные клетки кишечника к продукции активной формы IL-18, что необходимо для предотвращения развития дисбиоза [83]. На модели экспериментального КБВ показано, что введение мышам микробного метаболита индол-3-альдегида (3-IalD), полученного в результате деградации триптофана, активировало ILC3 посредством AhR к продукции IL-22, что способствовало синтезу IL-18, сдерживало воспаление и обеспечивало защиту от инфекции грибами рода *Candida*. Авторы сделали вывод, что нарушения в составе микробиома на начальной фазе кандидозной инфекции могут приводить к дефектной активации NLRP6 и низкой секреции IL-18 [81]. Таким образом, регулирование оси AhR/IL-22/IL-18 может представлять собой терапевтическую возможность ограничения воспалительной реакции и предотвращения повреждения тканей. Более глубокое понимание механизмов, регулирующих активность инфламماسом, позволит разработать лекарственные средства на основе микробных агонистов AhR, запускающих путь IL-22/IL-18.

Эти данные нашли подтверждение в недавно опубликованной работе Hasselrot T. с коллегами [84]. При транскриптомном профилировании образцов вагинальной ткани женщин с клиническими проявлениями РКБВ обнаружено усиление экспрессии генов,

участвующих в активации иммунной системы. Прежде всего, это гены, кодирующие PPRs (*CLECs*, *TLRs*, *NLRs*, *MCR1*), провоспалительные медиаторы (*IL1B*, *IL17A*, *IFNG*, *NOS2*), хемокины (*CXCL1–3*, *CXCL6*, *CLXCL8–11*, *CXCL13*, *CXCL16*, *CCL2*, *CCL7–8*), а также антимикробные пептиды, такие как лактоферрин (ген *LTF*), человеческий β -дефензин-4 (ген *DEFB4*) и лизоцим (*LTF*), обладающие противогрибковой активностью против *Candida* spp. [85, 86]. Ген *CSF3*, кодирующий колониестимулирующий фактор 3 (*CSF3*), необходимый для созревания нейтрофилов [87], и ген, кодирующий IL-8, являющийся самым мощным хемокином, привлекающим нейтрофилы в очаг воспаления, оказались одними из наиболее активируемых генов в группе пациентов с РКБВ [84]. Экспрессия генов *CXCL1–3*, *6*, *8*, *13* и *16*, а также генов, кодирующих несколько других провоспалительных медиаторов и антимикробных пептидов, усиливалась по мере увеличения тяжести РКБВ. Полученные данные свидетельствуют о том, что хемотаксис и активация нейтрофилов в очаге инфекции являются динамическими процессами, которые отражают тяжесть воспаления, оцениваемую по совокупности клинических проявлений заболевания. Как уже упоминалось, Уано J. с соавторами выдвинули гипотезу, что исход КБВ/РКБВ зависит от факторов, контролирующих микробицидную активность нейтрофилов, в частности гепарансульфата, который переводит фагоциты в состояние функциональной анергии и невозможности эффективно уничтожать *Candida* spp. [18]. Это согласуется с результатами клинического исследования, в котором установлено, что у пациенток с РБВК нейтрофилы отличались сниженной фунгицидной активностью по сравнению с нейтрофилами контрольных лиц [88]. Приведенные данные могут объяснить отсутствие эффективной защиты от грибов рода *Candida* у пациенток с РБВК на фоне высокой экспрессии генов, ответственных за активацию механизмов врожденного иммунного ответа [84].

При транскриптомном анализе было выявлено повышение экспрессии генов, связанных с активацией инфламماسомы NLRP3 (*NLRP3*, *IL1B* и *GSDMD*), а также *NLRC4* и *IL22*, но не было установлено разницы в экспрессии *IL1RN* (гена, кодирующего IL-1Ra) между пациентками с РБВК и здоровыми лицами [84]. Полученные результаты подтверждают важное значение инфламماسомы NLRP3 в иммунопатогенезе РКБВ. Однако необходимо обратить внимание на существенные различия в результатах, оценивающих значение IL22 и IL-1Ra в иммунопатогенезе РКБВ либо по экспрессии генов в тканях [84], либо по локальным уровням в вагинальном содержимом [79]. Также было неожиданно, что профили экспрессии генов как в группе ремиссии РКБВ, так и в группе бессимптомных носителей были сопоставимы с таковыми у здоровых лиц [84].

Ранее упоминалось, что роль клеток Th17 в иммунопатогенезе КВВ/ПКВВ является неоднозначной [72]. В работе Hasselrot Т. с коллегами показано, что ген, кодирующий IL-17, является одним из наиболее экспрессируемых генов у женщин, страдающих ПКВВ, что, по мнению авторов, указывает на важную роль IL-17 в патогенезе заболевания [84]. В другом клиническом исследовании оценивалась экспрессия генов, кодирующих факторы транскрипции и цитокины, специфичные для Th1, Th2, Th17 и Т-регуляторных клеток (Treg), с помощью количественной полимеразной цепной реакции (qPCR) [89]. В отличие от ранее приведенных данных, в группе женщин с РВВК установлено снижение экспрессии *in situ* в слизистой оболочке влагалища генов цитокинов и транскрипционных факторов, связанных с иммунологическими профилями Th1 и Th17 и обеспечивающих адаптивный иммунный ответ при кандидозной инфекции другой локализации [58, 59, 90]. Исследователи связывают обострение неэффективного хронического воспалительного ответа при ПКВВ с повышением экспрессии генов *FOXP3* и *IL-10*, необходимых для дифференцировки и функциональной активности Treg, а также гена хемокина IL-8 [89]. Эти результаты явились подтверждением нарушения координации адаптивного иммунного ответа и усиления воспалительной реакции у пациентов с ПКВВ. Расхождения в профилях экспрессируемых генов у женщин с ПКВВ, полученные в разных клинических испытаниях, можно объяснить различиями между этническими группами пациентов и методическими подходами, но подразумевают необходимость дополнительных исследований для углубленного изучения роли различных иммунологических факторов в развитии КВВ/ПКВВ.

Роль факторов вирулентности грибов рода *Candida* в иммунопатогенезе КВВ/ПКВВ

Несмотря на то, что иммуновоспалительный процесс слизистой оболочки влагалища опосредован гиперактивацией инфламмасы NLRP3 в эпителиальных и миелоидных клетках, факторы вирулентности грибов рода *Candida* также играют важную роль в иммунопатогенезе КВВ/ПКВВ. Помимо адгезинов, которые опосредуют первый этап прикрепления *Candida* spp. к ЭКВ, другие факторы вирулентности участвуют в прогрессировании инфекции. Морфологический переход от дрожжей к гифам является одним из основных признаков вирулентности *C. albicans*, поскольку облегчает инвазию микромицетов в ткани, а также обеспечивает их устойчивость к фагоцитозу. Образование гиф является важным фактором, способствующим переходу *C. albicans* от состояния комменсализма к патогенности, и, как следствие, преодоления порога толерантности ЭКВ [15].

C. albicans вырабатывают такие факторы вирулентности, как кандидализин и гидролитические ферменты. Кандидализин, кодируемый ассоциированным с гифами геном *ECE1*, является триггером активации инфламмасы NLRP3, а также фактором цитолиза макрофагов и DC при инфицировании *C. albicans* [91]. Важная роль кандидализина в иммунопатогенезе КВВ была продемонстрирована на мышах, которым интравагинально вводили штаммы *C. albicans*, дефицитные по кандидализину. По сравнению с изогенным контролем не было установлено различий в способности образовывать гифы у генетически модифицированных штаммов, но наблюдали значительное снижение притока нейтрофилов в просвет влагалища и признаки повреждения тканей [39]. В вагинальном содержимом пациентов с острым КВВ была выявлена повышенная экспрессия гена *ECE1*, но не обнаружено корреляции с уровнями IL-1 β и IL-8 [38]. Это можно объяснить существованием различных аллельных вариантов гена *ECE1*, приводящих к снижению синтеза кандидализина и, как следствие, к значительному уменьшению секреции IL-1 β , хемотаксиса нейтрофилов и признаков повреждения ЭКВ в вагинальном лаваже [92]. Нейтрализация кандидализина с помощью нанотел снижала вызванное кандидализином повреждение ЭКВ и последующие воспалительные реакции, что может лечь в основу новых терапевтических подходов, нацеленных на подавление гипервоспалительных реакций, являющихся отличительным признаком КВВ/ПКВВ [93].

Помимо кандидализина, различные внеклеточные гидролазы, включая аспартилпротеазы (семейство белков Sap), липазы и фосфолипазы, играют важную роль в патогенности *Candida* spp. Фактически эти ферменты связаны с адгезией, инвазией и повреждением тканей, которые возникают в результате нарушения целостности компонентов мембраны клетки хозяина при взаимодействии с микромицетами [94]. Из них аспартилпротеазы, в частности Sap2, вызывают деградацию муцина и секреторного иммуноглобулина А, способствуя адгезии *Candida* spp. к ЭКВ и проникновению в ткани [27]. Sap1-3 участвуют в иммунном уклонении за счет разрушения белков системы комплемента, таких как C3b, C4b и C5 [95]. Sap2 и Sap6 вызывают острую воспалительную реакцию слизистой оболочки влагалища за счет активации инфламмасы NLRP3 и последующего притока нейтрофилов в просвет влагалища [73]. Воспаление, вызванное *C. albicans*, подавляется антителами, ингибирующими активность Sap2. Следовательно, вакцина на основе антигена tSap2 может быть эффективной в ограничении или контроле воспаления вагинальной слизистой оболочки [96].

Помимо *C. albicans*, другие виды *Candida* могут вызывать КВВ/ПКВВ у людей. Наиболее распространенным видом после *C. albicans* является *Candida*

glabrata, недавно переклассифицированная как *Nakaseomyces glabratus*. Отличиями *C. glabrata* являются неспособность к диморфному переходу и природная устойчивость к противогрибковому препарату первой линии – флуконазолу, что может влиять на особенности патогенеза заболевания [97]. В экспериментальной модели КВВ показано, что все виды NAC, включая *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata* и *C. auris*, вызывали значительно меньшее повреждение ЭКВ, чем *C. albicans*, несмотря на схожие уровни ранней колонизации. Установлено, что за исключением *C. dubliniensis*, виды NAC были неспособны образовывать гифы во влагище мышей, активировать инфламмасому NLRP3 и не вызывали выраженную воспалительную реакцию по сравнению с *C. albicans*. Таким образом, хотя виды NAC все чаще выявляются у пациентов с КВВ/ПКВВ, *C. albicans* по-прежнему является основным возбудителем заболевания [98]. Следовательно, гетерогенность проявления КВВ/ПКВВ может в значительной степени зависеть от штамма *Candida* spp., вызывающего инфекцию.

Новые разработки в области терапии и вакцинации КВВ/ПКВВ

Несмотря на то, что однократный прием перорального флуконазола достаточен для лечения КВВ в 90% случаев, при рецидивирующем течении заболевания, согласно клиническим рекомендациям, необходим продолжительный прием противогрибковых лекарственных средств (ПГЛС) [99]. Однако поддерживающая терапия флуконазолом в течение 6 месяцев негативно влияет на разнообразие микробиоты как репродуктивных органов женщины, так и желудочно-кишечного тракта, способствует развитию лекарственной резистентности у грибкового патогена и сопровождается различными побочными эффектами, не приводя в большинстве случаев к полному излечению. Таким образом, существует потребность в разработке новых терапевтических стратегий для профилактики и лечения КВВ/ПКВВ.

Отметим, что в настоящее время активно ведется разработка новых ПГЛС, два из которых уже одобрены Федеральным управлением по контролю качества лекарственных средств (FDA) США для терапии РВВК: отесеконазол – тетразол, ингибитор ланостерол 14- α деметилазы и ибрексафунгерп – ингибитор три-терпеноидной β -глюкансинтазы [59, 100, 101]. Тем не менее они имеют ряд серьезных противопоказаний, например, применение отесеконазола возможно только лицам, не имеющим репродуктивного потенциала.

Поскольку КВВ/ПКВВ в настоящее время считается иммунопатологическим состоянием, то лекарственные средства, регулирующие активность инфламмасы NLRP3, могут предотвратить развитие непротективного иммунного ответа [72, 102]. Как уже упоминалось, введение анакинры – рекомбинантного

антагониста IL-1Ra снижало воспаление, вызванное NLRP3, и защищало от инфекции в экспериментальной модели КВВ [79]. В качестве перспективных рассматривают антидиабетические препараты глибурид, сульфонилмочевины второго поколения и экспериментальный препарат MCC-950 [52, 103]. Несмотря на то, что полученные результаты подчеркивают потенциальную пользу ингибиторов инфламмасы при лечении ПКВВ, требуются дальнейшие исследования, прежде чем такие терапевтические подходы можно будет внедрить в клиническую практику. Помимо этого, обсуждается возможность использования микробных агонистов AhR, запускающих путь IL-22/IL-18, что приводит к подавлению чрезмерной воспалительной реакции у пациентов с КВВ/ПКВВ [81].

Разработка безопасной и эффективной вакцины является важным направлением в снижении заболеваемости КВВ/ПКВВ. Однако в настоящее время нет ни одной противогрибковой вакцины, одобренной FDA США и доступной для клинического использования [5]. Основная проблема заключается в морфологической, фенотипической и генетической изменчивости среди видов *Candida*. Кроме того, поскольку *Candida* spp. являются комменсалами человека, необходимыми для поддержания гомеостатического баланса организма, существует опасность, что такие вакцины могут нарушать нормальную микробиоту человека. Поэтому для минимизации потенциальных негативных эффектов действия вакцины в качестве мишени антигенов используют гифы грибов, специфичные для патогенного морфотипа, участвующие в адгезии к клеткам эпителия, проникновении в ткани и усвоение железа.

Наибольший успех был достигнут для двух рекомбинантных вакцин, которые прошли плацебо-контролируемые клинические исследования 2 и 1 фазы. Первая, названная PEV7, состоит из рекомбинантной аспартил-протеиназы 2 (Sap2), секретируемого белка *C. albicans*, собранного в виросомы [96]. Результаты, полученные на здоровых женщинах-добровольцах, показали, что вакцина PEV7, вводимая интравагинально, имеет обнадеживающий терапевтический потенциал для лечения ПКВВ. У всех вакцинированных женщин развились антиген-специфические В-клетки памяти [104]. Вторая вакцина – NDV-3 представляет собой рекомбинантную субъединичную вакцину, состоящую из агглютининоподобной последовательности 3 (Alsp3) в сочетании с адъювантом гидроксидом алюминия. NDV-3 стимулировала мононуклеарные клетки периферической крови человека к продукции IFN- γ и IL-17A и активировала антитело-опосредованный ответ против *Candida* spp. Благодаря структурной гомологии между Alsp3 и поверхностными белками *Staphylococcus aureus* NDV-3 обеспечивала защиту экспериментальных животных от заражения *S. aureus*. Вакцина успешно прошла I фазу клинического испы-

тания, которая определила ее безопасность и иммуногенность [105]. В двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании II фазы использование вакцины NDV-3a снизило рецидив КВВ примерно на 20% по сравнению с группой плацебо в течение 12-месячного периода наблюдения [106]. Таким образом, NDV-3a является наиболее усовершенствованной вакциной, протестированной на сегодняшний день. Хотя представленные данные являются многообещающими, дальнейшие исследования, оценивающие возможность включения других антигенных детерминант или изменение выбора адъюванта, помогут оптимизировать эффективность вакцин при КВВ/ПКВВ.

Независимо от противогрибковых вакцин, нацеленных на патогенную форму гриба, также разрабатываются другие терапевтические стратегии, направленные на подавление диморфного перехода и других факторов вирулентности. В качестве перспективных препаратов рассматриваются: сульфат цинка, снижающий экспрессию гена вирулентности *C. albicans* PRA1 [59]; сексвитерпеновый спирт фарнезол (C₁₅H₂₆O), ингибирующий образование гиф путем негативной регуляции пути RAS1-сАМР-РКА; транс-ретиноевая кислота (метаболит витамина А), оказывающая дозозависимое ингибирующее действие на рост *C. albicans*, развитие гиф и образование биопленки [107].

В настоящее время активно обсуждают подходы к лечению РВБК, направленные на восстановление нормальной микроэкологии влагалища, нарушенной инфекционным процессом, и предотвращение рецидивов [108]. Ключевой стратегией восстановления микробных популяций и коррекции иммунного ответа (увеличение противовоспалительных цитокинов и подавление провоспалительных) является использование пробиотиков [109]. В последнее десятилетие проведено множество исследований оценки влияния пробиотиков на профилактику и лечение широкого спектра заболеваний. В отношении терапии РКВВ в рамках клинических испытаний была продемонстрирована эффективность перорального и интравагинального введения *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* GR-1, *L. fermentum* RC-14 [110], пероральный прием штамма *L. plantarum* P17630 – комменсала желудочно-кишечного тракта [111], а также на модели РКВВ у экспериментальных животных (крыс) – ингибирование до 60-70% изолятов *C. albicans* штаммами МКБ *L. crispatus*, *L. delbrueckii* [112]. Однако далеко не все препараты и БАД с пробиотическим потенциалом оказывали существенное влияние на эффективность лечения и профилактику основных вульвовагинальных инфекций (РВБК, бактериальный и аэробный вагинит). Действие пробиотиков зависело от штамма и дозы, а отсутствие стандартизированного производственного процесса влияло на их выживание, рост и жизнеспособность [113]. Разработка принципиально новых пробиотиков

на основе изучения молекулярных механизмов коррекции состояния биома и подавления неконтролируемого роста условно-патогенных микромицетов, в том числе определение активных (действующих) компонентов пробиотиков, влияние бактериальной микроРНК на жизнеспособность/вирулентность гриба, является важной задачей научного сообщества.

Основываясь на успехе трансплантации фекальной биоты при *Clostridioides difficile*-ассоциированном энтероколите – заболевании, также связанном с нарушением микробиома, для лечения дисбиоза влагалища предложена трансплантация вагинальной микробиоты (ТВМ), ассоциированной со здоровьем [114]. Терапевтические преимущества ТВМ были доказаны на пациентах с трудноизлечимым и рецидивирующим бактериальным вагинозом [115] и на моделях дисбиоза у экспериментальных животных [116, 117]. Однако использование ТВМ для лечения дисбиотических состояний репродуктивной системы связано с рядом ограничений, среди которых: отсутствие стандартных протоколов, иммунное отторжение и дефицит информации о долгосрочных эффектах. Необходимы дальнейшие исследования для разработки безопасного и эффективного протокола ТВМ для терапии заболеваний репродуктивного тракта, таких как КВВ/ПКВВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложные взаимодействия между клетками организма-хозяина, вагинальной микробиотой и грибами рода *Candida* необходимы для поддержания гомеостаза репродуктивных путей. В настоящее время существует общее мнение, что в основе иммунопатогенеза КВВ/ПКВВ лежит непротективная воспалительная реакция, инициируемая факторами вирулентности микромицета и поддерживаемая инфламмасомой NLRP3. В этом контексте более глубокое понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе чрезмерного иммунного ответа на *Candida* spp., может помочь определить конкретные цели для разработки адекватных терапевтических вмешательств для борьбы с этой распространенной генитальной инфекцией.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (№ гранта: 24-45-00050).

ЛИТЕРАТУРА

1. Delavy M., Sertour N., Patin E., et al. Unveiling *Candida albicans* intestinal carriage in healthy volunteers: the role of micro- and mycobiota, diet, host genetics and immune response. *Gut Microbes*. 2023; 15 (2): 2287618. doi:10.1080/19490976.2023.2287618
2. Sobel J.D. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007; 369 (9577): 1961-1971. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60917-9
3. Gonçalves B., Ferreira C., Alves C.T., et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiology, microbiology and risk factors. *Crit. Rev. Microbiol.* 2016; 42 (6): 905-927. doi:10.3109/1040841X.2015.1091805
4. Denning D.W., Kneale M., Sobel J.D. and Rautemaa-Richardson R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 2018; 18 (11): e339-47. doi:10.1016/S1473-3099(18)30103-8
5. Donders G., Sziller I.O., Paavonen J., et al. Management of recurrent vulvovaginal candidosis: Narrative review of the literature and European expert panel opinion. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2022; 12: 934353. doi:10.3389/fcimb.2022.934353
6. Kan S., Song N., Pang Q., et al. *In vitro* antifungal activity of azoles and other antifungal agents against pathogenic yeasts from vulvovaginal candidiasis in China, *Mycopathologia*. 2023; 188 (1-2): 99-109. doi:10.1007/s11046-022-00687
7. Arastehfar A., Kargar M.L., Mohammadi S.R., et al. A high rate of recurrent vulvovaginal candidiasis and therapeutic failure of azole derivatives among Iranian women. *Front Microbiol.* 2021; 12: 655069. doi:10.3389/fmicb.2021.655069
8. Cauchie M., Desmet S. and Lagrou K. *Candida* and its dual lifestyle as a commensal and a pathogen. *Res. Microbiol.* 2017; 168 (9-10): 802-810. doi: 10.1016/j.resmic.2017.02.005
9. Moreira D., Ruiz L.S., Leite-Jr D.P., et al. Difference between the profiles presented by yeasts that colonize the vaginal mucosa or cause primary or recurrent candidiasis. *Mycopathologia*. 2021; 186 (23): 411-21. doi:10.1007/s11046-021-00556-y
10. Takano T., Kudo H., Eguchi S., et al. Inhibitory effects of vaginal lactobacilli on *Candida albicans* growth, hyphal formation, biofilm development, and epithelial cell adhesion, *Front Cell Infect. Microbiol.* 2023; 13: 1113401. doi:10.3389/fcimb.2023.1113401
11. Nguyen L.N., Lopes L.C.L., Cordero R.J.B. and Nosanchuk J.D. Sodium butyrate inhibits pathogenic yeast growth and enhances the functions of macrophages. *J. Antimicrob. Chemother.* 2011; 66: 2573-2580. doi:10.1093/jac/dkr358
12. O'Hanlon D.E., Moench T.R., Cone R.A. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoS One*. 2013; 8 (11): e80074. doi:10.1371/journal.pone.0080074
13. Ballou E.R., Avelar G.M., Childers D.S., et al. Lactate signalling regulates fungal beta-glucan masking and immune evasion. *Nat Microbiol.* 2016; 2: 16238. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.238
14. Lopes J.P., Stylianou M., Backman E., et al. Evasion of immune surveillance in low oxygen environments enhances *Candida albicans* virulence. *mBio*. 2018; 9 (6): e02120-18. doi:10.1128/mBio.02120-18
15. Ardizzoni A., Wheeler R.T. and Pericolini E. It takes two to tango: how a dysregulation of the innate immunity, coupled with candida virulence, triggers VVC onset. *Front. Microbiol.* 2021; 12: 692491. doi:10.3389/fmicb.2021.692491
16. Fidel P.L.Jr, Barousse M., Espinosa T. Jr., et al. An intravaginal live *Candida* challenge in humans leads to new hypotheses for the immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Infect. Immun.* 2004; 72 (5): 2939-46. doi:10.1128/IAI.72.5.2939-2946.2004
17. Rosati D., Bruno M., Jaeger M., et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis: an immunological perspective. *Microorganisms*. 2020; 8 (2): 144. doi:10.3390/microorganisms8020144
18. Yano J., Peters B.M., Noverr M.C. and Fidel P.L.Jr. Novel mechanism behind the immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis: "neutrophil anergy". *Infect. Immun.* 2018; 86 (3): 00684-17. doi:10.1128/IAI.00684-17
19. Gow N.A., van de Veerdonk F.L., Brown A.J. and Netea M.G. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat. Rev. Microbiol* 2011; 10 (2): 112-122. doi:10.1038/nrmicro2711
20. d'Enfert C., Kaune A.K., Alaban L.R., et al. The impact of the fungus-host-microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives *FEMS Microbiol. Rev.* 2021; 45 (3): fuaa060. doi:10.1093/femsre/fuua060
21. Linhares I.M., Sisti G., Minis E., et al. Contribution of epithelial cells to defense mechanisms in the human vagina. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2019; 21 (9): 30. doi:10.1007/s11908-019-0686-5
22. Babula O., Lazdane G., Kroica J., et al. Relation between recurrent vulvovaginal candidiasis, vaginal concentrations of mannose-binding lectin, and a mannose-binding lectin gene polymorphism in Latvian women *Clin. Infect. Dis.* 2003; (3795): 733-737. doi:10.1086/377234
23. Pekmezovic M., Hovhannisyan H., Gresnigt M.S., et al. *Candida* pathogens induce protective mitochondria-associated type I interferon signalling and a damage-driven response in vaginal epithelial cells. *Nat. Microbiol.* 2021; 6 (5): 643-657. doi: 10.1038/s41564-021-00875-2
24. Kolben T., Pieper K., Goess C., et al. IL-23, IFN- α , and IFN- β in the vaginal fluid of patients suffering from vulvovaginal candidosis. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 2017; 44 (1): 7-10. PMID: 29714856
25. Amabebe E. and Anumba D.O.C. The vaginal microenvironment: the physiologic role of Lactobacilli. *Front Med.* 2018; 13 (5): 181. doi:10.3389/fmed.2018.00181

26. Czechowicz P., Nowicka J., and Gościński G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (11): 5895. doi:10.3390/ijms23115895
27. Gaziano R., Sabbatini S., and Monari C. The Interplay between *Candida albicans*, vaginal mucosa, host immunity and resident microbiota in health and disease: an overview and future perspectives. *Microorganisms* 2023; 11 (5): 1211. doi:10.3390/microorganisms11051211
28. Moyes D.L., Richardson J.P., and Naglik J.R. *Candida albicans*-epithelial interactions and pathogenicity mechanisms: Scratching the surface. *Virulence* 2015; 6 (4): 338-346. doi:10.1080/21505594.2015.1012981
29. Nikou S.A., Kichik N., Brown R., et al. *Candida albicans* interactions with mucosal surfaces during health and disease. *Pathogens* 2019; 8 (2): 53. doi:10.3390/pathogens8020053
30. Zhang J., Peng J., Li D., et al. Divergent EGFR/MAPK-mediated immune responses to clinical *Candida* pathogens in vulvovaginal candidiasis. *Front. Immunol.* 2022; 26 (13): 894069. doi:10.3389/fimmu.2022.894069
31. Richardson J.P., Ho J. and Naglik J.R. *Candida*-epithelial interactions. *Fungi.* 2018; 4 (1): 22. doi:10.3390/jof4010022
32. Liu Y. and Filler S.G. *Candida albicans* Als3, a multifunctional adhesin and invasion. *Eukaryot. Cell.* 2011; 10 (2): 168-173. doi:10.1128/EC.00279-10
33. Phan Q.T., Myers C.L., Fu Y., et al. Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. *PLoS Biol.* 2007; 5 (3): e64. doi:10.1371/journal.pbio.0050064
34. Zhu W., Phan Q.T., Boonthueung P., et al. EGFR and HER2 receptor kinase signaling mediate epithelial cell invasion by *Candida albicans* during oropharyngeal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109 (35): 14194-14199. doi:10.1073/pnas.1117676109
35. Moyes D.L., Wilson D., Richardson J.P., et al. Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. *Nature.* 2016; 532 (7597): 64-68. doi:10.1038/nature17625
36. Naglik J.R., Richardson J.P., and Moyes D.L. *Candida albicans* pathogenicity and epithelial immunity. *PLoS Pathog.* 2014; 10 (8): e1004257. doi:10.1371/journal.ppat.1004257
37. Moyes D.L., Murciano C., Rungrat M., et al. *Candida albicans* yeast and hyphae are discriminated by MAPK signaling in vaginal epithelial cells. *PLoS One.* 2011; 6 (11): e26580. doi:10.1371/journal.pone.0026580
38. Roselletti E., Monari C., Sabbatini S., et al. Role for yeast/pseudohyphal cells of *Candida albicans* in the correlated expression of NLRP3 inflammasome inducers in women with acute vulvovaginal candidiasis. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2669. doi:10.3389/fmicb.2019.02669
39. Richardson J.P., Willems H.M.E. Moyes D., et al. Candidalysin drives epithelial signaling, neutrophil recruitment, and immunopathology at the vaginal mucosa. *Infect. Immun.* 2018; 86 (2): e00645-17. doi:10.1128/IAI.00645-17
40. Swidergall M. *Candida albicans* at host barrier sites: pattern recognition receptors and beyond. *Pathogens.* 2019; 8 (1): 40 doi:10.3390/pathogens8010040
41. Bojang E., Ghuman H., Kumwenda P. and Hall R.A. Immune Sensing of *Candida albicans*. *Fungi.* 2021; 7 (2): 119. doi:10.3390/jof7020119
42. Saijo S., Ikeda S., Yamabe K., et al. Dectin-2 recognition of alpha-mannans and induction of Th17 cell differentiation is essential for host defense against *Candida albicans*. *Immunity.* 2010; 32 (5): 681-691. doi:10.1016/j.immuni.2010.05.001
43. Wu S.Y., Weng C.L., Jheng M.J., et al. *Candida albicans* triggers NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular traps through dectin-2. *PLoS Pathog.* 2019; 15 (11): e1008096. doi:10.1371/journal.ppat.1008096
44. Rosentul D.C., Delsing C.E., Jaeger M., et al. Gene polymorphisms in pattern recognition receptors and susceptibility to idiopathic recurrent vulvovaginal candidiasis. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 483. doi:10.3389/fmicb.2014.00483
45. Selders G.S., Fetis A.E., Radic M.Z. and Bowlin G.L. An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. *Regen. Biomater.* 2017; 4 (1): 55-68. doi:10.1093/rb/rbw041
46. Maher C.O., Dunne K., Comerford R., et al. *Candida albicans* stimulates IL-23 release by human dendritic cells and downstream IL-17 secretion by V δ 1 T cells. *Immunol.* 2015; 194 (12): 5953-5960. doi:10.4049/jimmunol.1403066
47. Zambrano F., Melo A., Rivera-Concha R., et al. High Presence of NETotic Cells and neutrophil extracellular traps in vaginal discharges of women with vaginitis: an exploratory study. *Cells.* 2022; 11 (20): 3185. doi:10.3390/cells11203185
48. Gabrielli E., Sabbatini S., Roselletti E., et al. In vivo induction of neutrophil chemotaxis by secretory aspartyl proteinases of *Candida albicans*. *Virulence.* 2016; 7 (7): 819-825. doi:10.1080/21505594.00724-15
49. Schaller M., Bein M., Korting H.C., et al. The secreted aspartyl proteinases Sap1 and Sap2 cause tissue damage in an in vitro model of vaginal candidiasis based on reconstituted human vaginal epithelium. *Infect Immun.* 2003; 71 (6): 3227-3234. doi:10.1128/IAI.71.6.3227-3234.2003
50. Taylor B.N., Staib P., Binder A., et al. Profile of *Candida albicans*-secreted aspartic proteinase elicited during vaginal infection. *Infect Immun.* 2005; 73 (3): 1828-1835. doi:10.1128/IAI.73.3.1828-1835.2005

51. Pericolini E., Gabrielli E., Amacker M., et al. Secretory aspartyl proteinases cause vaginitis and can mediate vaginitis caused by *Candida albicans* in mice mBio. 2015; 6 (3): e00724. doi:10.1128/mBio.00724-15
52. Bruno V.M., Shetty A.C., Yano J., et al. Transcriptomic analysis of vulvovaginal candidiasis identifies a role for the NLRP3 inflammasome. mBio. 2015; 6 (2): e00182-15. doi:10.1128/mBio.00182-15
53. Byrd A.S., O'Brien X.M., Johnson C.M., et al. An extracellular matrix-based mechanism of rapid neutrophil extracellular trap formation in response to *Candida albicans*. Immunol. 2013; 190 (8): 4136-4148. doi: 10.4049/jimmunol.1202671
54. Ardizzoni A., Sala A., Colombari B., et al. Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies (pANCA) impair neutrophil candidacidal activity and are increased in the cellular fraction of vaginal samples from women with vulvovaginal candidiasis. Fungi. 2020; 6 (4): 225. doi:10.3390/jof6040225
55. Rudkin F.M., Bain J.M., Walls C., et al. Altered dynamics of *Candida albicans* phagocytosis by macrophages and PMNs when both phagocyte subsets are present. mBio. 2013; 4 (2): e00810-13. doi:10.1128/mBio.00810-13
56. Olivier F.A.B., Hilsenstein V., Weerasinghe H., et al. The escape of *Candida albicans* from macrophages is enabled by the fungal toxin candidalysin and two host cell death pathways. Cell Rep. 2022; 40 (12): 111374. doi:10.1016/j.celrep.2022.111374
57. Ding X., Kambara H., Guo R., et al. Inflammasome-mediated GSDMD activation facilitates escape of *Candida albicans* from macrophages. Nat. Commun. 2021; 12 (1): 6699. doi:10.1038/s41467-021-27034-9
58. Cheng K.O., Montano D.E., Zelante T., et al. Inflammatory cytokine signalling in vulvovaginal candidiasis: a hot mess driving immunopathology Oxf. Open Immunol. 2024; 5 (1): iqae010. doi:10.1093/oxfimm/iqae010
59. MacAlpine J., and Lionakis M.S. Host-microbe interaction paradigms in acute and recurrent vulvovaginal candidiasis. Cell Host Microbe. 2024; 32 (10): 1654-1667. doi: 10.1016/j.chom.2024.08.018
60. Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В. и др. Иммунопатогенез орофарингеального кандидоза у больных гемобластозами. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (3): 38-45. [Danilova J.Y., Shabashova N.V., Frolova E.V., et al. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in patients with hemoblastosis. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (3): 38-45. (In Russ.)]. doi:10.24412/1999-6780-2021-3-38-45
61. Campione E., Cosio T., Lanna C., et al. Predictive role of vitamin A serum concentration in psoriatic patients treated with IL-17 inhibitors to prevent skin and systemic fungal infections. Pharmacol. Sci. 2020; 144 (1): 52-56. doi:10.1016/j.jphs.2020.06.003
62. Pietrella D., Rachini A., Pines M., et al. Th17 cells and IL-17 in protective immunity to vaginal candidiasis PLoS One. 2011; 6 (7): e22770. doi:10.1371/journal.pone.0022770
63. Yano J., Kolls J.K., Happel K.I., et al. The acute neutrophil response mediated by S100 alarmins during vaginal *Candida* infections is independent of the Th17-pathway. PLoS ONE. 2012; 7 (9): e46311. doi: 10.1371/journal.pone.0046311
64. Peters B.M., Coleman B.M., Willems H.M.E., et al. The Interleukin (IL) 17R/IL-22R Signaling axis is dispensable for vulvovaginal candidiasis regardless of estrogen status. Infect. Dis. 2020; 222: 1554-1563. doi:10.1093/infdis/jiz649
65. Monin L., Ushakov D.S., Arnesen H., et al. Gammadelta T cells compose a developmentally regulated intrauterine population and protect against vaginal candidiasis. Mucosal Immunol. 2020; 13 (6): 969-968. doi:10.1038/s41385-020-0305-7
66. Li W., Shi W., Yin Y., et al. Association of IL-17 and IL-23 gene variants with plasma levels and risk of vulvovaginal candidiasis in a Chinese Han population. Pharmgenomics Pers. Med. 2020; 13: 725-33. doi:10.2147/PGPM.S275073
67. Xu Z., Kombe Kombe A.J., Deng S., et al. NLRP inflammasomes in health and disease. Mol. Biomed. 2024; 5 (1): 14. doi:10.1186/s43556-024-00179-x
68. Jo E.K., Kim J.K., Shin D.M. and Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. Cell Mol. Immunol. 2016; 13(2): 148-159. doi:10.1038/cmi.2015.95
69. Jorgensen I., Rayamajhi M. and Miao E.A. Programmed cell death as a defence against infection. Nat. Rev. Immunol. 2017; 17 (3): 151-164. doi:10.1038/nri.2016.147
70. Mangan M.S.J., Olhava, E.J., Roush, W.R., et al. NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases. Nat. Rev. Drug. Discov. 2018; 17 (8): 588-606. doi:10.1038/nrd.2018.97
71. Tavares A.H., Burgel P.H. and Bocca A.L. Turning up the heat: inflammasome activation by fungal pathogens. PLoS Pathog. 2015; 11 (7): e1004948. doi:10.1371/journal.ppat.1004948
72. Camilli G., Griffiths J.S., Ho J., et al. Some like it hot: *Candida* activation of inflammasomes. RPLoS Pathog. 2020; 16(10): e1008975. doi:10.1371/journal.ppat.1008975
73. Roselletti E., Perito S., Gabrielli E., et al. NLRP3 inflammasome is a key player in human vulvovaginal disease caused by *Candida albicans*. Sci. Rep. 2017; 7 (1): 17877. doi:10.1038/s41598-017-17649-8
74. He X., Tang Q., Zhan F., et al. Inflammatory invasion on human vaginal mucosa correlated with combined drug treatment and recurrence in recurrent vulvovaginal candidiasis. J. Obstet. Gynaecol. Res. 2023; 49 (5): 1443-51. doi: 10.1111/jog.15577

75. Lev-Sagie A, Prus D., Linhares I.M., et al. Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009; 200 (303): 301-306. doi: 10.1016/j.ajog.2008.10.039
76. Jaeger M., Carvalho A., Cunha C., et al. Association of a variable number tandem repeat in the NLRP3 gene in women with susceptibility to RVVC. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016; 35 (5): 797–801. doi: 10.1007/s10096-016-2600-5
77. Zelante T., Fallarino F., Bistoni F., et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase in infection: the paradox of an evasive strategy that benefits the host. *Microbes Infect.* 2009; 11 (1): 133-141. doi: 10.1016/j.micinf.2008.10.007
78. De Luca A., Carvalho A., Cunha C., et al. IL-22 and IDO1 affect immunity and tolerance to murine and human vaginal candidiasis. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (7): e1003486. doi:10.1371/journal.ppat.1003486
79. Borghi M., De Luca A., Puccetti M., et al. Pathogenic NLRP3 inflammasome activity during *Candida* infection is negatively regulated by IL-22 via activation of NLRC4 and IL-1Ra. *Cell Host Microbe.* 2015; 18 (2): 198-209. doi:10.1016/j.chom.2015.07.004
80. Yasuda K., Nakanishi K. and Tsutsui H. Interleukin-18 in health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (3): 649. doi: 10.3390/ijms20030649.
81. Borghi M., Pariano M., Solito V., et al. Targeting the Aryl hydrocarbon receptor with indole-3-aldehyde protects from vulvovaginal candidiasis via the IL-22-IL-18 cross-talk. *Front Immunol.* 2019; 10: 2364. doi:10.3389/fimmu.2019.02364
82. Liebau C., Baltzer A.W., Schmidt S., et al. Interleukin-12 and interleukin-18 induce indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity in human osteosarcoma cell lines independently from interferongamma. *Anticancer Res.* 2002; 22 (2A): 931-936. PMID: 12014674
83. Levy M., Thaïss C.A., Zeevi D., et al. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling. *Cell.* 2015; 163 (6): 1428-43. doi:10.1016/j.cell.2015.10.048
84. Hasselrot T., Alvendal C., Hunt S., et al. Vaginal transcriptional signatures of the neutrophil-driven immune response correlate with clinical severity during recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2025; 93 (1): e70040. doi:10.1111/aji.70040
85. Jarva M., Phan T.K., Lay F.T., et al. Human β -defensin 2 kills *Candida albicans* through phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-mediated membrane permeabilization. *Science Advances.* 2018; 4 (7): eaat0979. doi:10.1126/sciadv.aat0979
86. Vellyagounder K., Rozario S.D. and Fine D.H. The effects of human lactoferrin in experimentally induced systemic candidiasis. *Journal of Medical Microbiology.* 2019; 68 (12): 1802-1812. doi: 10.1099/jmm.0.001098
87. Khouj E., Maraf D., Aljamal B., et al. Human ‘Knockouts’ of CSF3 display severe congenital neutropenia. *British Journal of Haematology.* 2023; 203 (3): 477-480. doi:10.1111/bjh.19054
88. Consuegra-Asprilla J.M., Rodríguez-Echeverri C., Posada D.H., et al. Patients with recurrent vulvovaginal candidiasis exhibit a decrease in both the fungicidal activity of neutrophils and the proliferation of peripheral blood mononuclear cells. *Mycoses.* 2024; 67 (4): e13720. doi:10.1111/myc.13720
89. Consuegra-Asprilla J.M., Chaverra-Osorio M., Torres B., et al. Landscape of in situ cytokine expression, soluble C-type lectin receptors, and vitamin D in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Med Mycol.* 2024; 62 (9): myae091. doi:10.1093/mmy/myae091.
90. Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В. и др. Особенности местной защиты онкогематологических больных при орофарингеальном кандидозе. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2015; (3): 31-39. [Danilova E.Y., Shabashova N.V., Frolova E.V., et al. Features of local immunity in hematological patients with oropharyngeal candidiasis. *Immunopathology, allergology, infectology.* 2015; (3): 31-39. (In Russ.)]. doi: 10.14427/jipai.2015.3.56
91. Kasper L., König A., Koenig P.-A., et al. The fungal peptide toxin candidalysin activates the NLRP3 inflammasome and causes cytolysis in mononuclear phagocytes. *Nat. Commun.* 2018; 9 (1): 4260. doi:10.1038/s41467-018-06607-1
92. Liu J., Willems H.M.E, Sansevere E.A., et al. A variant ECE1 allele contributes to reduced pathogenicity of *Candida albicans* during vulvovaginal candidiasis. *PLoS Pathog.* 2021; 17 (9): e1009884. doi: 10.1371/journal.ppat.1009884
93. Valentine M., Rudolph P., Dietschmann A., et al. Nanobody-mediated neutralization of candidalysin prevents epithelial damage and inflammatory responses that drive vulvovaginal candidiasis pathogenesis *mBio.* 2024; 15 (3): e0340923. doi:10.1128/mbio.03409-23
94. Schaller M., Korting H.C., Borelli C., et al. *Candida albicans*-secreted aspartic proteinases modify the epithelial cytokine response in an in vitro model of vaginal candidiasis. *Infect. Immun.* 2005; 73 (5): 2758-2765. doi:10.1128/IAI.73.5.2758-2765.2005
95. Gropp K., Schild L., Schindler S., et al. The yeast *Candida albicans* evades human complement attack by secretion of aspartic proteases. *Mol. Immunol.* 2009; 47 (2-3): 465-475. doi:10.1016/j.molimm.2009.08.019
96. De Bernardis F., Amacker M., Arancia S., et al. A virosomal vaccine against candidal vaginitis: Immunogenicity, efficacy and safety profile in animal models. *Vaccine.* 2012; 30 (30): 4490-4498. doi:10.1016/j.vaccine.2012.04.069
97. Whaley S.G. and Rogers P.D. Azole resistance in *Candida glabrata*. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2016; 18 (12): 41. doi:10.1007/s11908-016- 0554-5

98. Willems H.M.E., Lowes D.J., Barker K.S., et al. Comparative analysis of the capacity of the *Candida* species to elicit vaginal immunopathology. *Infect. Immun.* 2018; 86 (12): e00527. doi.org/10.1128/iai.00527-18.
99. Cornely O.A., Sprute R., Bassetti M., et al. Global guideline for the diagnosis and management of candidiasis: An initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. *Lancet Infect. Dis.* 2025; 25: e280-e293. doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00749-7
100. David H. and Solomon A.P. Molecular association of *Candida albicans* and vulvovaginal candidiasis: Focusing on a solution. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023; 13:1245808. doi.org/10.3389/fcimb.2023.1245808
101. Bhosale V.B., Koparde A.A. and Thorat V.M. Vulvovaginal candidiasis-an overview of current trends and the latest treatment strategies. *Microb. Pathog.* 2025; 200:107359. doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107359
102. Willems H.M.E., Ahmed S.S., Liu J., et al. Vulvovaginal candidiasis: a current understanding and burning questions. *J Fungi (Basel)*. 2020; 25; 6 (1): 27. doi: 10.3390/jof6010027
103. Lowes D.J., Hevener K.E., Peters B.M. Second-generation antidiabetic sulfonylureas inhibit *Candida albicans* and candidalysin-mediated activation of the NLRP3 inflammasome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2020; 27; 64 (2): e01777-19. doi: 10.1128/AAC.01777-19
104. De Bernardis F., Graziani S., Tirelli F., Antonopoulou S. *Candida* vaginitis: virulence, host response and vaccine prospects. *Med Mycol.* 2018; 56 (1): 26-31. doi: 10.1093/mmy/myx139
105. Schmidt C.S., White C.J., Ibrahim A.S., et al. NDV-3, a recombinant alum-adjuvanted vaccine for *Candida* and *Staphylococcus aureus*, is safe and immunogenic in healthy adults. *Vaccine.* 2012; 30 (52): 7594-600. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.10.038
106. Edwards J.E. Jr., Schwartz M.M., Schmidt C.S., et al. A Fungal immunotherapeutic vaccine (NDV-3A) for treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis-a phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin. Infect Dis.* 2018; 66 (12):1928-1936. doi: 10.1093/cid/ciy185
107. Pistoia E.S., Cosio T., Campione E., et al. All-trans retinoic acid effect on *Candida albicans* growth and biofilm formation. *J Fungi (Basel)*. 2022; 8 (10): 1049. doi: 10.3390/jof8101049
108. Hameed S., Hans S., Monasky R., et al. Understanding human microbiota offers novel and promising therapeutic options against *Candida* infections. *Pathogens*, 2021; 10 (2):183. doi.org/10.3390/pathogens10020183
109. Chee W.J.Y., Chew S. and Than L.T.L. Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *MCFs.* 2020; 19: 203. doi.org/10.1186/s12934-020-01464-4
110. Falagas M.E., Betsi G.I. and Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 58: 266-272. doi.org/10.1093/jac/dkl246
111. Vladareanu R., Miha D., Mitran M., et al. New evidence on oral *L. plantarum* P17630 product in women with history of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC): A randomized double-blind placebo-controlled study. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2018; 22: 262-267. doi.org/10.26355/eurrev_201801_14128
112. Li T., Liu Z., Zhang X., et al. Local probiotic *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus delbrueckii* exhibit strong antifungal effects against vulvovaginal candidiasis in a rat model. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 1033. doi.org/10.3389/fmicb.2019.01033
113. Buggio L., Somigliana E., Borghi A. and Vercellini P. Probiotics and vaginal microecology: Fact or fancy? *BMC Women's Health.* 2019; 19: 25. doi.org/10.1186/s12905-019-0723-4
114. Kira E.F., Pripitnevich T.V., Muravieva V.V. and Khalturina Y.V. Vaginal microbiota transplantation. *OB-GYN.* 2023; 39-46. doi.org/10.18565/aig.2023.142
115. Lev-Sagie A., Goldman-Wohl D., Cohen Y., et al. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat. Med.* 2019; 25: 1500-1504. doi.org/10.1038/s41591-019-0600-6
116. Chen T., Xia C., Hu H., et al. Dysbiosis of the rat vagina is efficiently rescued by vaginal microbiota transplantation or probiotic combination. *Intern. J. Antimicrob. Agents.* 2021; 57 (3): 106277. doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106277
117. Lu F., Wei J., Zhong Y., et al. Antibiotic therapy and vaginal microbiota transplantation reduce endometriosis disease progression in female mice via NF-kappaB signaling pathway. *Front. Med.* 2022; 9: 831115. doi.org/10.3389/fmed.2022.831115

Поступила в редакцию журнала 03.07.25

Принята к печати 02.10.25



Для цитирования: Кондратенко О.В., Бичурина П.Н. Особенности микроэкологии параназальных синусов у здоровой популяции и пациентов с муковисцидозом. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3):19-23. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-19-23

For citation: Kondratenko O.V., Bichurina P.N. Features of the microecology of paranasal sinuses in a healthy population and patients with cystic fibrosis. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3):19-23. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-19-23

ОСОБЕННОСТИ МИКРОЭКОЛОГИИ ПАРАНАЗАЛЬНЫХ СИНУСОВ У ЗДОРОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ И ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

Кондратенко О.В. (зав. кафедрой)*, Бичурина П.Н. (студентка)

Самарский государственный медицинский университет (кафедра медицинской микробиологии и иммунологии), Самара, Россия

Муковисцидоз – наиболее распространенное генетическое заболевание, отличительной особенностью которого являются респираторные осложнения. В основе патогенеза муковисцидоза лежит мутация в гене муковисцидозного трансмембранного регулятора, приводящая к повышенной вязкости не только мокроты, но и секрета параназальных синусов.

В статье представлена сравнительная оценка видового разнообразия микробиоты, выделенной из параназальных синусов 30 пациентов с муковисцидозом и 30 здоровых молодых людей. Проведен анализ микроэкологических особенностей локуса с изучением коэффициента постоянства С и коэффициента Жаккара. Продемонстрированы различия в видовом составе, структуре постоянной и добавочной микробиоты. Показано, что у пациентов с муковисцидозом в параназальных синусах формируется сложное микроэкологическое сообщество, ассоциированное с более высокими показателями симбиотических и мутуалистических отношений между видами, в том числе исходно являющихся природными антагонистами.

Ключевые слова: муковисцидоз, параназальные синусы, микробиота, микроэкология, синергизм, антагонизм

FEATURES OF THE MICROECOLOGY OF PARANASAL SINUSES IN A HEALTHY POPULATION AND PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

Kondratenko O.V. (head of the department), Bichurina P.N. (student)

Samara State Medical University (Department of Medical Microbiology and Immunology), Samara, Russia

Cystic fibrosis is the most common genetic disease characterized by respiratory complications. The pathogenesis of cystic fibrosis is based on a mutation in the cystic fibrosis transmembrane regulator gene, which leads to increased viscosity not only of sputum, but also of paranasal sinus secretions.

The article provides a comparative assessment of the species diversity of microbiota isolated from the paranasal sinuses of 30 patients with cystic fibrosis and 30 healthy young people. The microecological features of the locus were evaluated with the study of the C constancy coefficient and the Jaccard coefficient. Differences in the species composition, structure of permanent and additional microbiota are demonstrated. It has been shown that in patients with cystic fibrosis, a complex microecological community is formed in the paranasal sinuses, associated with higher rates of symbiotic and mutualistic relationships between species, including those that are initially natural antagonists.

Key words: cystic fibrosis, paranasal sinuses, microbiota, microecology, synergism, antagonism

ВВЕДЕНИЕ

Человек является уникальной экосистемой, представленной большим количеством различных микроорганизмов, занимающих определенные биотопы и находящихся в состоянии постоянного физиологического динамического равновесия между собой. Многочисленные виды микробов, населяющие макроорганизм, создают микробиоценозы, имеющие свои особенности для каждого биотопа [1]. Микробиота

* Контактное лицо: Кондратенко Ольга Владимировна,
e-mail: o.v.kondratenko@samsmu.ru

полости носа и околоносовых пазух представляет собой сбалансированную микробную «выстилку», меняющуюся от преддверия носа к ротоглотке в зависимости от среды обитания (кожа, многоядный мерцательный или плоскоклеточный эпителий), состояния иммунной системы, факторов внешней среды, приема лекарственных средств, возраста, а также образа жизни. С возрастом микробная биота постепенно меняется и становится разнообразной. Уникальный характер микробиома носовой полости и параназальных синусов связан преимущественно с наличием бактерий типа *Actinobacteria*, *Firmicutes*, в меньшей степени – *Proteobacteria*. В структуре представителей семейств можно наблюдать *Corynebacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, *Moraxellaceae* и *Carnobacteriaceae*, реже – *Leuconostocaceae*, *Comamonadaceae*, *Propionibacteriaceae* и *Brucellaceae* [2].

Постоянная (резидентная, индигенная, или аутохтонная) микробиота представлена видами, непрерывно присутствующими в организме. Транзиторная (непостоянная, или аллохтонная) микробиота не способна к длительному существованию в организме. Микробиоценоз верхних дыхательных путей (ВДП) может меняться в зависимости от различных факторов, при этом изменения в его составе могут быть как причиной, так и следствием разных заболеваний [3]. Так, например, одним из частых осложнений муковисцидоза (МВ) являются заболевания пазух носа. МВ – это аутосомно-рецессивное моногенное наследственное заболевание, характеризующееся поражением всех экзокринных желёз. Как и в нижних дыхательных путях, дефект гена муковисцидозного трансмембранного регулятора (МВТР) приводит к повышенной вязкости секрета в околоносовых пазухах, что также способствует присоединению микробиоты и развитию хронических риносинуситов. При исследовании микробиоты ВДП у пациентов с МВ наиболее часто выделяют *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* [4]. Актуальной проблемой в медицине является изучение причинно-следственных связей микробиоты человека с различными формами патологии организма. Микробиоценоз биотопов организма человека имеет стабильную (постоянную) доминантную микробиоту, выполняющую функцию «помощника» для формирования колонизационной резистентности. Вместе с тем, включение в данный симбиоз случайной (транзиторной) микробиоты (бактерий-ассоциантов) может иметь разные последствия для гомеостаза хозяина [5].

Цель работы: оценить микробиоту околоносовых пазух и характер межмикробных взаимодействий у здоровой популяции и пациентов с муковисцидозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование осуществляли на базе микробиологического отдела КДЛ клиник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России).

Проводили посев и идентификацию микроорганизмов, полученных в 2024 г., из 30 проб назального лаважа от здоровой популяции и 30 проб от пациентов с муковисцидозом. Сбор материала выполнялся каждым наблюдаемым самостоятельно промыванием носа с помощью назального душа. Далее промывные воды доставляли в лабораторию в течение 2 часов после сбора, где проводили посев на расширенный перечень питательных сред, включающий в себя 5% кровяной агар, универсальную хромогенную среду («Conda», Испания), среду «OFBPL» («HiMedia», Индия), среду Сабуро с последующим культивированием и оценкой характера выросших колоний. Идентификацию осуществляли с применением MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight) масс-спектрометра «Bruker microflex». Для выявления долевого участия разных видов микроорганизмов в структуре биоценоза использовали коэффициент постоянства С по формуле: $C = p \cdot 100 / r$, где p – число наблюдений, содержащих изучаемый вид; r – общее число наблюдений. При $C \geq 50\%$ микроорганизмы были отнесены к представителям постоянной микробиоты; при значении $25\% \leq C \leq 50\%$ – добавочной; при $C < 5\%$ – случайной. В целях определения характера симбиотических взаимодействий между членами микробиоценоза вычисляли коэффициент сходства Жаккара (q) по формуле: $q = (c / (a + b - c)) \cdot 100\%$, где a – число наблюдений с видом a ; b – число наблюдений с видом b ; c – число наблюдений, содержащих оба вида. При показателе $q \leq 30\%$ характер межвидовых отношений расценивали как антагонистический; при значениях $q = 30-70\%$ – как синергетический; а при значениях $q \geq 70\%$ – как мутуалистический.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования выделено 192 штамма микроорганизмов, среди которых были представители 90 видов, из них: 46 видов – среди здоровой популяции и 44 вида – среди пациентов с муковисцидозом. Сравнительная характеристика выявленных штаммов представлена на рисунках 1 и 2.

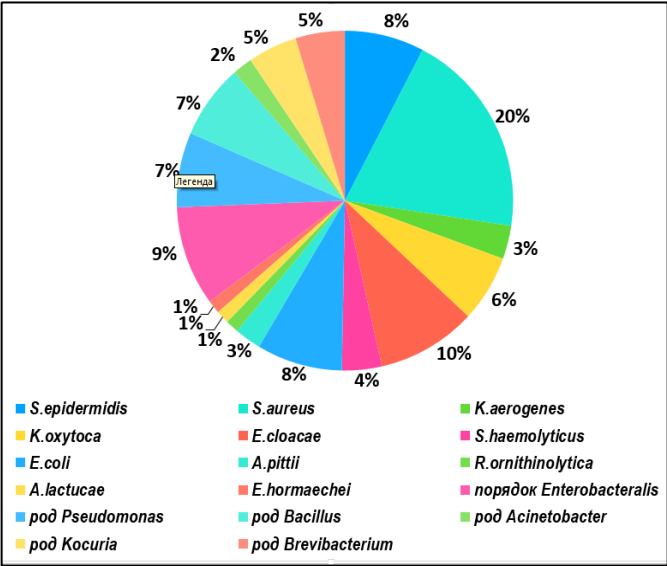


Рис. 1. Спектр микроорганизмов, выделенных из жидкости назального лаважа здоровых людей.

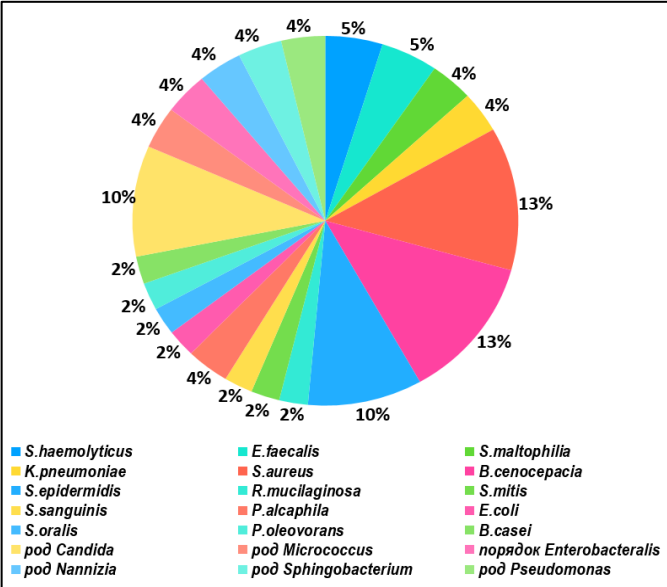


Рис. 2. Спектр микроорганизмов, выделенных из жидкости назального лаважа пациентов с муковисцидозом.

При расчете коэффициента постоянства С у здоровой популяции людей постоянная микробиота была представлена *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, добавочная микробиота: *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella aerogenes*. Остальные микроорганизмы были отнесены к случайной микробиоте, а именно: *Chryseobacterium truncae*, *Streptomyces ochromogenes*, *Candida albicans*, *Lactacaseibacillus paracasei*, *Pichia fermentalis*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter cloacae*, *Nannizzia* sp., *Bacillus thuringiensis*, *Pantoea agglomerans*, *Acidiphilum acidophilum*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas putida*, *Arthroderma plavescens*, *Sphingomonas puititosa*, *Escherichia coli*, *Aquamicrobium lusatiense*, *Glutamicibacter*

creatinolyticus, *Brevindimonas diminuta*, *Kocuria carniphila*, *Acinetobacter lwoffii*, *Pseudomonas stutzeri*, *Ochrobactrum gallinifaccis*, *Leucobacter alluvii*, *Bacillus pumilus*, *Aeromonas bestiarum*, *Acinetobacter pseudolwoffii*, *Enterobacter lugwigii*, *Kocuria rhizophila*, *Arthobacter pascens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter lactucae*, *Enterobacter hormaechei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pseudomonas flagi*, *Glutamicibacter soli*.

При расчете коэффициента постоянства С у пациентов с МВ постоянная микробиота была представлена *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Burkholderia cenocepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, добавочная: *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *S. balius*. Остальные микроорганизмы были отнесены к случайной микробиоте, а именно: *Corynebacterium falsenii*, *Pseudomonas stutzeri*, *Lactobacillus scrimmeri*, *Ochrobactrum anthropi*, *Pseudomonas alcaliphilia*, *Rhodococcus equi*, *Nannizzia incurvata*, *Actinomyces oris*, *Cutibacterium acnes*, *Acinetobacter ursungii*, *Pichia occidentalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Abiotropia detectiva*, *Micrococcus luteus*, *Candida tropicalis*, *Haemophilus influenzae*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Roseomonas aerofrigidensis*, *Sphingobacterium hotanense*, *Brevibacterium celere*, *Pantoea septica*.

Для представителей постоянной и добавочной микробиоты в обеих выборках были составлены пары видов с целью оценки характера их симбиотических отношений с использованием критерия Жаккара.

В популяции здоровых людей установлены слабые синергетические взаимоотношения между *S. epidermidis* и *K. oxytoca*. Касательно остальных пар отмечены антагонистические характеры взаимоотношений. Показатели критерия Жаккара для указанной выборки обследованных лиц представлены в таблице 1.

Таблица 1
Коэффициент сходства Жаккара для пар микроорганизмов, выделенных из параназальных синусов здоровых людей

Ассоциации видов	a	B	c	q (%)
<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>	15	7	4	22,2
<i>S. aureus</i> + <i>K. oxytoca</i>	15	5	2	11,1
<i>S. aureus</i> + <i>E. cloacae</i>	15	8	2	9,5
<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>	15	3	0	0
<i>S. epidermidis</i> + <i>K. oxytoca</i>	7	5	3	33,3
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. cloacae</i>	7	8	3	25
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. coli</i>	7	3	0	0
<i>K. oxytoca</i> + <i>E. cloacae</i>	5	8	0	0
<i>K. oxytoca</i> + <i>E. coli</i>	5	3	0	0
<i>E. cloacae</i> + <i>E. coli</i>	8	3	0	0

Комментарии: при q≤30% характер межвидовых отношений антагонистический; при значениях q=30-70% – синергетический; при значениях q ≥70% – мутуалистический.

В отношении популяции пациентов с МВ мутуалистический характер взаимоотношений наблюдали в паре видов *S. haemolyticus* + *P. alcaliphila*, синергетический – в парах *S. aureus* + *B. cenocepacia*, *B. cenocepacia* + *P. alcaliphila*, *P. aeruginosa* + *C. albicans*, *P. aeruginosa* + *E. faecalis*, *P. alcaliphila* + *C. albicans*. У других пар микроорганизмов выявлен антагонистический характер взаимоотношений.

Подробные значения показателей критерия сходства Жаккара для микробиоты, выделенной от пациентов с МВ, представлены в таблице 2.

Таблица 2

Коэффициент сходства Жаккара для пар микроорганизмов, выделенных из параназальных синусов пациентов с муковисцидозом

Ассоциации видов	a	B	c	q (%)
<i>S. aureus</i> + <i>B. cenocepacia</i>	11	11	5	64,70
<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>	11	8	3	18,75
<i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i>	11	6	0	0
<i>S. aureus</i> + <i>C. albicans</i>	11	5	1	6,67
<i>S. aureus</i> + <i>S. haemolyticus</i>	11	4	0	0
<i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i>	11	3	3	27,27
<i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i>	11	4	0	0
<i>S. aureus</i> + <i>P. alcaliphila</i>	11	3	0	0
<i>B. cenocepacia</i> + <i>S. epidermidis</i>	11	8	4	26,67
<i>B. cenocepacia</i> + <i>P. aeruginosa</i>	11	4	0	0
<i>B. cenocepacia</i> + <i>C. albicans</i>	11	6	1	6,67
<i>B. cenocepacia</i> + <i>S. haemolyticus</i>	11	4	1	7,14
<i>B. cenocepacia</i> + <i>K. pneumoniae</i>	11	3	2	16,67
<i>B. cenocepacia</i> + <i>E. faecalis</i>	11	4	0	0
<i>B. cenocepacia</i> + <i>P. alcaliphila</i>	11	3	4	40,0
<i>S. epidermidis</i> + <i>P. aeruginosa</i>	8	6	3	27,27
<i>S. epidermidis</i> + <i>C. albicans</i>	8	5	2	18,18
<i>S. epidermidis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	8	4	1	9,09
<i>S. epidermidis</i> + <i>K. pneumoniae</i>	8	3	1	10,0
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. faecalis</i>	8	4	1	9,09
<i>S. epidermidis</i> + <i>P. alcaliphila</i>	8	3	0	0
<i>P. aeruginosa</i> + <i>C. albicans</i>	6	5	3	37,5
<i>P. aeruginosa</i> + <i>S. haemolyticus</i>	6	4	1	11,11
<i>P. aeruginosa</i> + <i>K. pneumoniae</i>	6	3	0	0
<i>P. aeruginosa</i> + <i>E. faecalis</i>	6	4	3	42,86
<i>P. aeruginosa</i> + <i>P. alcaliphila</i>	6	4	0	0
<i>C. albicans</i> + <i>S. haemolyticus</i>	5	4	0	0
<i>C. albicans</i> + <i>K. pneumoniae</i>	5	3	0	0
<i>C. albicans</i> + <i>E. faecalis</i>	5	4	1	12,5
<i>C. albicans</i> + <i>P. alcaliphila</i>	5	3	2	33,33
<i>S. haemolyticus</i> + <i>K. pneumoniae</i>	4	3	0	0
<i>S. haemolyticus</i> + <i>E. faecalis</i>	4	4	0	0
<i>S. haemolyticus</i> + <i>P. alcaliphila</i>	4	3	3	75
<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. faecalis</i>	3	4	0	0
<i>K. pneumoniae</i> + <i>P. alcaliphila</i>	3	3	0	0
<i>E. faecalis</i> + <i>P. alcaliphila</i>	4	3	0	0

Комментарии: при $q \leq 30\%$ характер межвидовых отношений антагонистический; при значениях $q = 30-70\%$ – синергетический; при значениях $q \geq 70\%$ – мутуалистический.

Согласно полученным результатам, микроэкология параназальных синусов пациентов с МВ значительно отличается по видовому составу и характеру межмикробных взаимодействий от здоровой популяции лиц. Обращает на себя внимание присутствие специфических МВ-патогенов, таких как *B. cenocepacia* и *P. aeruginosa*. При оценке характера межмикробных взаимодействий микробиоты, выделенной от здоровых людей, отмечено, что практически отсутствовали значимые положительные связи между видами. Лишь у пары видов *S. epidermidis* и *K. oxytoca* установлены слабые синергетические связи (коэффициент Жаккара $q = 33,3\%$). Для остальных пар микроорганизмов выявлен антагонистический характер взаимоотношений, что свидетельствует об их конкурентном характере взаимодействий. В то же время при анализе межмикробных взаимоотношений популяции, выделенной от пациентов с МВ, наблюдали мутуалистический характер взаимодействий для пары *S. haemolyticus* и *P. alcaliphila* (коэффициент Жаккара $q = 75,0\%$), а также синергизм в отношении пяти пар микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

Установлено, что у пациентов с муковисцидозом в параназальных синусах формируется сложная модифицированная экологическая ниша с более высоким уровнем положительных межмикробных связей по сравнению со здоровой популяцией лиц. Также обращает на себя внимание изменение характера межмикробных взаимодействий между «традиционными» антагонистами, в частности *S. aureus* и *B. cenocepacia*, на синергетические, приближающиеся по степени своих положительных связей к мутуализму (коэффициент Жаккара $q = 64,9\%$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Зверев В.В., Бойченко. Медицинская микробиология. Учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023: 132-133. [Zverev V.V., Boychenko. M.N. Medical Microbiology. Textbook. Moscow: GEOTAR-Media, 2023: 132-133. (In Russ.)]
2. Сайченко И.А., Алиджанова Ф.П., Зюзина Д.В. и др. Особенности микробиоты полости носа у пациентов с аллергическим ринитом. Consilium Medicum. 2024; 26 (9): 557-561. [Saichenko I.A., Alidzhanova F.P., Zyuzina D.V., et al. Features of nasal cavity microbiota in patients with allergic rhinitis. Consilium Medicum. 2024; 26 (9): 557-561. (In Russ.)]. doi:10.26442/20751753.2024.9.202675
3. Лопатин А.С., Азизов И.С., Козлов Р.С. Микробиом полости носа и околоносовых пазух в норме и при патологии. Часть II. Российская ринология. 2021; 29 (2): 8189. [Lopatin AS, Azizov IS, Kozlov RS. Microbiome of nasal cavity and paranasal sinuses in norm and pathology. Part II. Russian Rhinology. 2021; 29 (2): 8189. (In Russ.)]. doi.org/10.17116/rosrino20212902181
4. Кондратенко О.В., Жестков А.В., Медведева Е.Д. и др. Мониторинг микрофлоры параназальных синусов как способ ранней профилактики колонизации нижних дыхательных путей клинически значимыми штаммами микроорганизмов у пациентов с муковисцидозом. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018; 20 (5): 569-278. [Kondratenko O.V., Zhestkov A.V., Medvedeva E.D., et al. Monitoring of the microflora of the paranasal sinuses as a method for early prevention of colonization of the lower respiratory tract by clinically significant strains of microorganisms in patients with cystic fibrosis. Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2018; 20 (5): 569-578. (In Russ.)]
5. Немченко У.М., Савелькаева М.В., Ракова Е.Б. и др. Микроэкологическая характеристика кишечного биоценоза у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; (6): 368-371. [Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V., Rakova E.B., et al. Microecological characteristics of intestinal biocenosis in children with functional gastrointestinal disorders. Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; (6): 368-371. (In Russ.)]. doi:10.18821/0869-2084-2016-61-6-368-371

Поступила в редакцию журнала 04.06.25

Принята к печати 29.05.25



Для цитирования: Панова Ю.А., Хостелиди С.Н., Мошина С.М., Ковыршин С.В., Богомолова Т.С., Чилина Г.А., Выборнова И.В., Тараскина А.Е., Васильева Н.В. Инвазивный микоз, обусловленный *Magnusiomyces capitatus*. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 24-30. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-24-30

For citation: Panova Yu.A., Khostelidi S.N., Moshina S.M., Kovyrrshin S.V., Bogomolova T.S., Chilina G.A., Vybornova I.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V. Invasive mycosis caused by *Magnusiomyces capitatus*. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 24-30. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-24-30

ИНВАЗИВНЫЙ ОБУСЛОВЛЕННЫЙ *MAGNUSIOMYCES* *CAPITATUS*

¹Панова Ю.А. (клин. ординатор), ¹Хостелиди С.Н. (профессор)*, ²Мошина С.М. (врач-гематолог), ¹Ковыршин С.В. (м.н.с.), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ¹Выборнова И.В. (н.с.), ¹Тараскина А.Е. (зав. лаб.), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии), Санкт-Петербург; ²Республиканская больница им. В.А. Баранова, Петрозаводск, Россия

Грибковые инфекции, вызванные редкими возбудителями, становятся все более актуальной проблемой современного здравоохранения в связи с тяжелым течением заболевания, высокой инвалидизацией и летальностью пациентов. Наиболее тяжело протекают инвазивные микозы, ассоциированные с редкими дрожжеподобными патогенами, в том числе *Magnusiomyces capitatus*.

Провели проспективное наблюдательное исследование в течение 20 лет (2005-2025 гг.); в регистр пациентов с инвазивными микозами, вызванными редкими дрожжеподобными патогенами, включили 32 человека. У 6 пациентов причиной инвазивного микоза был *M. capitatus*. Чаще всего возбудитель выделяли из крови или биопленки центрального венозного катетера (67%). Несмотря на лечение, летальность составила 50%.

В статье также представлен клинический случай инвазивного микоза, обусловленного *M. capitatus*, у пациентки с острым миелобластным лейкозом. Приведен анализ литературы.

Ключевые слова: *Magnusiomyces capitatus*, острый лейкоз, острый миелоидный лейкоз, сепсис, фунгемия, редкие дрожжеподобные микромицеты

INVASIVE MYCOSIS CAUSED BY *MAGNUSIOMYCES CAPITATUS*

¹Panova Yu.A. (clinical resident), ¹Khostelidi S.N. (professor), ²Moshina S.M. (hematologist), ¹Kovyrrshin S.V. (junior scientific researcher), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ¹Vybornova I.V. (scientific researcher), ¹Taraskina A.E. (head of the laboratory), ¹Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology; Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology), St. Petersburg; ²V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russia

Fungal infections caused by rare pathogens are becoming an increasingly pressing problem in modern healthcare due to their severe course, high morbidity, and mortality rates. Invasive mycoses associated with rare yeast-like pathogens, including *Magnusiomyces capitatus*, are the most severe.

A prospective observational study was conducted over 20 years (2005-2025). Thirty-two patients with invasive mycoses caused by rare yeast-like pathogens were included in the registry. *M. capitatus* was the cause of invasive mycosis in six patients. The pathogen was most often isolated from blood or central venous catheter biofilm (67%). Despite treatment, the mortality rate was 50%.

The article also presents a clinical case of invasive mycosis caused by *Magnusiomyces capitatus* in a patient with acute myeloid leukemia. A literature review is also conducted.

Key words: *Magnusiomyces capitatus*, acute leukemia, acute myeloid leukemia, sepsis, fungemia, rare yeast-like pathogens

* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна,
e-mail: Sofya.Khostelidi@szgmu.ru

ВВЕДЕНИЕ

Magnusiomyces capitatus (прежние названия – *Blastoschizomyces capitatus*, *Saprochaete capitata*, *Trichosporon capitatum* и *Geotrichum capitatum*) – это редкий патоген, вызывающий опасные для жизни инфекции у иммунокомпрометированных пациентов, особенно при тяжелой нейтропении. Данный возбудитель распространен повсеместно. Его можно обнаружить в почве, воде, воздухе, а также в пищеварительном тракте людей и других млекопитающих [1-3]. Диагностика инвазивного микоза, ассоциированного с *Magnusiomyces* spp., является сложной задачей и основывается на выделении грибов из образцов крови или тканей [4-9]. Число публикаций, посвященных данной проблеме, ограничено.

В статье представлены данные регистра пациентов с инвазивными микозами, обусловленными *Magnusiomyces* spp., описан клинический случай и приведен обзор литературы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагноз инвазивного микоза устанавливали на основании критериев Европейской организации по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer – EORTC) и группы, исследующей микозы (Mycoses Study Group Education and Research Consortium – MSGERC, США), от 2020 г. [10]. На базе кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии был создан регистр данных больных тяжелыми грибковыми инфекциями, вызванными редкими возбудителями, с более чем 200 показателями [11].

Пациентов включали в исследование на основании соответствия критериям диагностики инвазивных микозов. При наличии фоновых заболеваний и факторов риска развития инвазивных микозов считали подтвержденными присутствие факторов «хозяина». При выявлении *Magnusiomyces* spp. в стерильных в норме биосубстратах диагностировали инвазивный микоз.

Микологические методы диагностики включали прямую микроскопию, посев и гистологическое исследование. Анализ биоматериала с целью получения культуры возбудителя выполняли с помощью посева на плотные или жидкие среды Сабуро или сусло-агар с добавлением пенициллина и стрептомицина (100-200 ед/мл среды). Посев проводили в двух повторениях при различных температурных режимах (37 °C и 28 °C). Время инкубации в термостате – не менее 10-14 суток. При наличии роста культуры грибов в трех или двух точках высев считали диагностически значимым, в одной точке – случайным, что требовало повторного изучения материала от больного. Идентификацию культур осуществляли на основании макро-

морфологических и микроморфологических признаков полученных колоний микромицетов. Выполняли гистологическое исследование образцов тканей, которые помещали в 2 стерильные пробирки. Один образец материала просматривали при прямой микроскопии с окраской калькофлюором белым и проводили посев на питательные среды с целью получения культуры и ее дальнейшей идентификации. Из второго образца готовили гистологические препараты.

Чувствительность к антимикотическим препаратам выявляли в соответствии с Российскими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия 2024-02 и протоколом EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) E.DEF 7.4. Ввиду отсутствия утвержденных пороговых значений и эпидемиологических точек отсечения (ECOFF) интерпретацию полученных минимальных подавляющих концентраций (МПК) не проводили. Видовую идентификацию выделенной культуры осуществляли методами ДНК-секвенирования по локусам NL1 и NL4.

После постановки диагноза больным назначали антимикотическую терапию согласно международным рекомендациям и в соответствии с имеющимися данными о чувствительности возбудителей к антимикотикам.

Для статистического анализа полученных данных использовали программу «StatSoft Statistica» (версия 12.1). Выживаемость анализировали с помощью метода Каплана-Мейера.

Клиническое наблюдение.

Пациентка Т., 51 год, госпитализирована в ноябре 2024 г. в гематологическое отделение с диагнозом «острый миелобластный лейкоз» (ОМЛ), М4 по франко-американо-британской (FAB) классификации, без хромосомных аномалий.

Из анамнеза известно, что в мае 2023 г. появились жалобы на слабость, вялость, боли в коленных суставах, слабость ног при ходьбе. При обследовании по месту жительства в крови выявлена анемия (до 74 г/л). При дальнейшем обследовании в крови обнаружена бластемия, в связи с чем пациентка была госпитализирована в гематологическое отделение. Первый курс полихимиотерапии (ПХТ) по схеме «7+3 (dauno)» проведен в августе 2023 г. В период фебрильной нейтропении получала гемотранфузионную поддержку, антимикотическую профилактику флуконазолом (300 мг) и вориконазолом (200 мг) 2 раза в сутки, а также противомикробную (антибактериальную и противовирусную). По результатам контрольной пункции костного мозга была достигнута полная клинико-гематологическая ремиссия.

В марте 2024 г. пациентка была госпитализирована для проведения очередного курса ПХТ. После

завершения курса поддерживающей терапии в миелограмме уровень миелобластов составил 22,2%. Диагностирован рецидив ОМЛ, в связи с чем был начат курс противорецидивной терапии (вайдаза-венетоклакс). Через 14 дней наблюдали рост бластемии. В связи с отсутствием эффекта на фоне лечения начат противорецидивный курс ПХТ «FLAG-mito». В период цитостатической аплазии гемопоэза больная получала: вориконазол – 200 мг 2 раза, сульфаметоксазол + триметоприм – 480 мг, пиперацillin + тазобактам – 4,5 г 3 раза в день и амикацин – 1 г, филграстим – 300 мг. После первого курса ПХТ «FLAG-mito» в периферической крови бластемии не выявлено, отмечали восстановление гемопоэза. В качестве поддерживающей терапии назначен низкоинтенсивный курс «кладрибин – венетоклакс – цитабин».

При очередном обследовании по месту жительства в клиническом анализе крови обнаружен тотальный бластоцитоз. С ноября 2024 г. начата монотерапия идарубицином. Пациентка постоянно получала сопроводительную гемотрансфузионную терапию. На фоне ПХТ сохранялась аплазия гемопоэза с фебрильной нейтропенией. В декабре 2024 г. в связи с рефрактерной бластемией дополнительно выполнено введение децитабина и цитозара (без осложнений). В период фебрильной нейтропении была проведена профилактика инфекционных осложнений: меропенем – 3 г в сутки, ванкомицин – 2 г в сутки, амикацин – 1 г в сутки; вориконазол – 200 мг 2 раза в сутки. Дополнительно получала эмпирическую терапию: амфотерицин В липидный комплекс – 200 мг в сутки в течение 2 недель, затем этот препарат был заменен на микафунгин – 100 мг в сутки, который пациентка получала весь период госпитализации.

В январе 2025 г. появились высыпания герпетического характера на коже левой половины грудной клетки, левой аксиллярной области, левой половины спины, в связи с чем начато лечение валацикловиrom; через неделю был добавлен полимиксин В в дозе 2,5 мг/кг массы тела. На фоне проводимой терапии: сохранялась субфебрильная температура, катаральные явления отсутствовали. Пациентка предъявляла жалобы на кашель без мокроты и подъемы температуры тела до 37,9 °С. Неоднократно взяты посевы крови – результаты отрицательные. В этот же период удален центральный венозный катетер (ЦВК), установленный в середине ноября (время использования – 65 дней). Откорректировано лечение фебрильной нейтропении: полимиксин, тигециклин + меропенем, вориконазол, ганцикловир. При телемедицинской консультации специалистами НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина рекомендованы эскалация антимикотической терапии – липосомальный амфотерицин В в дозе 5 мг/кг/сутки и дообследование: контрольные посевы крови, бронхо-альвеолярного ла-

важа, мочи, компьютерная томография органов грудной и брюшной полости, смена ЦВК 1 раз в 10 дней с посевом дистального края катетера.

По данным компьютерной томографии легких выявлена двусторонняя пневмония. На фоне проводимого лечения нарастала дыхательная и полиорганная недостаточность, в связи с чем пациентка была переведена в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В этот же период был получен результат посева дистального края катетера – дрожжеподобные грибы; культура передана для идентификации в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Возбудитель идентифицирован как *M. capitatus* (Рис. 1, 2).

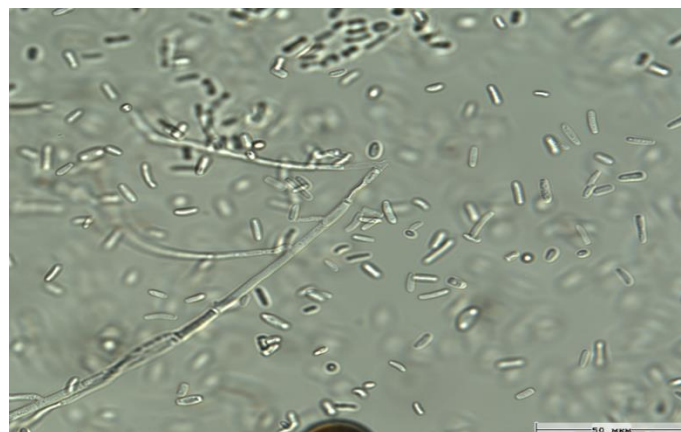


Рис. 1. Прямая микроскопия культуры *M. capitatus*, x400.



Рис. 2. Рост *M. capitatus* на среде Сабуро.

Описание культуры *M. capitatus*: на агаре Сабуро колония плоская, матовая, в центре – тонко-морщинистая, с белым ободком, бархатистая; края ровные с гифальными элементами. При микроскопии культуры можно обнаружить гифы мицелия – септированные, бесцветные, разветвлённые, шириной 2,5-3,7 мкм, Конидии гладкие, гиалиновые, бесцветные, одноклеточные, цилиндрические, размером 2,8-3,0 x

7,0-13,6 мкм. Часто присутствуют прямоугольные артроконидии.

При определении чувствительности к противогрибковым лекарственным средствам *in vitro* установлены следующие минимальные подавляющие концентрации (МПК, мг/л): флуконазол – 8, вориконазол – 0,125, позаконазол – 0,125, итраконазол – 0,125, амфотерицин В – 1, анидулафунгин – 4.

При повторном посеве крови выделен тот же возбудитель. Через 2 дня после замены ЦВК и смены антимикотической терапии пациентка умерла. Основная причина смерти – сепсис, полиорганная недостаточность. Общая продолжительность антимикотической терапии после постановки диагноза – 6 дней.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании критериев EORTC/MSGERC (2020) в период с 2004 по 2025 гг. в регистр больных инвазивными микозами, ассоциированными с редкими дрожжеподобными возбудителями, были включены 32 взрослых пациента в возрасте от 18 лет до 61 года, медиана – 30 лет [23; 41], 60% – мужчины. У 6 человек в возрасте от 18 до 51 лет (медиана – 33 года) соотношение по полу 3:1 (женщины – 67%, мужчины – 33%) этиологическим агентом были микромицеты *M. capitatus*.

В структуре фоновых заболеваний преобладали гемобластозы – 67% (острый миелоидный лейкоз – 50%, хронический лимфолейкоз – 25%, неходжкинская лимфома – 25%), опухоль мозга – 17%, ВИЧ – 17%.

Основными факторами риска были: длительное применение центрального венозного катетера – 100% (средняя продолжительность – 19 дней, более 14 дней – 83%), длительное пребывание в ОРИТ – 100%, агранулоцитоз – 83%, лимфоцитопения – 83%, ПХТ в ближайшие 60 суток – 67%, применение системных глюкокортикостероидов – 33%, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток – 17%. У 100% больных выявляли сопутствующую бактериальную инфекцию.

Основными клиническими вариантами были: диссеминированный микоз – 67%, поражение легких – 17%, центральной нервной системы – 17%. Антимикотическая профилактика была проведена у 33% обследованных лиц.

Всем пациентам, у которых диагноз был установлен при жизни (100%), назначали антимикотическую терапию: амфотерицин В дезоксихолат (50%), липосомальный амфотерицин В (17%), вориконазол (17%), позаконазол (17%); средняя продолжительность составила 20 дней. Общая выживаемость в течение 30 дней – 50%, в течение 12 недель – 33% (Рис. 3).

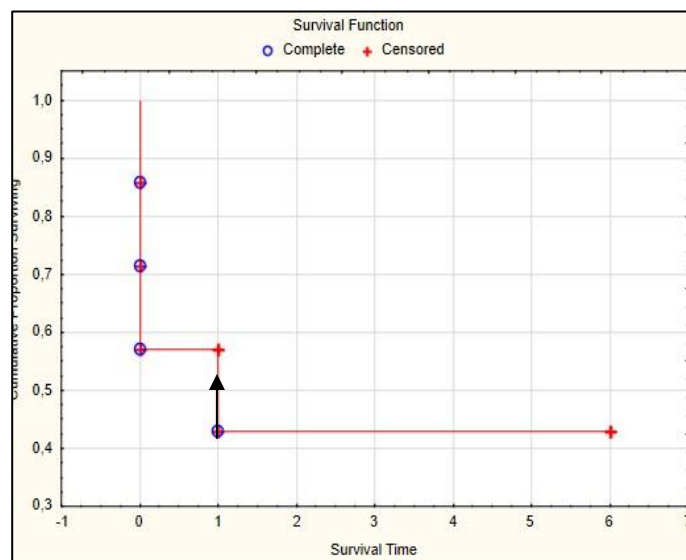


Рис. 3. Выживаемость пациентов с инвазивным микозом, ассоциированным с *M. capitatus*, в течение 1 и 3 месяцев.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Magnusiomyces capitatus (панее известный как *Geotrichum capitatum*, *Blastoschizomyces capitatum*, *Saprochaete capitata*) – редкий новый гриб, ответственный за инвазивные заболевания у гематологических больных; лиц, страдающих тяжелой нейтропенией, или у пациентов, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток [12-15]. *M. capitatus* относится к семейству *Dipodascaceae* (порядка *Saccharomycetales*), ассоциируется с аскомицетовыми дрожжами, образует типичные гифы и артроконидии, прямоугольные или закруглённые на концах, хорошо растёт при температуре 25 °C и в присутствии циклогексимида. *M. capitatus* широко распространен в окружающей среде, особенно в почве [14, 15]; он был обнаружен в молочных продуктах и в бытовых посудомоечных машинах. Входными воротами могут быть дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, также возбудитель может проникать в кровоток через инвазивные устройства [15-18]. Повреждения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и мукозиты на фоне химиотерапии могут привести к инвазии микромицетов в глубокие ткани, увеличивая риск фунгемии [15].

Первая публикация об инвазивном микозе, вызванном *M. capitatus*, была в 1964 г. [14]. Внутрибольничные вспышки инвазивных микозов, ассоциированных с *M. capitatus*, были зарегистрированы в основном в Европе [15-17].

Согласно литературным данным, основными фоновыми заболеваниями у этой когорты пациентов являются гематологические злокачественные новообразования: острый миелоидный лейкоз (52%), острый лимфобластный лейкоз (22%) и другие гематологические злокачественные новообразования (13%) [18].

Такие фоновые патологии, как хроническая обструктивная болезнь легких, сахарный диабет, солидные опухоли, трансплантация солидных органов и эндокардит, наблюдали у 9% больных [2, 14, 15, 18]. Основным фактором риска развития заболевания считают агранулоцитоз – 82% [2, 18].

Erman B. и соавторы в 2020 г. опубликовали клинический случай инвазивного микоза, вызванного *M. capitatus*, у пациента с нарушением работы гена CARD9 [19].

У лиц с нейтропенией *M. capitatus* чаще вызывает развитие фунгемии с дальнейшей диссеминацией инфекции в другие органы (головной мозг, печень, селезенку или легкие) [20]. Также достаточно часто отмечают поражение кожи с очагами деструкции и некроза [18-20]. Другим фактором риска является длительное использование инвазивных устройств, ЦВК. Согласно приведенным ранее данным, при микотическом сепсисе, ассоциированном с редкими дрожжеподобными возбудителями, медиана продолжительности применения ЦВК была более 14 дней [21].

У наблюдаемой нами пациентки инвазивный микоз развился на фоне прогрессии основного заболевания, длительного агранулоцитоза, применения антибактериальных препаратов широкого спектра действия, иммуносупрессивной терапии, а также длительного использования ЦВК и эмпирической терапии эхинокандинами. Основными клиническими признаками были лихорадка и полиорганная недостаточность, резистентные к проводимой антимикробной терапии. В связи с отсутствием эффекта от антибиотикотерапии препаратами широкого спектра выполняли многократные посевы крови, по результатам которых были выделены дрожжеподобные грибы, идентифицированные как *M. capitatus*.

Диагностика инвазивных микозов, ассоциированных с редкими возбудителями, остается сложной и часто труднодоступной. Рутинные методы (посев на среде Сабуро или кровяном агаре с последующей микроскопией) зачастую дают информацию лечащим врачам о выделении из биосубстратов дрожжеподобных грибов без идентификации вида, что приводит к назначению эхинокандинов и фатальному исходу [18]. Молекулярная диагностика требует разработки и стандартизации [22].

В настоящее время не созданы национальные клинические рекомендации, определяющие тактику ведения пациентов с инвазивными микозами, вызванными *M. capitatus*. Международные клинические рекомендации обосновывают применение липидных форм амфотерицина В (с флуцитозином или без него) для его профилактики [23]. Также предложено определение чувствительности данного вида микромицетов к антимикотическим препаратам. В то же время минимальные подавляющие концентрации для *M. capitatus* не установлены, а используемые в практике

являются ориентировочными, принятыми в соответствии с ретроспективными данными [24]. *M. capitatus* считается изначально устойчивым к эхинокандинам; в частности, недавно было обнаружено, что замена аминокислоты F на L в высококонсервативной позиции каталитической субъединицы β -1,3-d-глюкансинтазы, Fks1p, может быть связана со сниженной чувствительностью к эхинокандинам [25].

Исследования продемонстрировали высокую активность *in vitro* против *M. capitatus* триазолов (кроме флуконазола) с низкими значениями МПК. Средние показатели к итраконазолу – 0,12-0,5 мкг/мл; вориконазолу – 0,25-0,5 мкг/мл; позаконазолу – 0,03-0,5 мкг/мл [20, 24, 25]. При этом для амфотерицина В показатели могли быть выше – до 1 мкг/мл.

Амфотерицин В считается наиболее активным препаратом против *M. capitatus*, однако мы обнаружили более высокое значение МПК (1 мг/мл), чем в другом исследовании [20]. Данные наблюдения обосновывают необходимость определения чувствительности и назначения комбинированной антимикотической терапии.

У нашей пациентки лечение липосомальным амфотерицином В в дозе 5 мг/кг/сутки было начато по результатам культурального исследования. Однако эмпирическая терапия эхинокандином могла служить фоном для развития прорывной инфекции.

В описываемом нами клиническом случае у больной инвазивным микозом, ассоциированным с *M. capitatus* несмотря на проводимое лечение, наблюдали признаки прогрессирования основного заболевания, что ухудшило прогноз: развилась дыхательная и полиорганная недостаточность, что привело к летальному исходу.

Согласно литературным данным, выживаемость пациентов с инвазивными инфекциями, вызванными *Saprochaete* spp., составляет 11-60% [3, 9, 12]. При анализе публикаций отмечено, что эмпирическая терапия препаратами широкого спектра действия, а также смена ЦВК влияют на выживаемость пациентов [3, 23].

Признаки и симптомы любой прорывной инфекции во время лечения антибактериальными препаратами широкого спектра действия также должны направить на диагностический поиск для выявления редких возбудителей и рассмотрение вопроса об изменении существующей противогрибковой профилактики или терапии, особенно при монотерапии эхинокандинами [23, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день нет клинических рекомендаций, основанных на слепых плацебоконтролируемых исследованиях, эффективных схем терапии инвазивных инфекций, вызванных *Magnusiomyces* spp. Повышенному риску развития инвазивного микоза, ассоциированного с *M. capitatus*, способствуют продолжительная панцитопения, а также длительное

применение центрального венозного катетера у иммунокомпрометированных пациентов. Основным методом диагностики является выделение грибов из образцов крови или тканей. Рекомендуемые схемы эмпирической терапии включают липосомальный ам-

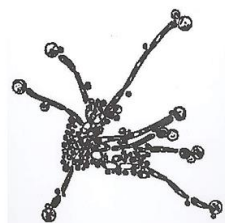
фотерицин В либо вориконазол (чаще в качестве комбинированного лечения). Описанный клинический случай демонстрирует сложность диагностики и подбора антимикотической терапии, связанные с полирезистентностью возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. М.: Ви Жи Групп, 2017. [Klimko N.N. Mycoses: diagnosis and treatment. Moscow: Vi Ji Group, 2017. (In Russ.)].
2. Клясова Г.А., Блохина Е.В., Охмат В.А. и др. Успешное лечение диссеминированного инвазивного микоза, вызванного *Saprochaete capitata*, у больного острым лимфобластным лейкозом. Гематология и трансфузиология. 2017; 62 (3): 164-168. [Klyasova G.A., Blokhina E.V., Okhmat V.A., et al. Successful treatment of disseminated invasive mycosis caused by *Saprochaete capitata* in a patient with acute lymphoblastic leukemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology. 2017; 62 (3):164-168. (In Russ.)]. doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-3-164-168
3. Mazzocato S., Marchionni E., Fothergill A.W., et al. Epidemiology and outcome of systemic infections due to *Saprochaete capitata*: case report and review of the literature. Infection. 2015; 43 (2): 211-5. doi: 10.1007/s15010-014-0668-3
4. İnan Sarıkaya R., Albayrak A., Erdem F., et al. A threat emerging in patients with hematological malignancy: invasive *Magnusiomyces capitatus* and *Magnusiomyces clavatus* infections. Eurasian J. Med. 2025; 57 (1): 1-6. doi: 10.5152/eurasianjmed.2025.24565
5. Killingsworth J., Boren R., Sheth R., Chang M.L. *Saprochaete capitata* infection in teen with acute myeloid leukemia receiving echinocandin prophylaxis. Case Rep. Infect. Dis. 2024; 2024: 4459447. doi: 10.1155/crdi/4459447
6. Jiang Y., Chen Z., Lv H., et al. A Case of pulmonary infection due to *Magnusiomyces capitatus* in a non-immunocompromised patient with cerebral palsy. Infect. Drug. Resist. 2024; 17: 4369-4373. doi: 10.2147/IDR.S471082
7. Bosaeed M., Alshehri R.A., Albarrak D.A., et al. An unexpected opportunist: *Magnusiomyces capitatus* infection in an immunocompetent patient. Med. Mycol. Case Rep. 2024; 45: 100663. doi: 10.1016/j.mmcr.2024.100663
8. Mawad T.N., Alfaifi R.A., Almazyed O.M., et al. Fungemia due to *Saprochaete capitata* in a non-neutropenic critically ill patient. Cureus. 2023; 15 (12): e51147. doi: 10.7759/cureus.51147
9. Hernández Solís A., Rabadan Armenta S.J., Araiza Santibáñez J, et al. Necrotizing pneumonia due to *Saprochaete capitata* in a patient with diabetes mellitus. Case report. Med. Mycol. Case Rep. 2023; 42: 100603. doi:10.1016/j.mmcr.2023.08.006
10. 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 (6): 1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008
11. Хостелиди С.Н. Тяжелые грибковые инфекции, вызванные редкими возбудителями. Дисс... на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 2023; 314 с. [Khostelidi S.N. Severe fungal infections caused by rare pathogens. Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences, 2023; 314 p. (In Russ.)].
12. Trabelsi H., Neji S., Gargouri L., et al. *Geotrichum capitatum* septicemia: Case report and review of the literature. Mycopathologia. 2015; 179 (5-6): 465-9. doi: 10.1007/s11046-015-9869-2
13. Ulu-Kilic A., Atalay M.A., Metan G., et al. *Saprochaete capitata* as an emerging fungus among patients with haematological malignancies. Mycoses. 2015; 58 (8): 491-7. doi: 10.1111/myc.12347
14. Chang W.W., Buerger L. Disseminated geotrichosis: Case report. Arch. Intern. Med. 1964; 113: 356-60. doi: 10.1001/archinte.1964.00280090042007
15. Lo Cascio G., Vincenzi M., Soldani F., et al. Outbreak of *Saprochaete clavata* sepsis in hematology patients: combined use of MALDI-TOF and sequencing strategy to identify and correlate the episodes. Front Microbiol. 2020; 11: 84. doi: 10.3389/fmicb.2020.00084
16. Vaux S., Criscuolo A., Desnos-Ollivier M., et al. Multicenter outbreak of infections by *Saprochaete clavata*, an unrecognized opportunistic fungal pathogen. mBio. 2014; 5 (6): e02309-14. doi: 10.1128/mBio.02309-14
17. Buchta V., Bolehovská R., Hovorková E., et al. *Saprochaete clavata* invasive infections – a new threat to hematological-oncological patients. Front. Microbiol. 2019; 10: 2196. doi: 10.3389/fmicb.2019.02196
18. Mazzocato S., Marchionni E., Fothergill A.W., et al. Epidemiology and outcome of systemic infections due to *Saprochaete capitata*: case report and review of the literature. Infection. 2015; 43 (2): 211-5. doi: 10.1007/s15010-014-0668-3
19. Erman B., Firtina S., Aksoy B.A., et al. Invasive *Saprochaete capitata* infection in a patient with autosomal recessive CARD9 deficiency and a review of the literature. J. Clin. Immunol. 2020; 40 (3): 466-474. doi:10.1007/s10875-020-00759-w
20. Gurrieri F., Corbellini S., Piccinelli G., et al. Management of invasive infections due to a rare arthroconidial yeast, *Saprochaete capitata*, in two patients with acute hematological malignancies. Vaccines. 2021; 9: 1289. doi.org/10.3390/vaccines9111289

21. Khostelidi S., Kozlova O., Shagdileeva E., et al. Invasive fungal infections caused by rare yeast-like fungi in adult patients: results of a prospective study. Curr. Med. Mycol. 2024; 10: e2025.345265.1559. doi:10.22034/cmm.2025.345265.1559
22. Esposto M.C., Prigitano A., Lo Cascio G., et al. Yeast-like filamentous fungi: molecular identification and *in vitro* susceptibility study. Med. Mycol. 2019; 57 (7): 909-913. doi: 10.1093/mmy/myy133
23. Chen S.C., Perfect J., Colombo A.L., et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare yeast infections: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. Lancet Infect Dis. 2021; 21 (12): e375-e386. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00203-6
24. Subramanya Supram H., Gokhale S., Chakrabarti A., et al. Emergence of *Magnusiomyces capitatus* infections in Western Nepal. Med Mycol. 2016; 54 (2): 103-10. doi: 10.1093/mmy/myv075
25. Arrieta-Aguirre I., Menéndez-Manjón P., Cuétara M.S., et al. Sequencing of FKS hot spot 1 from *Saprochaete capitata* to search for a relationship to reduced echinocandin susceptibility. Antimicrob. Agents Chemother. 2018; 62 (2): e01246-17. doi: 10.1128/AAC.01246-17

Поступила в редакцию журнала 23.09.25
Принята к печати 02.10.25



Для цитирования: Чеснокова М.Г., Чесноков В.А. Колонизация дрожжеподобными грибами рода *Candida* и ассоциантами микробиоценоза поверхности протезов полости рта при ортопедической реабилитации. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 31-36. doi:10.24412/1999-6780-2025-3-31-36

For citation: Chesnokova M.G., Chesnokov V.A. Colonization by yeast-like fungi of the genus *Candida* and microbiocenosis associates of the surface of oral prostheses during orthopedic rehabilitation. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 31-36. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-31-36

КОЛОНИЗАЦИЯ ДРОЖЖЕПОДОБНЫМИ ГРИБАМИ РОДА *CANDIDA* И АССОЦИАНТАМИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОВЕРХНОСТИ ПРОТЕЗОВ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ

^{1,2}Чеснокова М.Г. (профессор кафедры)*,
³Чесноков В.А. (стоматолог-ортодонт)

¹Омский государственный медицинский университет;

²Омский государственный технический университет;

³ООО «Стоматология доктора Жеребцова», Омск, Россия

Съёмные ортопедические конструкции в полости рта являются потенциальным местом адгезии и колонизации микробных ассоциантов. Гидрофобная особенность характеристики поверхности базиса акрилового протеза при длительном пользовании играет важную роль в процессе формирования биопленок микробиоты биотопа слизистой оболочки полости рта. В связи с этим актуально изучение микотической колонизации протезной базисной поверхности в контексте с анализом выявленных микробных ассоциантов.

Цель: изучить особенности колонизации дрожжеподобными грибами рода *Candida* и ассоциантами микробиома поверхности протезов полости рта пациентов при ортопедической реабилитации.

Материал и методы. Изучены особенности качественной и количественной характеристики микробиоценоза поверхности протезов полости рта с различной длительностью использования при ортопедической реабилитации пациентов. Проводили микологическое исследование биоматериала поверхности протезов с видовой идентификацией клинических изолятов *Candida* spp.

Результаты. При длительном сроке ношения протезов регистрировали частое выявление и увеличение концентрации *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Klebsiella pneumoniae* на фоне снижения уровня количественного содержания представителей рода *Actinomyces* spp., *Lactoba-*

cillus spp., *Corynebacterium* spp. Микологические исследования биоматериала поверхности съёмных пластинчатых протезов пациентов с кандидозным стоматитом показали присутствие грибов рода *Candida*, относящихся к виду *Candida albicans*, при различном содержании, причем при большей длительности ношения протеза более 3-х лет отмечали рост концентрации микромицетов.

Заключение. Полученные результаты исследований позволяют оценить характер и спектр бактериально-грибковых ассоциаций микробиома поверхности съёмных пластинчатых акриловых протезов и корректировать тактику реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: дрожжеподобные грибы рода *Candida*, микробиота, съёмные зубные протезы, ортопедическая реабилитация

COLONIZATION BY YEAST-LIKE FUNGI OF THE GENUS *CANDIDA* AND MICROBIOCENOSIS ASSOCIATES OF THE SURFACE OF ORAL PROSTHESES DURING ORTHOPEDIC REHABILITATION

^{1,2}Chesnokova M.G. (professor of the department),
³Chesnokov V.A. (dentist-orthodontist)

¹Omsk State Medical University; ²Omsk State Technical University;

³LLC "Dentistry of Doctor Zhrebtsov", Omsk, Russia

Removable orthopedic structures in the oral cavity are a potential site of adhesion and colonization of microbial associates. The hydrophobic feature of the surface characteristics of the acrylic prosthesis base during long-term use plays an important role in the process of forming biofilms of the microbiota of the oral mucosa biotope. The study of mycotic colonization of the prosthetic base surface in the context of the analysis of identified microbial associates is relevant.

Purpose: to study the features of colonization by yeast-like fungi of the genus *Candida* and associates of the microbiome of the surface of oral prostheses of patients during orthopedic rehabilitation.

Material and methods. The features of the qualitative and quantitative characteristics of the microbiocenosis of the surface of oral prostheses in orthopedic rehabilitation of patients

*Контактное лицо: Чеснокова Марина Геннадьевна,
e-mail: chesnokova_marin@mail.ru

with different duration of use were studied. A mycological study of the biomaterial of the surface of the prostheses was carried out with species identification of clinical isolates of *Candida* spp.

Results. With long-term wearing of prostheses, frequent detection and increase in the concentration of microorganisms *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* were recorded against the background of a decrease in the level of quantitative content of representatives of the genus *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp. Mycological studies of the biomaterial of the surface of removable plate dentures of patients with candidal stomatitis showed the presence of *Candida* fungi, belonging to the species *Candida albicans*, at different levels, and with a longer period of wearing the denture (more than 3 years), an increase in the concentration of micromycetes was noted.

Conclusion. The obtained research results allow us to evaluate the nature and spectrum of bacterial-fungal associations of the microbiome of the surface of removable acrylic plate dentures and to adjust the tactics of rehabilitation measures.

Key words: yeast-like fungi of the genus *Candida*, microbiota, removable dentures, orthopedic rehabilitation

ВВЕДЕНИЕ

К негативным последствиям ортопедической реабилитации у лиц, пользующихся полными съемными зубными протезами, относят развитие воспалительного процесса слизистой оболочки полости рта, которое довольно часто встречается при длительном их использовании. Полость рта является благоприятной экологической нишей для колонизации грибами и последующей возможной их инвазии в эпителий слизистой оболочки ротовой полости. У лиц, пользующихся полными съемными акриловыми пластиночными зубными протезами, часто развивается кандидозный стоматит [1-3]. Изучение особенностей развития грибковой колонизации базисной поверхности с дальнейшей биодеструкцией акриловых пластмасс представляет в настоящее время несомненный интерес.

Преобладание *Candida albicans* на слизистой оболочке обусловлено активной адгезией дрожжевых клеток к эпителию и активизируется при оптимальных для роста и развития условиях в полости рта. Колонизация слизистой оболочки ротовой полости дрожжеподобными грибами возрастает при сопутствующей патологии, механической травме, ношении протезов, пожилом возрасте, недостаточной иммунной реактивности, гормонотерапии, антибиотикотерапии, снижении значения pH слюны, увеличении концентрации глюкозы в слюне, курении, пищевом дефиците [4, 5]. Потенциал патогенности грибов определяют изменчивость и лабильность морфофизиологических свойств клетки, рецепторы адгезии и литические ферменты, рецепторы адгезии к фибриногену, ламинину, фибронектину, факторам системы

комплемента. Протеиназы дрожжеподобных грибов разрушают кератин, белки эндотелия, соединительной ткани, факторы комплемента, фрагменты иммуноглобулинов; фосфолипазы (А, В, С, лизофосфолипаза, лизофосфолипаза-трансацетилаза) воздействуют на клеточные мембраны, участвующие в процессе пенетрации *C. albicans* [6, 7].

Съемные ортопедические конструкции в полости рта являются потенциальным местом адгезии и колонизации микроорганизмов. Гидрофобная особенность характеристики поверхности базиса акрилового протеза играет важную роль в процессах адгезии, колонизации и формирования микологических биопленок биотопа слизистой оболочки ротовой полости [8-10].

Проведены исследования микологических биопленок *C. albicans*, сформированных на поверхности базисных пластмасс съемных ортопедических конструкций, с применением сканирующей электронной микроскопии [11]. При изучении поверхности образцов пластмасс горячего и холодного типа полимеризации и биопленок *Candida* с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) установлены особенности формирования биопленки: выявлены более выраженные изменения поверхности пластмасс горячего типа полимеризации по сравнению с пластмассой холодного типа при длительном инкубировании *C. albicans*, характеризующие разрыхление пластмассы и появление трещин на поверхности, а также отмечено растрескивание биопленки гриба [12].

С помощью метода лазерной модуляционной интерференционной микроскопии анализировали характеристику микрорельефа биопленки *C. albicans* стоматологических базисных пластмасс горячего типа полимеризации [13]. При проведении экспериментального исследования с целью изучения биопленок грибов рода *Candida* на образцах базисных пластмасс получено изображение биопленки *C. albicans* на поверхности пластмассы горячего типа полимеризации в визуализации фазового портрета, описана её горизонтальная и вертикальная структура, определены характеристики рассматриваемого биопрофиля. Установлено неоднородное строение биопленки, обусловленное различной плотностью и скоплением клеток по поверхности, а также даны характеристики поверхности в соответствии с критериями шероховатости. Параметры микрорельефа на отдельно произвольно выбранной линии сечения позволяют определить характеристику биопленки в необходимом участке и позволяют судить о специфике её формирования в определённой биологической нише.

Выявлены признаки межвидовых взаимодействий *C. albicans* с микроорганизмами родов *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Pseudomonas*. Представители рода *Lactobacillus* конкурируют с дрожжеподобными грибами за пищевые субстраты и рецепторы ад-

гезии, выделяя в процессе жизнедеятельности фунгицидные факторы [14, 15]. *Pseudomonas aeruginosa* посредством сигнальных молекул 3-окси-С₁₂гомосеин лактона уменьшают образование мицелиальных нитей *C. albicans*, не влияя на рост грибов в дрожжевой фазе. К микроорганизмам, ингибирующим адгезию и колонизацию грибов, относят *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus gordonii*, *Prevotella gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* [8, 11, 16].

Цель: изучить особенности колонизации дрожжеподобными грибами рода *Candida* и ассоциантами микробиома поверхности протезов полости рта пациентов при ортопедической реабилитации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование проводили при стоматологическом приеме пациентов в возрасте от 60 до 75 лет с диагнозом по МКБ-10 K00.01 «полная адентия», обратившихся по поводу полного отсутствия зубов на обеих челюстях. Диагноз кандидоза слизистой оболочки полости рта был подтверждён клинически и лабораторно. В 1-ю группу включили 45 человек с кандидозным стоматитом со сроком ношения полных съёмных акриловых зубных протезов до 3-х лет, во вторую группу – 47 пациентов с кандидозным стоматитом со сроком эксплуатации протезов более 3-х лет.

Видовую идентификацию чистых культур микроорганизмов осуществляли на основании изучения характерных морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических и антигенных свойств в соответствии с определителем Берджи (Дж. Хоулт, 1997). Количественное содержание микроорганизмов выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/мл). При микологическом исследовании выполняли посев биоматериала поверхности протеза для выявления дрожжеподобных грибов на питательную среду Сабуро, в которую для подавления роста контаминирующих бактерий добавляли антибиотик, инкубацию проводили при 37 °С в течение 48 часов. Видовую идентификацию клинических изолятов дрожжеподобных грибов рода *Candida* осуществляли с применением селективной среды «Кандиселект» и использованием тестовой системы «Ауксоколор» («Biorad», США). При идентификации учитывали характерные культуральные, биохимические свойства, тип филаментации, образование хламидоконидий, тест на ростковые трубки.

Биометрический анализ выполняли с помощью пакетов «Statistica 6.0», «БИОСТАТИСТИКА». Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05. При этом значения p могли ранжироваться по трём уровням достигнутых статистически значимых различий: $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Микробиологическое исследование биоматериала поверхности зубных протезов на этапах ортопедической реабилитации показало широкий видовой и количественный спектр микробиоты. Идентифицированы микроорганизмы, являющиеся представителями различных родов и семейств. В микробиоме устанавливали виды, относящиеся к родам *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*.

В 1-й группе пациентов получены результаты, свидетельствующие об отсутствии микроорганизмов родов *Bifidobacterium*. Представителей рода *Lactobacillus* выявляли в 24,4% случаев, рода *Micrococcus* – в 17,8%, *Streptococcus* spp. – в 64,4%, *Staphylococcus epidermidis* – в 31,11%, *Staphylococcus saprophyticus* – в 17,78%, *Staphylococcus haemolyticus* – в 13,3%, *Staphylococcus aureus* – в 13,33%, *Enterococcus faecalis* – в 17,78%, *Klebsiella pneumoniae* – в 15,55%, *Corynebacterium* spp. – в 26,67%. Концентрации микроорганизмов представлены в таблице 1.

Таблица 1
Концентрации микроорганизмов в биоматериале поверхности зубных протезов в 1 группе пациентов

Микроорганизмы	1 группа пациентов	
	Концентрация, lg КОЕ/мл	медиана
<i>Lactobacillus</i> spp.	5,55±0,16	6,0
<i>Micrococcus</i> spp.	4,25±0,16	4,0
<i>Streptococcus</i> spp.	6,07±0,12	6,0
<i>Actinomyces</i> spp.	5,31±0,17	5,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4,28±0,12	4,0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4,37±0,18	4,0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4,0±0,25	4,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,67±0,3	4,50
<i>Enterococcus faecalis</i>	4,25±0,16	4,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,57±0,2	5,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	5,25±0,13	5,0

При анализе структуры микробиома поверхности зубных протезов пациентов 1-ой группы наблюдали частое выделение представителей *Streptococcus* spp., *S. epidermidis*, *Actinomyces* spp., *Corynebacterium* spp. (Рис. 1).

Микологические исследования установили присутствие грибов рода *Candida*, относящихся к виду *C. albicans*, в 100,0% случаев при среднем содержании $6,31 \pm 0,08$ lg КОЕ/мл, медиана – 6,0.

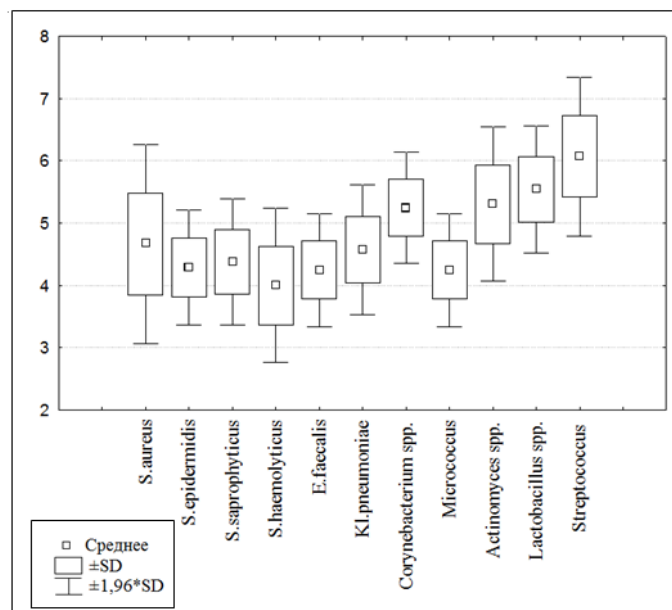


Рис. 1. Концентрация ассоциантов микробиома поверхности протезов пациентов 1-й группы при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс – микроорганизмы; по оси ординат – концентрация выявленных микроорганизмов, десятичный логарифм количества колоний (lg KOE/мл).

При обследовании пациентов 2-й группы наиболее часто на поверхности протезов идентифицировали *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* – в 27,7% случаев, *S. haemolyticus* – в 14,89%, *S. aureus* – в 23,4%. *Streptococcus* spp. в исследуемом биоматериале выявляли в 55,3% случаев, *Micrococcus* spp. – в 21,28%. Регистрировали элиминацию бактерий рода *Bifidobacterium*. *K. pneumoniae* и *Lactobacillus* обнаруживали в 17,02% случаев, *Actinomyces* spp. и *Corynebacterium* spp. – в 19,15% (табл. 2, Рис. 2).

Таблица 1

Концентрации микроорганизмов в биоматериале поверхности зубных протезов во 2 группе пациентов

Микроорганизмы	2 группа пациентов	
	Концентрация, lg KOE/мл	медиана
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,38±0,18	6,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	6,2±0,13	6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,82±0,12	6,0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5,92±0,8	6,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,71±0,11	6,0
<i>Streptococcus</i> spp.	5,85 ±0,13	6,0
<i>Lactobacillus</i> spp.	5,0±0,15	5,0
<i>Micrococcus</i> spp.	5,5±0,26	5,5
<i>Actinomyces</i> spp.	4,44±0,24	4,0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5,57±0,2	6,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	3,55±0,17	4,0

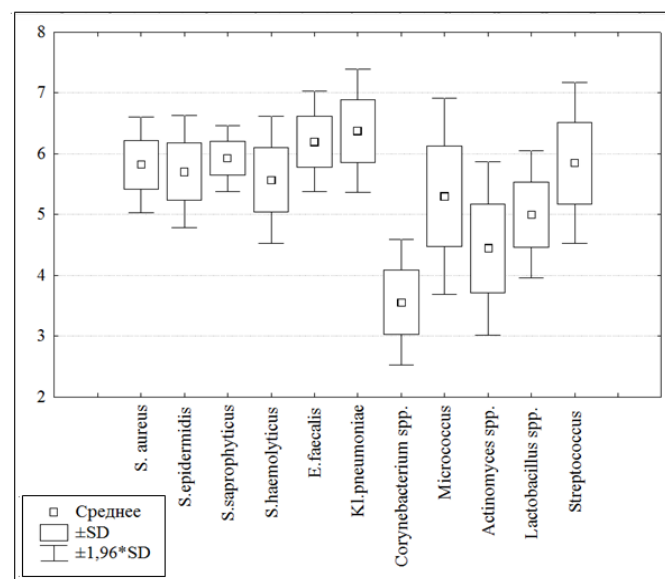


Рис. 2. Концентрация ассоциантов микробиома поверхности протезов пациентов 2-й группы обследования при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс – микроорганизмы; по оси ординат – концентрация выделенных микроорганизмов, десятичный логарифм количества колоний (lg KOE/мл).

Присутствие грибов *C. albicans* наблюдали у всех пациентов группы при среднем содержании 7,23±0,07 lg KOE/мл, медиана – 7,0 (Рис. 3).

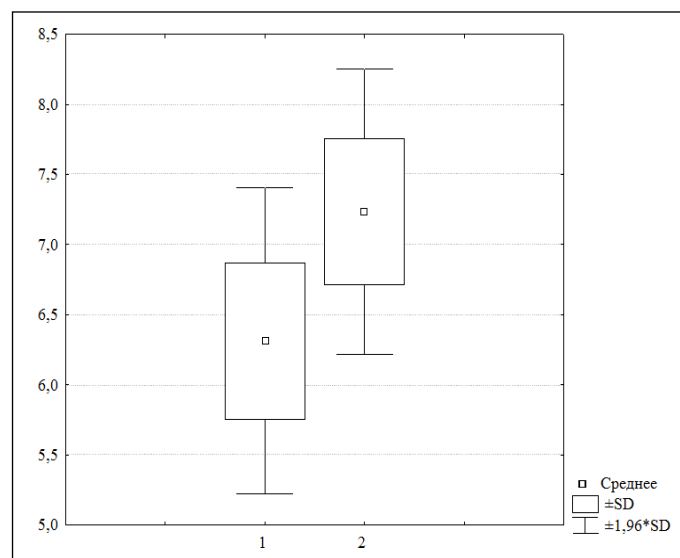


Рис. 3. Уровень концентрации дрожжеподобных грибов на поверхности протезов пациентов обследованных групп при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс – группы обследования пациентов (1, 2); по оси ординат – концентрация *C. albicans*, десятичный логарифм количества выросших колоний (lg KOE/мл).

Отмечали статистически значимые различия содержания микроорганизмов в биоматериале пациентов при различной продолжительности ношения съёмных протезов. Во 2-й группе зарегистрировано повышение концентрации *C. albicans* ($Z=4,703046$; $p=0,000003$), *S. epidermidis* ($Z=2,201398$; $p=0,027709$), *S. saprophyticus* ($Z=2,201398$; $p=0,027709$), *S. haemolyticus* ($Z=2,022600$; $p=0,043115$), *Micrococcus* spp., *S. aureus* и *E. faecalis* ($Z=2,022600$; $p=0,043115$), *K. pneumoniae* ($Z=2,201398$; $p=0,027709$). Наряду с выявленными изменениями наблюдали уменьшение концентрации микроорганизмов *Actinomyces* spp. и *Lactobacillus* spp. ($Z=2,022600$; $p=0,043115$), *Corynebacterium* spp. ($Z=2,366432$; $p=0,017961$).

ВЫВОДЫ

1. Микробиологические исследования биоматериала поверхности съёмных зубных протезов, проведенные на этапах ортопедической реабилитации, показали разнообразный видовой и количественный спектр идентифицированных культур. В микробиоме устанавливали виды, относящиеся к родам *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, регистрировали отсутствие микроорганизмов рода *Bifidobacterium*.

2. При анализе качественного и количественного состава микробиоты поверхности зубных протезов наблюдали частое выявление и увеличение концентрации *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *Micrococcus* spp., *S. aureus*, *E. faecalis*, *K.*

pneumoniae на фоне снижения уровня количественного содержания представителей *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp. при более длительном сроке ношения протезов пациентами.

3. Микологические исследования биоматериала поверхности съёмных пластинчатых протезов обследованных пациентов с кандидозным стоматитом показали присутствие дрожжеподобных грибов рода *Candida*, относящихся к виду *Candida albicans*, при различном содержании, причем при большей длительности ношения протеза (более 3-х лет) отмечали рост концентрации микромицетов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К негативным последствиям ортопедической реабилитации у лиц, длительно использующих полные съёмные зубные протезы, относят развитие кандидозного стоматита. При микотической колонизации базисной поверхности протезов происходит формирование биопленки дрожжеподобных грибов на поверхности зубного протеза и на слизистой оболочке рта с развитием дальнейшей биодеструкции акриловой пластмассы, что способствует поддержанию воспалительного процесса слизистой оболочки ротовой полости. Полученные результаты исследований позволяют оценить особенности характера и спектра ассоциаций микробиома поверхности съёмных пластинчатых акриловых протезов и корректировать тактику лечебных и профилактических мероприятий в процессе ортопедической реабилитации.

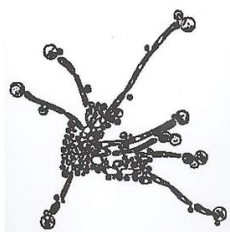
ЛИТЕРАТУРА

1. Вечеркина Ж.В., Чиркова Н.В., Андреева Е.А. и др. Совершенствование профилактического обеспечения при ортопедическом лечении съёмными зубными протезами. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2022; 21 (1): 16-20. [Veчеркина Zh.V., Chirkova N.V., Andreeva E.A., et al. Improving preventive care in orthopedic treatment with removable dentures. Systems Analysis and Management in Biomedical Systems. 2022; 21 (1): 16-20. (In Russ.)]. doi:10.36622/BCTU.2022.21.1.002
2. Керимханов К.А., Беделов Н.Н., Иорданишвили А.К. Протезный стоматит: лечение и профилактика. Медицинский алфавит. 2024; 18: 25-28. [Kerimhanov K.A., Bedelov N.N., Iordanishvili A.K. Denture stomatitis: treatment and prevention. Medical Alphabet. 2024; 18: 25-28. (In Russ.)]. doi:10.33667/2078-5631-2024-18-25-28
3. Перемышленко А.С., Иорданишвили А.К., Беделов Н.Н., Керимханов К.А. Морфологические изменения слизистой оболочки протезного ложа у пациентов с полными съёмными зубными протезами из акриловой пластмассы. Медицинский алфавит. 2023; 20: 12-17. [Peremyshlenko A.S., Iordanishvili A.K., Bedelov N.N., Kerimkhanov K.A. Morphologic alterations in the mucosa of the denture site in patients with full removable dentures from acrylic plastics. Medical Alphabet. 2023; 20:12-17. (In Russ.)]. doi:10.33667/2078-5631-2023-20-12-17
4. Зотов А.И., Подопрigора А.В., Комарова Ю.Н. и др. Профилактика токсико-аллергических реакций при использовании сложночелюстных протезов и аппаратов. Проблемы стоматологии. 2020;16 (3):139-146. [Zotov A.I., Podoprigora A.V., Komarova Yu.N., et al. Prevention of toxic-allergic reactions when using complex jaw prostheses and devices. Problems of Dentistry. 2020;16 (3):139-146. (In Russ.)]. doi:10.18481/2077-7566-20-16-3-139-146
5. Комарова Ю.Н., Каливradzhиян Э.С. Полимеры стоматологического назначения. Современная ортопедическая стоматология. 2020; 33/34: 6-22. [Komarova Yu.N., Kalivradzhian E.S. Polymers for dental purposes. Modern Orthopedic Dentistry. 2020; 33/34: 6-22. (In Russ.)].
6. Ершов К.А., Севбитов А.В., Шакарьянц А.А., Дорофеев А.Е. Анализ качества жизни пациентов пожилого возраста со съёмными ортопедическими конструкциями на этапе реабилитации. Российский стоматологический

- журнал. 2017; 21 (5): 285-287. [Ershov K.A., Sevbitov A.V., Shakar'yanc A.A., Dorofeev. Analysis of the quality of life of elderly patients with removable orthopedic structures at the rehabilitation stage. Russian Dental Journal. 2017; 21 (5): 285-287. (In Russ.)]. doi: 10.18821/1728-2802 2017; 21(5): 285-287
7. Луцкая И.К. Кандидоз полости рта как следствие общих заболеваний или их медикаментозного лечения. Клинический разбор в общей медицине. 2021; 8: 6-11 [Lutsкая I.K. Oral candidiasis as a consequence of the systemic disease or its drug therapy. Clinical Review for General Practice. 2021; 8:6-11. (In Russ.)]. doi:10.47407/kr2021.2.8.00092
8. Чесноков В.А., Чеснокова М.Г. Микобиота слизистой оболочки полости рта и поверхности съемных акриловых пластиночных протезов при ортопедической реабилитации. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (2): 126-28. [Chesnokov V.A., Chesnokova M.G. Mycobiota of the oral mucosa and the surface of removable acrylic laminar prostheses for orthopedic rehabilitation. Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; 61(2): 126-8. (In Russ.)].
9. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev. 2002; 15 (2): 167-193. doi.org/10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
10. Beech I.B., Sunner J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. Current Opinion in Biotechnology. 2004; 15: 181-186. doi:10.1016/j.copbio.2004.05.001
11. Charron R., Boulanger M., Briandet R., Bridier A. Biofilms as protective cocoons against biocides: from bacterial adaptation to One Health issues. Microbiology (Reading). 2023; 169 (6): 001340. doi:10.1099/mic.0.001340
12. Soll D.R., Daniels K.J. Plasticity of *Candida albicans* biofilms. Microbiology and molecular biology reviews. 2016; 80, (3): 565-595. doi.org/10.1128/mmbr.00068-15
13. Миронов А.Ю., Шепелин И.А. Биоплёнки: Справочник бактериолога. М.: ООО «Типография-Копиринг»; 2021. [Mironov A.Yu., Shepelin I.A. Biofilms: A Bacteriologist's Handbook. M.: ООО "Typography-Copywriting", 2021. (In Russ.)].
14. Чесноков В.А., Чеснокова М.Г., Миронов А.Ю., Рогачев Е.А. Анализ рельефа поверхности базисного материала съемных зубных протезов с помощью сканирующей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии в динамике проведения ортопедической реабилитации. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (5): 352-358. [Chesnokov V.A., Chesnokova M.G., Mironov A.Yu., Rogachev E.A. Analysis of the surface relief of the base material of removable dentures using scanning electron microscopy and atomic force microscopy in the dynamics of orthopedic rehabilitation. Clinical Laboratory Diagnostics. 2025; 70 (5): 352-358. (In Russ.)]. doi:10.51620/0869-2084-2025-70-5-352-358
15. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. Оценка поверхности биоплёнки клинических штаммов дрожжеподобных грибов на зубных протезах с применением сканирующей электронной микроскопии и лазерной интерференционной микроскопии. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (6): 278-85. [Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu. Evaluation of the biofilm surface of clinical strains of yeast-like fungi on dentures using scanning electron microscopy and laser interference microscopy. Clinical Laboratory Diagnostics. 2024; 69 (6): 278-85. (In Russ.)]. doi:10.51620/0869-2084-2024-69-6-278-285
16. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. и др. Анализ микрорельефа биоплёнки грибов *Candida albicans* базисных пластмасс методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии. Клиническая лабораторная диагностика. 2022; 67 (7): 407-13. [Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu., Blesman A.I., Polonyankin D.A. Analysis of the microrelief of the *Candida albicans* biofilm of base plastics using laser modulation interference microscopy. Clinical Laboratory Diagnostics. 2022; 67 (7): 407-13. (In Russ.)]. doi:10.51620/0869-2084-2022-67-7-407-413

Поступила в редакцию журнала 09.08.2025

Принята к печати 30.09.25



Для цитирования: Ляшук С.С., Хостелиди С.Н., Вагин А.В., Топольскова Н.В., Богомолова Т.С., Козлова О.П., Борзова Ю.В. Диссеминированный мукормикоз на фоне первичного иммунодефицита (клинический случай). Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 37-44. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-37-44

For citation: Lyashuk S.S., Khostelidi S.N., Vagin A.V., Topolskova N.V., Bogomolova T.S., Kozlova O.P., Borzova Yu.V. Disseminated mucormycosis on the background of primary immunodeficiency (clinical case). Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 37-44. (In Russ). doi:10.24412/1999-6780-2025-3-37-44

ДИССЕМИНИРОВАННЫЙ МУКОРМИКОЗ НА ФОНЕ ПЕРВИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

¹Ляшук С.С. (студент), ¹Хостелиди С.Н. (профессор)*, ¹Вагин А.В. (врач-рентгенолог), ²Топольскова Н.В. (главный врач), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Козлова О.П. (доцент), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Медицинский центр «Приоритет диагностика» КТ и МРТ, Санкт-Петербург, Россия

Первичные иммунодефициты относят к фоновым заболеваниям, входящим в группу высокого риска развития инвазивных микозов. В публикациях описаны случаи, ассоциированные с недостаточностью фактора STAT1 и сигнального белка CARD9.

В статье представлено клиническое наблюдение диссеминированного мукормикоза у пациентки с первичным иммунодефицитом с мутацией в гене GATA2.

Ключевые слова: *Rhizopus arrhizus*, мукормикоз, рино-орбито-церебральный мукормикоз, первичный иммунодефицит, диссеминированный мукормикоз, инвазивный микоз

DISSEMINATED MUCORMYCOSIS ON THE BACKGROUND OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY (CLINICAL CASE)

¹Lyashuk S.S. (student), ¹Khostelidi S.N. (professor), ¹Vagin A.V. (radiologist), ²Topolskova N.V. (chief physician), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Kozlova O.P. (associate professor), ¹Borzova Yu.V. (head of the clinic)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²Medical Center "Priority Diagnostics" CT and MRI, St. Petersburg, Russia

Primary immunodeficiency is classified as a background disease that is at high risk of developing invasive mycoses. The publications describe cases associated with deficiency of STAT1 factor and CARD9 signaling protein.

The article presents a clinical case of disseminated mucormycosis in a patient with primary immunodeficiency with a mutation in the GATA2 gene.

Key words: *Rhizopus arrhizus*, mucormycosis, rhino-cerebral mucormycosis, primary immunodeficiency, disseminated mucormycosis, invasive mycosis

ВВЕДЕНИЕ

Первичные иммунодефицитные заболевания (ПИД) часто осложняются рецидивирующими, тяжело протекающими инфекциями, в том числе связанными с условно-патогенными микроорганизмами. Восприимчивость пациента к инфекции в значительной степени зависит от набора и активации миелоидных фагоцитов и лимфоцитов в инфицированных тканях, а также характеристик самого патогена. Нейтрофилы являются наиболее значимыми иммунными клетками, участвующими в противогрибковом иммунном ответе. Поэтому иммунодефицитные состояния, ассоциированные с нарушением качественного и количественного состава нейтрофилов, могут быть

* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна,
e-mail: Sofya.Khostelidi@szgmu.ru

связаны с развитием как инвазивного кандидоза, так и инвазивных микозов, обусловленных плесневыми микромицетами. Так, случаи инвазивного микоза были зарегистрированы у пациентов с синдромами врожденной нейтропении (ELANE, HAX1 и т. д.) и нарушениями адгезии лейкоцитов 1 (LAD-1, ITKB2), при полном дефиците миелопероксидазы, с хронической гранулематозной болезнью (ХГБ), с дефицитом CARD9 [1-3]. Также в литературе представлены случаи восприимчивости к мицелиальным патогенам пациентов с такими нарушениями, как MSMD (менделевская восприимчивость к микобактериальным заболеваниям); дефицит GATA2; дефицит лиганда CD40 (CD40LG); ауtosомно-доминантный гипер-IgE (синдром Джоба) (AD-HIES) [4-5].

В 2010-2011 гг. а научных публикациях впервые описаны синдром MonoMAC – иммунодефицит с нехваткой моноцитов и склонностью к инфекциям, синдром Эмбергера и семейный миелодиспластический синдром. Последующие генетические исследования объединили эти синдромы, доказав, что их причиной являются наследственные мутации в гене GATA2 [6]. Ген GATA2 расположен на длинном плече (q-плече) 3-й хромосомы, кодирует одноименный белок GATA2 – главный регулятор транскрипции. Данный белок связывается со специфическими последовательностями ДНК (GATA-мотивами) в регуляторных областях генов-мишеней, взаимодействуя с другими факторами транскрипции, подавляя или активируя экспрессию сети генов, необходимых для развития клеток. Эта регуляторная активность особенно важна в гемопоэзе [7].

Дефицит GATA2 – это моногенный синдром недостаточности костного мозга, который может проявляться как иммунодефицит к микобактериальным, грибковым и/или вирусным заболеваниям. Среди иммунологических дефектов при дефиците GATA2 – прогрессирующая цитопения, сопровождающаяся различной степенью В- и NK-лимфопении, Т-лимфопении, нейтропении или дендритной цитопении [7]. Молекулярная основа восприимчивости, в том числе к плесневым микозам, при дефиците GATA2 связана с дисфункцией оси IL-12/IFN- γ . В норме IFN- γ секретируется активированными Т-клетками и NK-клетками, способствуя активации фагоцитов, усиливая внутриклеточное уничтожение или, по крайней мере, сдерживая потенциального грибкового патогена [8]. При дефиците GATA2 этого не происходит.

В статье описан случай диссеминированного мукормикоза у пациентки с мутацией в гене GATA2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлен клинический случай диссеминированного мукормикоза у пациентки с мутацией гена GATA2. Диагноз «первичный иммунодефицит» установлен на основании таргетного секвенирования генов.

Диагноз инвазивного микоза устанавливали на основании клинических и лабораторных критериев EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Mycoses Study Group, 2020) [9].

Также авторы провели анализ данных научной литературы в базах PubMed, ClinicalKey и e-library за последние 10 лет (на сентябрь 2025 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова: *Rhizopus arrhizus*, первичный иммунодефицит, мукормикоз, диссеминированный мукормикоз, рино-орбито-церебральный мукормикоз, инвазивный микоз.

Описание клинического случая

Пациентка Ш., 14 лет, госпитализирована в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с диагнозом: первичный иммунодефицит, мутация гена GATA2 (панцитопения: лейкопения, иммунная тромбоцитопения, кумбс-позитивная аутоиммунная гемолитическая анемия). Также у ребенка была системная красная волчанка с поражением органов или систем (артрит, люпус-нефрит, нейролюпус, плеврит, перикардит, волчаночная бабочка, алопеция), тяжелое течение (SELENA-SLEDAI – 37 баллов).

При поступлении предъявляла жалобы на вялость, слабость в мышцах туловища, шеи, конечностей, геморрагические высыпания на коже.

При осмотре: кожа бледно-розовая, множественные геморрагические высыпания на коже тела, конечностей, отеки нижних конечностей, ограничение движения в коленных и локтевых, лучезапястных суставах.

При обследовании: в клиническом анализе крови выявлены лейкопения ($2,8 \times 10^9$ /л) и лимфоцитопения ($0,4 \times 10^9$ /л), CD3+ $0,08 \times 10^9$ /л (CD3+ CD4+ $0,04 \times 10^9$ /л), гипоальбуминемия – до 26 г/л, повышение уровня креатинина – 117-151 мкмоль/л, мочевины – 10-20 ммоль/л, протеинурия – 1-6,7 г/л, скорость клубочковой фильтрации – 54-56 мл/мин $1,73 \text{ м}^2$. По результатам серологических тестов: антитела к ENA IgG – положительные; антинуклеарные антитела IgG – положительные; антитела к нуклеосомам IgG – более 200 МЕ/мл; антитела к циклическому цитруллинсодержащему пептиду (АЦЦП) – 2 ЕД/мл; антитела к нативной ДНК IgG – более 200 МЕ/мл; С3 – 0,28 г/л; С4 – 0,03 г/л; антитела к миелопероксидазе (МПО) IgG – 3,92 отн. Ед/мл; антитела к протеиназе-3 (PR3) IgG – 3,76 отн. Ед/мл; С-реактивный белок (СРБ) в динамике – до 9,71 мг/л.

На основании клинико-диагностических данных пациентке был установлен диагноз: системная красная волчанка с поражением органов или систем (артрит, люпус-нефрит, нейролюпус, плеврит, перикардит, волчаночная бабочка, алопеция), тяжелое течение (SELENA-SLEDAI – 37 баллов).

Назначена пульс-терапия метилпреднизолоном – 1000 мг № 3, 500 мг № 1, далее – преднизолон в дозе 1,5 мг/кг в сутки, ритуксимаб – 375 мг/м², эмпирическая антибактериальная терапия широкого спектра действия, противогрибковая – вориконазолом, профилактическая – ко-тримоксазолом, симптоматическая инфузионная терапия. В связи с развитием быстропрогрессирующего нефрита и острой почечной недостаточности девочка была переведена в ОРИТ, начаты сеансы гемодиализа.

В последующий месяц: состояние пациентки ухудшилось, нарастал кожно-геморрагический синдром, сохранялись вялость, отечный и суставной синдромы. При динамическом исследовании отмечено нарастание панцитопении (лимфопения – 0,63-0,13-0,06 тыс/мкл, нейтропения – 2,3-0,62-1,99 тыс/мкл), апластической анемии (до 70 г/л), тромбоцитопении (до 30 тыс/мкл). При исследовании костного мозга: образец крайне скудноклеточный, полиморфный, бластные клетки в пределах нормы. Принимая во внимание развитие костномозговой недостаточности, заподозрен первичный иммунодефицит (дефицит GATA2). Проведено молекулярно-генетическое исследование (полное секвенирование экзома), в результате которого диагноз был подтвержден.

Спустя 2 месяца от начала заболевания, несмотря на проводимое лечение, состояние пациентки – без улучшения. Сохранялись жалобы на прогрессирующее мышечной слабости, сонливости, отечности нижних конечностей, появилась боль в проекции в околоносовой, височной и окологлазничной областей слева.

При осмотре: дизартрия, девиация языка влево, появление единичных петехиальных элементов в окологлазничной области слева, нарастание отечности мягких тканей левой височной, окологлазничной области слева, в области левой щеки пальпировался плотный инфильтрат 2х1 см, умеренно болезненный. Постепенно в течение последующих 10 суток наблюдали увеличение размеров и количества геморрагических элементов, папул на коже лица, увеличение размеров инфильтрата до 3 х 2 см, участок некроза и деструкции твердого неба.

По данным компьютерной томографии (КТ) околоносовых пазух, выявлена зона пониженной плотности перивентрикулярно в правой лобной доле, снижение пневматизации пазух слева (верхнечелюстной, клеток решетчатого лабиринта, основной) за счет наличия патологического субстрата с гиперденсными включениями, утолщение и инфильтрация мягких

тканей лица слева с распространением на бульбарную клетчатку в медиальные отделы (Рис.1).

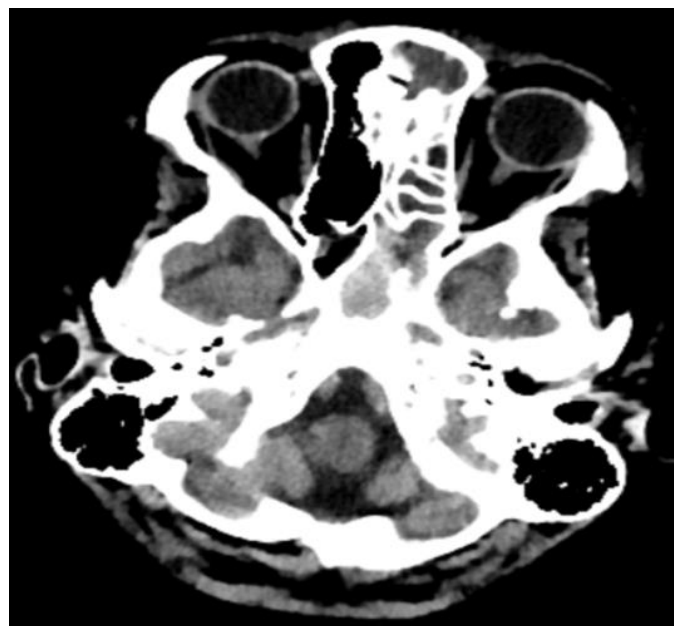
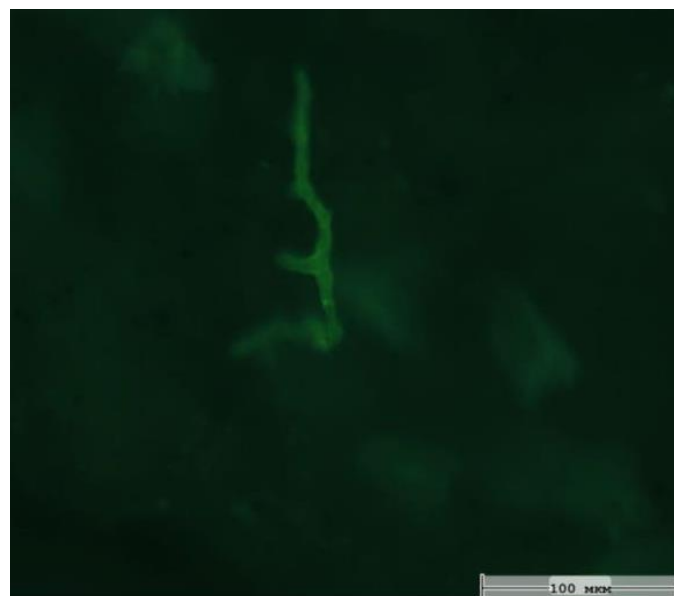


Рис. 1. КТ околоносовых пазух. Пациентка, 14 лет. 10 суток от постановки диагноза «мукомикоз».

Пациентке выполнено saniрующее оперативное вмешательство: гайморотомия с установкой дренажа с целью проведения инстилляций противомикробными препаратами. При микробиологическом исследовании послеоперационного материала получен рост грибов *Rhizopus arrhizus* (Рис.2).



А)



Б)

Рис. 2. А) Микроскопия культуры *R. arrhizus* с калькофлюором белым (увеличение $\times 400$). Б) Рост культуры *R. arrhizus* на среде Сабуро из послеоперационного материала.

На основании наличия у пациентки факторов риска, клинико-радиологических данных и положительных результатов микологических тестов был установлен диагноз: мукормикоз с поражением околоносовых пазух (верхнечелюстной, клеток решетчатого лабиринта, основной пазух), обусловленный *R. arrhizus*. Согласно международным клиническим рекомендациям, начато лечение липосомальным амфотерицином В в дозе 5 мг/кг в сутки.

На 14 сутки от постановки диагноза «мукормикоз» проведено оперативное вмешательство: гайморотомия, этмоидотомия, некротомия, удаление инородного тела, новообразования из глазницы. Послеоперационный материал был направлен на гистологическое исследование со специальными окрасками микропрепаратов: PAS-окрашивание (реакция Шиффа), методом Гомори-Грокотта. Во всех фрагментах в зонах некроза и в сосудах с деструкцией их стенок были обнаружены ветвящиеся под прямым углом толстые слабосептированные нити мицелия.

Несмотря на противогрибковую терапию и оперативное вмешательство, к 17 суткам отмечена отрицательная динамика. Проведено повторное оперативное вмешательство (некротомия, ревизия послеоперационной раны), принято решение об эскалации противогрибковой терапии: сочетание липосомального амфотерицина В – 5 мг/кг/сутки и изавуконазола – 200 мг каждые 8 часов в первые 48 часов, далее – 200 мг в сутки (в 2024 г. препарат назначен по решению врачебной комиссии в связи с отсутствием показаний

применения в детском возрасте на момент диагностики инвазивного микоза).

В дальнейшем наблюдали прогрессию мукормикоза: зона некроза распространилась на спинку, крыло носа, щечную область. Были выполнены повторные оперативные вмешательства (некрэтомия мягких тканей, резекция пораженных костей лицевого скелета, наложение гастростомы и трахеостомы), а также эскалация дозы липосомального амфотерицина В до 10 мг/кг в сутки в комбинированной терапии с изавуконазолом.

Однако при повторных посевах из раневого отделяемого и послеоперационного материала были выделены мукоромицеты (*R. arrhizus*).

По данным компьютерной томографии околоносовых пазух, на 24 сутки от постановки диагноза отмечено: диффузная атрофия паренхимы мозга с вторичным расширением борозд и ликворных пространств, вентрикуломегалия, перивентрикулярная лейкопатия, все околоносовые пазухи тотально заполнены патологическим субстратом, выражено уплотнение клетчатки левой орбиты с инфильтрацией зрительного нерва, в левом кавернозном синусе – дефект 3 мм (тромб?), левая глазная вена на уровне орбиты контрастируется, ближе к вершине прослеживается плохо.

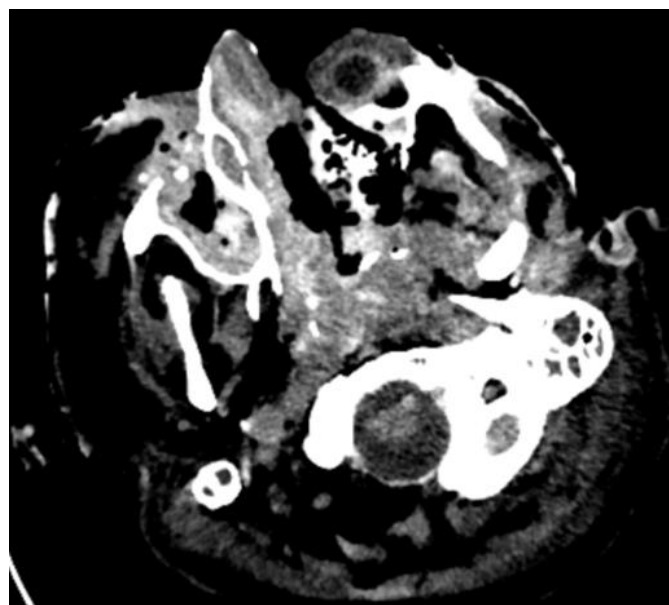




Рис. 3. КТ околоносовых пазух. Пациентка, 14 лет. 24 сутки от постановки диагноза «мукоormикоз».

На основании наличия факторов риска, клинических проявлений (некротические изменения кожи, мягких тканей лица слева, деструкция и некроз верхнего неба, неврологическая симптоматика, экзофтальм), данных обследования (остеомиелит верхней челюсти, ячеек решетчатого лабиринта, отек ретробульбарной клетчатки и мягких тканей орбиты слева, очаговые изменения в лобной доле), а также высева микровицетов *R. arrhizus* из послеоперационного материала, мазках из зева и носа, у пациентки диагностирован распространенный/диссеминированный мукоormикоз.

Несмотря на комбинированную противогрибковую терапию, на фоне прогрессирования основного заболевания и стойкой цитопении развились септический шок и полиорганная недостаточность. Летальный исход зафиксирован на 41 сутки от постановки диагноза «мукоormикоз».

ОБСУЖДЕНИЕ

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой гетерогенную группу, насчитывающую в настоящее время около 500 заболеваний, вызванных моногенными мутациями зародышевой линии, которые повышают восприимчивость к инфекциям, аутоиммунным и аутовоспалительным заболеваниям, атопии, недостаточности костного мозга и/или злокачественным новообразованиям [10]. Среди тех, которые предрасполагают к инфекциям, могут быть ассоциированные и с условно-патогенными возбудителями, в том числе грибковыми [2-7, 11-13].

Наиболее распространенными ПИД, связанными с грибковыми инфекциями, являются мутации *STAT1* (gain of function – GOF) [14]. Чаще всего у таких пациентов развивается хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек (ХККС). Известно более 15 *STAT1*-мутаций, ассоциированных исключительно с ХККС. Иммунологические данные мутации проявляются нарушением синтеза цитокинов, характерных для Th17–IL-17. Причиной является дисбаланс в системе фосфорилирования-дефосфорилирования белка, ответственного за синтез интерферона-гамма (IFN- γ). Показано, что аутосомно-доминантные мутации гена с усилением активности *STAT1* у больных ХККС приводят к увеличению выработки IFN- γ и, соответственно, активности IFN- γ -зависимого клеточного ответа. Это в свою очередь влияет на ингибирование IL-17-опосредованных ответов: нарушение дифференцировки IL-17–Т-клеток *ex vivo* и снижение *Candida*-стимулированного высвобождения IL-17A/F и IL-22 [15]. Также, согласно данным анализа международной когорты пациентов с ХККС, поиск основных дефектов генов с использованием подхода целового секвенирования позволил поставить диагноз у 37,5% (24/64) пациентов с ПИД, включая: *STAT1* GOF (63%), *CARD9* (17%), *STAT3* (8%), *IL17RA* (8%) и *AIRE* (4%) [16, 17].

Инвазивный кандидоз был зарегистрирован у лиц с синдромами врожденной нейтропении (ELANE, HAX1 и т. д.) [1] и нарушениями адгезии лейкоцитов 1 (LAD-1, ITKB2) [16], а также с полным дефицитом миелопероксидазы (МПО) и хронической гранулематозной болезнью (ХГБ) [18].

ХГБ на сегодняшний день – наиболее распространенный ПИД, связанный с плесневыми микозами [16, 18]. *Aspergillus fumigatus* обычно является наиболее частой причиной инвазивного аспергиллеза у разных категорий больных, тогда как для ХГБ более специфично выделение *Aspergillus nidulans* [19]. Отчетливая восприимчивость к *A. nidulans* у пациентов с ХГБ может быть связана с потерей NADPH-оксидазозависимого нетоза [20]. В целом риск развития инвазивного аспергиллеза у лиц с ХГБ составляет от 25 до 45% [16, 19], поэтому они должны получать пожизненную первичную противогрибковую профилактику препаратами, активными в отношении плесневых микровицетов [19].

Пациенты с гипер-IgE синдромом, вызванным доминантно-негативными мутациями в гене *STAT3*, также подвержены риску развития инвазивного микоза. Duféault A. и соавторы в своем наблюдении за 74 больными с гипер-IgE синдромом установили, что в 17,5% случаев был эпизод инвазивного аспергиллеза, в 12% – развился хронический аспергиллез, в 7% – аспергиллема [21].

Дефицит GATA2 – это моногенный синдром недостаточности костного мозга. Данные пациенты восприимчивы к микобактериальным, грибковым и/или

вирусным заболеваниям (особенно бородавкам, связанным с вирусом папилломы человека) и к гематологическим злокачественным новообразованиям (MonoMAC) [22, 23]. Среди иммунологических нарушений фиксируют дефицит дендритных клеток, моноцитов, В- и NK-лимфоидных клеток (DCML), нейтропению. GATA2 – фактор транскрипции и главный регулятор кроветворения [22-25]. Только треть известных мутаций являются наследованными, тогда как остальные две трети – спорадическими. Поэтому отсутствие семейного анамнеза заболевания не исключает наличие патологии. Среди иммунологических дефектов при дефиците GATA2 прогрессирующая моноцитопения сопровождается различной степенью В- и NK-лимфопении, Т-лимфопении, нейтропении или дендритной цитопении, которые могут усиливаться с возрастом [26].

По данным литературы, дефицит GATA2 чаще был связан со следующими грибковыми заболеваниями: диссеминированным гистоплазмозом, кокцидиоидомикозом, криптококковым менингитом и бластомикозом [27-30]. Молекулярная основа восприимчивости к микромицетам при дефиците GATA2 не определена, но, можно предположить, что это связано с дисфункцией оси IL-12/IFN- γ , возможно, через моноцитопению и/или дефекты, присущие макрофагам [16, 31]. Ответ на противогрибковую терапию был различным, хотя это может совпадать с развитием других признаков дефицита GATA2, в частности гематологических злокачественных новообразований, которые могут осложнить лечение. Учитывая возможность развития миелодиспластического синдрома (МДС) и последующее прогрессирование в гематологические злокачественные новообразования

(чаще всего в острый миелоидный лейкоз или хронический миеломоноцитарный лейкоз), лечение с помощью аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток следует проводить на ранних стадиях [29, 30, 32].

Мукормикоз – тяжелое инвазивное заболевание, вызываемое грибами порядка Mucorales, из которых наиболее частыми возбудителями инфекций у человека являются *Rhizopus*, *Mucor* и *Rhizomucor* [33]. Наиболее частые клинические варианты: поражение околоносовых пазух с распространением в орбиту и головной мозг, поражение лёгких, кожи, желудочно-кишечного тракта и диссеминированный [34, 35]. Мукормикоз не является классически стереотипным для какого-либо конкретного ПИД. В литературе описаны случаи мукормикоза на фоне ХГБ [35], при мутации в гене *STAT1* GOF [36], дефиците *CARD9* [37, 38] и дефиците GATA2 [24].

ВЫВОД

Инвазивные грибковые инфекции являются частым и жизнеугрожающим осложнением многих первичных иммунодефицитов. Разные типы ПИД predisposing к инфекциям определенными видами микромицетов. При дефиците GATA2 может развиваться быстро прогрессирующий инвазивный микоз с высоким уровнем летальности – мукормикоз. Рецидивирующий или инвазивный микоз у пациента должен служить сигналом для углублённого иммунологического и генетического обследования с целью исключения ПИД.

ЛИТЕРАТУРА

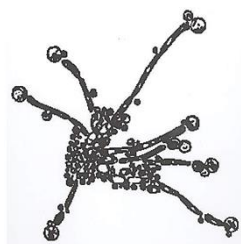
1. Rotulo G.A., Plat G., Beaupain B., Blanche S., et al. Recurrent bacterial infections, but not fungal infections, characterise patients with ELANE-related neutropenia: A French Severe Chronic Neutropenia Registry study. *Br. J. Haematol.* 2021;194: 908-920. doi: 10.1111/bjh.17695
2. Corvilain E., Casanova J.L., Puel A. Inherited *CARD9* deficiency: invasive disease caused by ascomycete fungi in previously healthy children and adults. *J. Clin. Immunol.* 2018; 38: 656-693. doi: 10.1007/s10875-018-0539-2
3. Drummond R.A., Lionakis M.S. Mechanistic insights into the role of C-Type lectin receptor/*CARD9* signaling in human antifungal immunity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2016; 6: 39. doi: 10.3389/fcimb.2016.00039
4. Ma H., Kuang L., Lv G., et al. Vertebral aspergillosis in a patient with autosomal-dominant hyper-IgE syndrome. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21: 107-109. doi: 10.1128/CVI.00529-13
5. Knight V., Heimall J.R., Chong H., et al. A Toolkit and framework for optimal laboratory evaluation of individuals with suspected primary immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2021; 9: 3293-3307.e6. doi:10.1016/j.jaip.2021.05.004
6. Vinh D.C., Patel S.Y., Uzel G., et al. Autosomal dominant and sporadic monocytopenia with susceptibility to mycobacteria, fungi, papillomaviruses, and myelodysplasia. *Blood.* 2010; 115 (8): 1519-29. doi.org/10.1182/blood-2009-03-208629
7. Hsu A.P., Sampaio E.P., Khan J., et al. Mutations in *GATA2* are associated with the autosomal dominant and sporadic monocytopenia and mycobacterial infection (MonoMAC) syndrome. *Blood.* 2011; 118: 2653-2655. doi:10.1182/blood-2011-05-356352

8. *Lanternier F., Cypowyj S., Picard C., et al.* Primary immunodeficiencies underlying fungal infections. *Curr. Opin. Pediatr.* 2013; 25 (6): 736-47. doi: 10.1097/MOP.0000000000000031
9. *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: 10.1093/cid/ciz1008
10. *Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., et al.* Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J. Clin. Immunol.* 2022; 42 (7): 1473-1507. doi: 10.1007/s10875-022-01289-3
11. *Abd Elaziz D., Abd El-Ghany M., Meshaal S., et al.* Fungal infections in primary immunodeficiency diseases. *Clin. Immunol.* 2020; 219: 108553. doi: 10.1016/j.clim.2020.108553
12. *Шадринова О.В., Фролова Е.В., Тараскина А.Е., Климко Н.Н.* Молекулярно-генетические и иммунологические аспекты инвазивного аспергиллеза. *Журнал инфектологии.* 2017; 9 (1): 47-54. [Shadrivova O.V., Frolova E.V., Taraskina A.E., Klimko N.N. Molecular genetic and immunological aspects of invasive aspergillosis. *Journal Infectology.* 2017;9 (1): 47-54. (In Russ.)]. doi.org/10.22625/2072-6732-2017-9-1-47-54
13. *Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е. и др.* Особенности взаимодействия клеток иммунной системы с грибами порядка *Mucorales*. *Проблемы медицинской микологии.* 2020; 22 (2): 3-11. [Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Aak O.V., Solovjova G.I., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V. Features of interaction of cells immune system with *Mucorales* (literature review). *Problems in Medical Mycology.* 2020; 22 (2): 3-11. (In Russ.)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-3-11
14. *Toubiana J., Okada S., Hiller J., et al.* International STAT1 Gain-of-Function Study Group. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie an unexpectedly broad clinical phenotype. *Blood.* 2016; 127 (25): 3154-64. doi:10.1182/blood-2015-11-679902
15. *Козлова О.П., Суслицын Е.Н., Фролова Е.В. и др.* Синдром хронического кандидоза кожи и слизистых у детей с мутациями гена STAT1. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2023; 12 (3): 101-11 [Kozlova O.P., Suspitsyn E.N., Frolova E.V., et al. Chronic mucocutaneous candidiasis in children with STAT1 gene mutations. [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2023; 12 (3): 101-11. (In Russ.)]. doi.org/10.33029/2305-3496-2023-12-3-101-111
16. *Olbrich P., Vinh D.C.* Inborn errors of immunity causing pediatric susceptibility to fungal diseases. *J. Fungi.* 2023; 9: 149. doi.org/10.3390/jof9020149
17. *Frede N., Rojas-Restrepo J., Caballero Garcia de Oteyza A., et al.* Genetic analysis of a cohort of 275 patients with hyper-ige syndromes and/or chronic mucocutaneous candidiasis. *J. Clin. Immunol.* 2021; 41 (8): 1804-1838. doi:10.1007/s10875-021-01086-4
18. *Marciano B.E., Spalding C., Fitzgerald A., et al.* Common severe infections in chronic granulomatous disease. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60 (8):1176-83. doi: 10.1093/cid/ciu1154
19. *King J., Henriet S.S.V., Warris A.* Aspergillosis in chronic granulomatous disease. *J Fungi (Basel).* 2016; 2 (2): 15. doi: 10.3390/jof2020015
20. *Lee M.J., Liu H., Barker B.M., et al.* The fungal exopolysaccharide galactosaminogalactan mediates virulence by enhancing resistance to neutrophil extracellular traps. *PLoS Pathog.* 2015; 11: e1005187. doi: 10.1371/journal.ppat.1005187
21. *Dur  ault A., Tcherakian C., Poiree S., et al.* Spectrum of pulmonary aspergillosis in hyper-IgE syndrome with autosomal-dominant STAT3 deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2019; 7 (6): 1986-1995.e3. doi:10.1016/j.jaip.2019.02.041
22. *Hsu A.P., McReynolds L.J., Holland S.M.* GATA2 deficiency. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 15 (1): 104-9. doi: 10.1097/ACI.0000000000000126
23. *Cordero E., Goycochea-Valdivia W., Mendez-Echevarria A., et al.* Executive summary of the consensus document on the diagnosis and management of patients with primary immunodeficiencies. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. (Engl Ed).* 2020; 38 (9): 438-443. doi: 10.1016/j.eimc.2020.07.001
24. *Donadieu J., Lamant M., Fieschi C., et al.* Natural history of GATA2 deficiency in a survey of 79 French and Belgian patients. *Haematologica.* 2018; 103: 1278-1287. doi: 10.3324/haematol.2017.181909
25. *Hahn C.N., Chong C.E., Carmichael C.L., et al.* Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat. Genet.* 2011; 43: 1012-1017. doi: 10.1038/ng.913
26. *Oleaga-Quintas C., de Oliveira-J  nior E.B., Rosain J., et al.* Inherited GATA2 deficiency is dominant by haploinsufficiency and displays incomplete clinical penetrance. *J. Clin. Immunol.* 2021; 41: 639-657. doi: 10.1007/s10875-020-00930-3
27. *Imran T., Cui C.* GATA2 transcription factor deficiency predisposing to severe disseminated coccidioidomycosis. In *Proceedings of the Frontiers in Immunology Conference: 15th International Congress of Immunology, Milan, Italy, 22-27 August 2013.*

28. Spinner M.A., Ker J.P., Stoudenmire C.J., et al. GATA2 deficiency underlying severe blastomycosis and fatal herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 137 (2): 638-40. doi:10.1016/j.jaci.2015.07.043
29. Cuellar-Rodriguez J., Gea-Banacloche J., Freeman A.F., et al. Successful allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for GATA2 deficiency. *Blood.* 2011; 118 (13): 3715-20. doi: 10.1182/blood-2011-06-365049
30. Grossman J., Cuellar-Rodriguez J., Gea-Banacloche J., et al. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for GATA2 deficiency. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2014; 20 (12): 1940-8. doi:10.1016/j.bbmt.2014.08.004
31. Hickstein D. HSCT for GATA2 deficiency across the pond. *Blood.* 2018; 131 (12): 1272-1274. doi: 10.1182/blood-2018-02-826461
32. Nichols-Vinueza D.X., Parta M., Shah N.N., et al. Donor source and post-transplantation cyclophosphamide influence outcome in allogeneic stem cell transplantation for GATA2 deficiency. *Br. J. Haematol.* 2022; 196 (1): 169-178. doi:10.1111/bjh.17840
33. Хостелиди С.Н. Тяжелые грибковые инфекции, вызванные редкими возбудителями: дисс... на соискание ученой степени доктора медицинских наук. СПб., 2023; 314 с. [Khostelidi S.N. Severe fungal infections caused by rare pathogens: a dissertation on obtaining the degree of Doctor of Medical Sciences. St. Petersburg, 2023; 314 p. (In Russ.)].
34. Skiada A., Drogari-Apiranthitou M., Roilides E., et al. A global analysis of cases of mucormycosis recorded in the European Confederation of Medical Mycology / International Society for Human and Animal Mycology (ECMM / ISHAM) Zygomycota Registry from 2009 to 2022. *Mycopathologia.* 2025; 190 (4): 53. doi: 10.1007/s11046-025-00954-6
35. Vinh D.C., Freeman A.F., Shea Y.R., et al. Mucormycosis in chronic granulomatous disease: Association with iatrogenic immunosuppression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123: 1411–1413. doi: 10.1016/j.jaci.2009.02.020
36. Kumar N., Hanks M.E., Chandrasekaran P., et al. Gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) mutation-related primary immunodeficiency is associated with disseminated mucormycosis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (1): 236-9. doi: 10.1016/j.jaci.2014.02.037
37. Wang X., Wang A., Wang X., et al. Cutaneous mucormycosis caused by *Mucor irregularis* in a patient with CARD9 deficiency. *Br. J. Dermatol.* 2019; 180 (1): 213-214. doi: 10.1111/bjd.17144
38. Zhang L., Huang J., Ma, Y., et al. Primary cutaneous mucormycosis, *Candida* onychomycosis and endophthalmitis in a patient with CARD9 mutation. *Mycopathologia.* 2022; 187 (2-3): 305-308. doi: 10.1007/s11046-021-00609-2

Поступила в редакцию журнала 23.09.25

Принята к печати 06.10.25



Для цитирования: Корнишева В.Г., Гринева Е.М., Литвиненко Е.А., Гулордава М.Д. Хроническая мигрирующая эритема (хроническая мигрирующая эритема Афцелиуса-Липшютца) – начальная стадия клещевого боррелиоза. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 45-48. doi:10.24412/1999-6780-2025-3-45-48

For citation: Kornisheva V.G., Grineva E.M., Litvinenko E.A., Gulordava M.D. Chronic erythema migrans (Afzelius-Lipschutz chronic erythema migrans) – the initial stage of tick-borne borreliosis. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3):45-48. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-45-48

ХРОНИЧЕСКАЯ МИГРИРУЮЩАЯ ЭРИТЕМА (ХРОНИЧЕСКАЯ МИГРИРУЮЩАЯ ЭРИТЕМА АФЦЕЛИУСА-ЛИПШЮТЦА) – НАЧАЛЬНАЯ СТАДИЯ КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

^{1,2}Корнишева В.Г. (профессор)*, ¹Гринева Е.М.
(дерматовенеролог), ³Литвиненко Е.А.
(дерматовенеролог), ¹Гулордава М.Д. (зав. отд.)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии; НИИ медицинской микологии имени П.Н.Кашкина); ²Городской кожно-венерологический диспансер; ³Кожно-венерологический диспансер №7, Санкт-Петербург, Россия

Мигрирующая эритема – клиническое проявление начальной стадии клещевого боррелиоза. В статье представлен клинический случай мигрирующей эритемы Афцелиуса-Липшютца у пациентки, которой был поставлен предварительный диагноз локализованной склеродермии. Проанализировано наличие взаимосвязи Лайм-боррелиоза с локализованной склеродермией.

Ключевые слова: хроническая мигрирующая эритема, клещевой боррелиоз, локализованная склеродермия

CHRONIC ERYTHEMA MIGRANS (AFZELIUS-LIPSCHUTZ CHRONIC ERYTHEMA MIGRANS) – THE INITIAL STAGE OF TICK-BORNE BORRELIOSIS

^{1,2}Kornisheva V.G. (professor), ¹Grineva E.M.
(dermatovenerologist), ³Litvinenko E.A.
(dermatovenerologist), ¹Gulordava M.D. (head
of the clinical department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Department of Dermatovenerology; Kashkin Research Institute of Medical Mycology); ²City Skin and Venereological Dispensary; ³Skin and Venereological Dispensary №7, St. Petersburg, Russia

Erythema migrans is a clinical manifestation of the initial stage of tick-borne borreliosis. The article presents a clinical case of Afzelius-Lipschutz erythema migrans in a patient who was given a preliminary diagnosis of localized scleroderma. The presence of a relationship between Lyme borreliosis and localized scleroderma was analyzed.

Key words: chronic erythema migrans, tick-borne borreliosis, localized scleroderma

ВВЕДЕНИЕ

Мигрирующая эритема – клиническое проявление начальной стадии клещевого боррелиоза (болезни Лайма). Данное заболевание появляется после укуса клеща и выявляется наличием в крови пациента антител к возбудителю. В Российской Федерации ежегодно количество заболевших клещевыми боррелиозами колеблется от 7 до 9 тысяч [1]. Мигрирующая эритема является наиболее распространенным кожным проявлением клещевых заболеваний, характеризующимся слегка приподнятым эритематозным поражением кожи, которое протекает бессимптомно или сопровождается зудом, иногда – болезненностью. Внутри центра очага поражения можно обнаружить след от инфицированного укуса клеща [1, 2].

* Контактное лицо: Корнишева Вера Гавриловна,
e-mail: v.g.kornisheva@gmail.com

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациентка Ю., 57 лет, в январе 2025 г. обратилась к дерматологу по месту жительства с жалобами на поражение кожи вокруг пупка, имеющее мигрирующий характер. Болея с августа 2024 г. Укус клеща отрицает. Пациентке был поставлен диагноз «локализованная склеродермия» и проведена наружная терапия топическими глюкокортикостероидами (ГКС). Очаг побледнел, но после прекращения наружного лечения периферический рост очага возобновился. При повторной консультации назначено обследование на антитела к *Borrelia burgdorferi*. При иммуноферментном анализе (ИФА) с определением антител класса IgM, IgG к *Borrelia burgdorferi* от 27.01.25 г. получены сомнительные титры IgM к боррелиям с рекомендацией повторить исследование через 2-4 недели. Титры IgG – в пределах референтных значений. По результатам иммуноблота, антитела класса IgM к боррелиям не выявлены. Антиядерные антитела (АНА) к экстрагируемым ядерным антигенам были в пределах нормы. Антитела к Scl-70 (антисклеродермальные антитела с молекулярной массой 70 кДа, антитела к топоизомеразе I) не обнаружены. Пациентка была направлена на консультацию в Городской кожно-венерологический диспансер г. Санкт-Петербурга с диагнозом «локализованная склеродермия?».

При осмотре общее состояние удовлетворительное. Температура тела в норме. На коже передней брюшной стенки вокруг пупка – эритема светло-розовой окраски, имеющая форму вытянутого овала диаметром до 40 см с ярко-розовым отечным краем (Рис.1).



Рис.1. На коже передней брюшной стенки: растущая эритема светло-розовой окраски, имеющая форму вытянутого овала диаметром до 40 см с ярко-розовым отечным краем.

Паховые лимфоузлы не увеличены. Другой патологии не выявлено. Жалобы больной, клинические проявления позволили поставить диагноз хронической мигрирующей эритемы, как раннее локализованного проявления болезни Лайма. Назначен курс доксициклина по 0,1 г х 2 раза в сутки на 14 дней, наружно – крем метилпреднизолона ацепонат 2 раза в день, 2 недели. После курса терапии очаг эритемы разрешился (Рис.2).



Рис. 2. После курса доксициклина очаг эритемы разрешился.

Проведено повторное исследование крови (ИФА) на антитела класса IgM к боррелиям. Получен отрицательный результат. Пациентке рекомендовано диспансерное наблюдение по месту жительства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Диагноз болезни Лайма обычно ставят на основании клинической картины и подтверждают результатами серологического исследования. В первые недели болезни антител может еще не быть, но потом они появляются у большинства больных. Сероконверсия может происходить и у людей с бессимптомным боррелиозом. Принято выполнять серологическую диагностику боррелиоза в два этапа, используя сначала иммуноферментный анализ, а затем – иммуноблоттинг. При проведении исследования в первый месяц болезни, в частности, как у нашей пациентки, определяют антитела IgM и IgG, желательны в парных сыворотках, в более поздние сроки – только IgG [3].

Растущая кольцевидная эритема с розовым отечным краем характерна для хронической мигрирующей эритемы, которая является первой стадией иксо-

дового клещевого боррелиоза (болезни Лайма), вызываемого спирохетами *Borrelia burgdorferi*. Переносчики – иксодовые клещи, представители класса паукообразных [4], поэтому источником инфекции могут быть и пауки, в том числе водяные пауки-серебрянки.

В настоящее время известно более 13 генотипов комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, из них патогенными для человека считаются *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garini*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. spielmani*, *B. lusitanae*, *B. miyamotoi*, *B. mayonii* [3]. В эндемичных районах инфицировано более 20% клещей, поэтому вероятность развития клещевого боррелиоза при укусе клеща высока. Многие люди не замечают их укуса: обычно не более 1/3 больных при обращении сообщают, что симптомы возникли после укуса клеща. Хроническая мигрирующая эритема развивается только у 75% пациентов. Инкубационный период обычно составляет от 3 до 32 дней после укуса клеща. Именно в локации укуса и возникает красное пятно (или папула), которое постепенно растет. На этом месте образуется эритема, которая представляет собой постоянно увеличивающееся в диаметре пятно с ярко-красным наружным ободком и светлой внутренней частью. Помимо эритемы, на коже могут быть сыпь в виде крапивницы, а также точечные и кольцевидные высыпания [1-5]. Представленная в статье пациентка отрицала укус клеща до начала дерматоза, поэтому был поставлен первичный диагноз локализованной склеродермии. Наружное применение крема с ГКС приостановило прогрессирование заболевания, но после прекращения лечения периферический рост очага продолжился. Значение *Borrelia burgdorferi* в патогенезе локализованной склеродермии остается противоречивым [5].

При сравнении клинической картины мигрирующей эритемы и локализованной склеродермии, можно отметить, что для последней характерны очаги эритемы и индурации кожи на туловище или конечностях. Типичны медленно растущие, одиночные или множественные округлые очаги диаметром от одного до нескольких сантиметров, что делает их схожими с проявлениями мигрирующей эритемы. Ранние очаги склеродермии представляют собой нечетко ограниченные бледно-эритематозные или сиреневатые бляшки, распространяющиеся по периферии и не вызывающие субъективных жалоб. Центр очага постепенно светлеет, приобретая оттенок цвета слоновой кости, и уплотняется; по его периферии имеется сиреневатый венчик, что не характерно для мигрирующей эритемы. Процесс склерозирования при склеродермии продолжается, пока не сформируется участок атрофии. Бляшки располагаются в основном на туловище, особенно на участках тесно прилегающей одежды, реже встречаются на конечностях. Они разрешаются в течение

месяцев, оставляя гиперпигментацию. Симптомы недомогания, артралгии не характерны [6].

Бутаревой М.М. и соавторами описан клинический случай развития мигрирующей эритемы у пациентки, которая в течение длительного времени страдала локализованной склеродермией. Регресс очагов мигрирующей эритемы на фоне антибактериальной терапии при сохраняющихся проявлениях локализованной склеродермии подтверждает спорность суждений об этиологическом единстве двух заболеваний [7].

В результате клинко-морфологического и иммунологического обследования 238 больных со склероатрофическими поражениями кожи (САПК) Снарская Е.С. и Ромашкина А.С. наблюдали развитие процесса на фоне боррелиозной инфекции в 15% случаев (36 человек) [8]. САПК при боррелиозе в 55,5% был представлен бляшечной склеродермией. Для очагов была характерна многоочаговость с повышенной болевой чувствительностью, зудом или парестезиями, общими симптомами в виде мигрирующих артралгий (44,5%), неврологической симптоматикой (38,9%) [8]. По нашим данным обследования на антитела к *Borrelia burgdorferi* 132 человек с локализованной склеродермией, повышенный уровень IgG был диагностирован только у одной пациентки (0,76%), что не противоречит данным М.М.Бутаревой и соавт. [7]. У остальных больных титры антител IgM и IgG были в пределах нормы. Проведенное лечение, назначенное врачом-инфекционистом, не оказало влияние на течение склеродермии.

На сегодняшний день нет убедительных данных в пользу наличия прямых патогенетических связей между *Borrelia burgdorferi* и локализованной склеродермией [5, 7]. Лицам, проживающим в эндемичных районах и имеющим клинические проявления мигрирующей эритемы, диагноз ставится только на основании клинической картины без лабораторных исследований, так как высока частота ложноположительных результатов в общей популяции [9]. При ретроспективном анализе медицинских карт 64 детей в 75% случаев наблюдалась мигрирующая эритема как ранняя стадия клещевого боррелиоза. По данным ИФА антитела к боррелиям обнаружены только у 61% пациентов. Изменения в гемограмме были не специфичны. Мигрирующая эритема быстрее исчезала при лечении амоксициллином и доксициклином [10].

Выбор терапевтической тактики при клещевом боррелиозе обуславливается стадией болезни и возрастом. Препаратом первого выбора у пациентов старше 8 лет является доксициклин, у детей до 8 лет – амоксициллин в дозе 50 мг/кг в сут. Средствами резерва для взрослых являются амоксициллин, цефуроксим аксетил, эритромицин; для детей – цефуроксим аксетил и эритромицин. Продолжительность лечения при ранней диагностике на стадии хронической

мигрирующей эритемы составляет от 14 до 21 дня, на более поздних стадиях курс антибактериальной терапии продолжается не менее 4 недель [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, актуальность представленного клинического случая заключается в том, что проведенные серологические исследования не подтвердили диагноз мигрирующей эритемы как раннего проявления клещевого боррелиоза. Важно отметить, что результаты серологических реакций часто бывают ложноотрицательными и не играют ключевой

роли для постановки диагноза [6, 8], а ведущими являются клинические проявления в виде растущей эритемы светло-розовой окраски с ярко-розовым отечным краем, что позволяет клинически поставить диагноз мигрирующей эритемы и назначить лечение. При быстром развитии мигрирующей эритемы необходимо своевременное проведение этиотропной терапии с целью предотвращения развития тяжелых торпидных форм [1]. Прогноз болезни определяется сроками начала антибактериальной терапии: чем раньше начато лечение, тем оно эффективнее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сорокина Е.В., Масюкова С.А. Мигрирующая эритема: кожная манифестация болезни Лайма. Клиническая дерматология и венерология. 2015; 14 (6): 8-14. [Sorokina E.V., Masiukova S.A. Erythema migrans: the cutaneous manifestation of Lyme disease. Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. 2015;14 (6): 8-14. (In Russ.)]. doi.org/10.17116/klinderma20151468-14
2. Shimamura Y., Maeda T., Gocho Y. Tick bite – Erythema migrans. J. Gen. Fam. Med. 2018; 19: 59-60. doi.org/10.1002/jgf2.152
3. Куличенко Т.В., Малахова А.Е., Лашкова Ю.С. Мальчик с мигрирующей эритемой. Педиатрическая фармакология. 2014;11(6):83-84. [Kulichenko T.V., Malakhova A.E., Lashkova Yu.S. A boy with erythema migrans. Pediatric pharmacology. 2014; 11 (6): 83-84. (In Russ.)].
4. Зверева Н.Н., Шакарян А.К., Сайфуллин Р.Ф. и др. Современное состояние проблемы иксодового клещевого боррелиоза (болезни Лайма) у детей. Детские инфекции. 2017; 16 (1): 27-31. [Zvereva N.N., Shakaryan K., Sayfullin R.F., et al. Current state of tick-borne borreliosis (Lyme disease) in children. Children Infections. 2017; 16 (1): 27-31. (In Russ.)]. doi.org/10.22627/2072-8107-2017-16-1-27-31
5. Креутер А., Криег Т., Ворм М. и др. Немецкие клинические рекомендации по диагностике и лечению локализованной склеродермии. [Kreuter A., Krieg T., Worm M., et al. German guidelines for the diagnosis and therapy of localized scleroderma. (In Russ.)]. <https://www.dermatology.ru/translation/nemetskie-klinicheskie-rekomendatsii-po-dagnostike-i-lecheniyu-lokalizovannoi-skleroder>
6. Акимов В.Г. Дифференциальная диагностика дерматозов, проявляющихся эритемой. Клиническая дерматология и венерология. 2016; 15 (1): 96-103. [Akimov V.G. Differential diagnosis of dermatosis presenting with erythema. Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. 2016; 15 (1): 96-103. (In Russ.)]. doi.org/10.17116/klinderma201615196-103
7. Бутарева М.М., Знаменская Л.Ф., Мурадян Н.Л. и др. Диагностика и лечение хронической мигрирующей эритемы Афцелиуса-Липшютца у больной локализованной склеродермией в условиях дневного стационара. Вестник дерматологии и венерологии. 2013; 4: 79-84. [Butareva M.M., Znamenskaya L.F., Muradyan N.L., et al. Diagnostics and treatment of erythema chronicum migrans Aftselius-Lipschutz in a female patient with localized scleroderma under the condition of daytime hospital. Bulletin of Dermatology and Venereology. 2013; 4: 79-84. (In Russ.)].
8. Снарская Е.С., Ромашикина А.С. Клинические особенности очаговой склеродермии, ассоциированной с боррелиозной инфекцией. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2013; 16 (3): 36-40. [Snarskaya E.S., Romashkina A.S. Clinical characteristics of focal scleroderma associated with Borrelia infection. Russian Journal of Skin and Venereal Diseases. 2013; 16 (3): 36-40. (In Russ.)]. doi.org/10.17816/dv36787
9. Дерматология по Фицпатрику: в 4 т. Том IV /под ред.: С. Кана, М. Амагаи, А.Л. Брукнер и др.; пер. с англ. под ред. проф. Н.Н. Потекаева. Глава 179. М.: изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2025. [Dermatology according to Fitzpatrick: in 4 volumes. Volume IV /edited by: S. Kana, M. Amagai, A.L. Bruckner, et al.; translated from English. edited by prof. N.N. Potekaev. Chapter 179. Moscow: GEOTAR-Media Publishing House, 2025. (In Russ.)].
10. Грынцевич Р.Г. Характеристика мигрирующей эритемы у детей с болезнью Лайма. Инновации в медицине и фармации - 2023: сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 2023: 88-91. [Gryntsevich R. G. Laboratory and clinical characteristics of migrating erythema in children with Lyme disease. Innovations in Medicine and Pharmacy - 2023: collection of materials of the International Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists, Minsk, 2023: 88-91.

Поступила в редакцию журнала 09.10.25

Принята к печати 13.10.25

Для цитирования: Макарова М.А., Кафтырева Л.А., Полев Д.Е., Жамборова С.Х., Саитова А.Т., Есик К.Н., Лузинова Л.Ю., Хохлова Н.Н., Лебедева Е.В., Кондратьева З.Г., Стрельченко О.В., Гордеева С.А., Богданова М.О. Острый энтероколит, обусловленный энтероагрегативной *Escherichia coli*, продуцирующей шигаподобный токсин. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 49-53. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-49-53

For citation: Makarova M.A., Kaftyreva L.A., Polev D.E., Zhamborova S.H., Saitova A.T., Esik K.N., Luzinova L.Yu., Khokhlova N.N., Lebedeva E.V., Kondratyeva Z.G., Strelchenko O.V., Gordeeva S.A., Bogdanova M.O. Acute enterocolitis caused by enteroaggregative *Escherichia coli* producing shiga-like toxin. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 49-53.. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-49-53

ОСТРЫЙ ЭНТЕРОКОЛИТ, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ ЭНТЕРОАГРЕГАТИВНОЙ *ESCHERICHIA COLI*, ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ ШИГАПОДОБНЫЙ ТОКСИН

^{1,2}Макарова М.А. (в.н.с., зав. лаб., профессор)
^{1,2}Кафтырева Л.А. (в.н.с., зав. отд., профессор)*,
¹Полев Д.Е. (с.н.с.), ¹Жамборова С.Х. (м.н.с.),
¹Саитова А.Т. (м.н.с.), ³Есик К.Н. (врач-инфекционист), ³Лузинова Л.Ю. (врач-бактериолог),
³Хохлова Н.Н. (врач-бактериолог), ³Лебедева Е.В. (врач-бактериолог), ³Кондратьева З.Г. (врач-бактериолог), ³Стрельченко О.В. (врач-бактериолог), ³Гордеева С.А. (врач-бактериолог, зав. лаб.),
^{2,3}Богданова М.О. (врач-эпидемиолог, ассистент)

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

Escherichia coli, способные вызывать острые кишечные инфекции, классифицируют на патогруппы в соответствии с детерминантами вирулентности. Активный обмен генетической информацией обеспечивает естественное появление штаммов, обладающих наборами генов вирулентности, характерными для штаммов разных патотипов и патогрупп. Ярким примером является штамм сероварианта O104:H4, который относится к «гибридной» патогруппе «энтероагрегативных шигатоксинпродуцирующих *E. coli*». Появление таких штаммов становится серьезной проблемой здравоохранения всех стран ввиду повышенной патогенности и риска возникновения серьезных клинических проявлений, таких как геморрагический колит и гемолитико-уремический синдром. Важно отметить, что традиционные методы лабораторной диагностики зачастую ориентированы на отдельные патогруппы *E. coli*, и идентификация гибридных штаммов представляет особую сложность, поскольку требует специальных методик и высокочувствительных инструментов анализа. Использование современных молекулярных подходов в диагностике диарейных заболеваний обеспечивает быстрый и надежный способ обнаружения ключевых генетических элементов, играющих роль в развитии тяжелых жизнеугрожающих осложнений и резистентности к антимикробным препаратам.

Ключевые слова: энтероагрегативные *Escherichia coli*, энтероколит, гемолитико-уремический синдром, шигаподобный токсин

ACUTE ENTEROCOLITIS CAUSED BY ENTEROAGGREGATIVE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCING SHIGA-LIKE TOXIN

^{1,2}Makarova M.A. (leading scientific researcher, head of the laboratory, professor), ^{1,2}Kaftyreva L.A. (leading scientific researcher, head of the department, professor), ¹Polev D.E. (senior scientific researcher), ¹Zhamborova S.H. (junior scientific researcher), ¹Saitova A.T. (junior scientific researcher), ³Esik K.N. (infectious diseases physician), ³Luzinova L.Yu. (bacteriologist), ³Khokhlova N.N. (bacteriologist), ³Lebedeva E.V. (bacteriologist), ³Kondratyeva Z.G. (bacteriologist), ³Strelchenko O.V. (bacteriologist), ³Gordeeva S.A. (bacteriologist, head of the laboratory),
^{2,3}Bogdanova M.O. (epidemiologist, assistant)

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

Escherichia coli causing acute intestinal infections are classified into pathogroups according to the determinants of virulence. The active exchange of genetic information ensures the natural appearance of strains with sets of virulence genes characteristic of strains of different pathotypes and pathogroups. A striking example is the strain of the serovariant O104:H4, which belongs to the "hybrid" pathogroup of enteroaggregative shigatoxin-producing *E. coli*. The emergence of such strains is becoming a serious public health problem in all countries due to increased pathogenicity and the risk of serious clinical manifestations such as hemorrhagic colitis and hemolytic-uremic syndrome. It is important to note that traditional laboratory diagnostic methods are often focused on individual *E. coli* pathogens, and the identification of hybrid strains is particularly difficult because it requires special techniques and highly sensitive analysis tools. The use of modern molecular approaches in the diagnosis of diarrheal diseases provides a fast and reliable way to detect key genetic elements that play a role in the development of life-threatening complications and antimicrobial resistance.

Key words: enteroaggregative *Escherichia coli*, enterocolitis, hemolytic-uremic syndrome, shiga-like toxin

* Контактное лицо: Кафтырева Лидия Алексеевна,
e-mail: kaflidia@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Escherichia coli объединяет группу бактерий, среди которых насчитывают большое число разновидностей, отличающихся по принадлежности к филогенетическим и клональным группам, ферментативным и антигенным свойствам, продукции колицинов, энтеро- и цитотоксинов, чувствительности к антибактериальным препаратам (АМП), наличию генов вирулентности, определяющих патогенетические особенности заболеваний человека. Реализация патогенного потенциала и способность вызывать патологические изменения в организме человека ограничены генетическими детерминантами вирулентности конкретного штамма [1].

Острые кишечные инфекции (ОКИ), обусловленные «диареогенными» *E. coli* (DEC), характеризуются поражением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), развитием диарейного синдрома, интоксикации и в некоторых случаях – генерализации патологического процесса. DEC отличаются от непатогенных штаммов (представителей микробиоты кишечника) наличием конкретных генов вирулентности, особенностями патогенеза и клинико-эпидемиологических проявлений вызываемых ими заболеваний [2]. DEC в соответствии с детерминантами вирулентности классифицируют на патогенные группы (патогруппы). В настоящее время различают шесть патогрупп: EPEC (энтеропатогенные); ETEC (энтеротоксигенные); EIEC (энтероинвазивные); STEC/ЕНЕС (шигатоксинпродуцирующие/энтерогеморрагические); EAEC (энтероагрегативные); DAEC (диффузно-адгерентные) [3, 4]. Штаммы каждой патогруппы характеризуются конкретными патогенетическими механизмами, обеспечивающими развитие воспалительного процесса в разных отделах желудочно-кишечного тракта человека, клинически проявляющегося диарейным синдромом [5].

Активный обмен генетической информацией обеспечивает естественное появление штаммов, обладающих наборами генов вирулентности, характерными для штаммов разных патотипов и патогрупп [6, 7]. Ярким примером является штамм сероварианта O104:H4, который относится к «гибридной» патогруппе «энтероагрегативных шигатоксинпродуцирующих *E. coli*». Возбудитель с такой характеристикой был причиной крупной пищевой вспышки ОКИ в Германии в 2011 г., в которую были вовлечены жители 15 стран [8, 9]. Дальнейшие целенаправленные международные научные исследования показали, что такие штаммы встречаются чаще, чем предполагалось ранее. Поэтому термины «гибридный или гетерогенный штамм *E. coli*» используют для характеристики возбудителя с комбинациями генов/факторов вирулентности, выявленных в штаммах «классических» патогрупп DEC [10-12].

В свете увеличения числа случаев инфекций, вызванных резистентными штаммами микроорганизмов, необходимость исследований штаммов с гетеропатогенным потенциалом приобретает особое значение [13].

Цель работы: представить клинический случай развития гемолитико-уремического синдрома, развившегося у пациента, для привлечения внимания медицинского сообщества (инфекционистов, педиатров, эпидемиологов, медицинских микробиологов) к проблеме современной лабораторной диагностики возбудителей диарейных заболеваний, способных к широкому эпидемическому распространению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В статье описан клинический случай острого энтероколита (гемоколита), вызванного штаммом *E. coli*, содержавшим гены вирулентности двух патогрупп – EAEC и STEC. Диагноз ОКИ был поставлен по результатам клинических критериев и лабораторных исследований, основанных на культуральных и молекулярно-генетических методах. Проанализированы данные научной литературы, посвященные проблеме острых кишечных инфекций, вызванных штаммами DEC. Использовали базы PubMed, Elsevier, Wiley и e-library (на август 2025 г.). Поиск информации осуществляли с помощью следующих ключевых слов: диареогенные *E. coli*, гемоколит, гемолитико-уремический синдром, резистентность к антибиотикам.

Описание клинического случая

Пациентка, 27 лет, заболела остро на второй день после возвращения из отпуска. На 3-й день болезни госпитализирована в инфекционный стационар в тяжелом состоянии с жалобами на слабость, сильные спастические боли в животе, частую дефекацию с примесью крови, субфебрильную температуру (37,3 °C). Из анамнеза известно, что пациентка проводила отдых в Турции, купалась в открытом бассейне. Покупала свежевыжатые соки на рынке, пила не бутилированную воду в отеле. Обедала в ресторанах, предпочитала слабо прожаренное мясо и рыбу слабого соления.

Объективно: нарастание выраженности клинических симптомов.

Лабораторные показатели анализа крови свидетельствовали о развитии гемолитико-уремического синдрома на фоне острой кишечной инфекции: отмечался лейкоцитоз – $11,98 \times 10^9/\text{л}$ ($N - 4,0-11,3 \times 10^9$) с нейтрофильным сдвигом до 75%; снижение эритроцитов – до $2,28 \times 10^{12}/\text{л}$ ($N - 3,91-5,31$); падение уровня гемоглобина в динамике – до 143-108-95-81 г/л ($N - 117-147$) в течение четырех дней; тромбоцитопения – $259-35-78 \times 10^9/\text{л}$ ($N - 150-400$); нарастание креатинина – до 192,6 мкмоль/л ($N - 44-80$) и мочевины – до

10,7 ммоль/л (N – 2,14-7,14); значительное повышение лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – до 792 ед/л (N – 195-450). Копрограмма при поступлении в стационар: лейкоциты – 10-15 в поле зрения (п/зр.); эритроциты – 20-25 в п/зр. Анализ мочи: повышение белка – до 5,429 г/л (N – 0-0,1); эритроциты – 5-10 в п/зрения (N – 0-2).

Диагноз: острый энтероколит, вызванный патогенной энтерогеморрагической *E. coli*, средней степени тяжести. Осложнение: признаки тромботической микроангиопатии. Гемолитико-уремический синдром. Код по МКБ10: «инфекция, вызванная энтерогеморрагической *Escherichia coli*» поставлен на основании клинических признаков болезни, анамнестических данных и результатов бактериологического исследования проб испражнений.

Пациентке была назначена терапия основного заболевания согласно принятым стандартам лечения инфекционных болезней кишечника: комплексная многокомпонентная антибиотикотерапия в течение 8 дней (цефтриаксон – внутривенно (в/в) 2,0/сутки; ципрофлоксацин внутримышечно (в/м) – 0,5х2/сутки, нифуроксамид – 0,2х4/сутки), противовоспалительная, патогенетическая, симптоматическая терапия, а также плазмаферез. Выписана из стационара на 16 день болезни в удовлетворительном состоянии.

Культуральным методом в бактериологической лаборатории стационара были выделены лактозоположительные изоляты. Видовую идентификацию проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии. При изучении методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с набором реагентов «Эшерихиозы – FL.» отмечено два положительных сигнала, свидетельствовавшие о наличии в каждом изоляте ДНК двух патогрупп – EAgEC и STEC.

Гибридный штамм EAgEC/STEC характеризовался чувствительностью к аминогликозидам (амикацину, гентамицину, тобромицину), фосфомицину, нитрофурантоину, триметоприм/сульфаметоксазолу, хлорамфениколу, меропенему и амоксициллин/клавулоновой кислоте (Стандарт интерпретации MIC EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), 2024). Резистентность выявлена к бета-лактамам антибиотикам (ампициллину, амоксициллину, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму), фторхинолонам (ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину). Штамм не лизировался бактериофагами «интести», «колипротейный» и «пиобактериофаг комплексный» (Микроген, Россия).

В микробиологическом отделе ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера было продолжено изучение гибридного штамма EAgEC/STEC. Проведено полногеномное шот-ган секвенирование с последующим биоинформатическим анализом, включающим детекцию серологического варианта, генетических детерминант вирулентности и резистентности

к антибиотикам.

Серологическую группу штамма не удалось идентифицировать ни в реакции агглютинации с отечественными сыворотками, ни при проведении секвенирования с помощью наиболее часто используемых для этих целей программ «SerotypeFinder» и «ECTyper». В геноме штамма не был обнаружен кластер генов известных O-антигенов [14]. Н-антиген штамма *E.coli* соответствовал группе H4. Чтобы исключить техническую ошибку дополнительно подтвердили этот результат на трёх геномных сборках, полученных по результатам секвенирования трёх независимых клонов штамма.

В штамме выявлены гены *stxA2c* и *stxB2a*, ответственные за продукцию токсина, что подтверждает принадлежность штамма к патогруппе шигатоксин-продуцирующих *E. coli* (STEC) [15, 16]. Кроме того, обнаружены гены вирулентности, характерные для патогруппы EAgEC (энтероагрегативных): ген *agg3ABCD* – оперон синтеза агрегативных фимбрий (AAF) и ген *aggR*, кодирующий транскрипционный регулятор, контролирующий экспрессию генов, отвечающих за прикрепление и агрегацию энтероагрегативных *E. coli* к слизистой оболочке кишечника. Ген *aggR* является ключевым регулятором факторов адгезии и агрегации на поверхности эпителиальных клеток кишечника, которые необходимы для колонизации кишечника [17].

Молекулярными методами были выявлены генетические детерминанты, обуславливающие резистентность к АМП, подтверждающие результаты фенотипического метода. Установлено, что резистентность к бета-лактамам антибиотикам (ампициллину, амоксициллину, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму) вызвана продукцией бета-лактамаз расширенного спектра CTX-15 класса A, кодируемых генами *blaCTX-M-15* и *blaEC*. Резистентность к фторхинолонам (ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину) ассоциирована с наличием гена *qnrS*.

ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении всей истории развития медицинской микробиологии *E. coli* привлекали внимание ученых и специалистов. Во многом интерес к ним связан с тем, что их выделение не представляет сложностей, составляет значительную часть постоянных рутинных микробиологических исследований в лабораториях, решающих практические задачи медицинской микробиологии. Однако интерпретация результатов исследований и оценка патогенного потенциала штаммов *E. coli* как возбудителя инфекционных заболеваний до последнего времени остается сложной задачей.

Для выделения *E. coli*, вызывающих широкий спектр заболеваний, разработаны тесты, питательные

среды (элективные, селективные, дифференциально-диагностические, включая хромогенные). В настоящее время выделение и идентификация штаммов *E. coli* не является трудной задачей. Сложность состоит в дифференциации эшерихий как представителей нормобиоты кишечника от возбудителей ОКИ и требует применения дополнительных методов детекции факторов/генов вирулентности, способных вызвать патологический процесс. Такие методы пока не вошли в рутинную практику лабораторного обследования пациентов.

Энтероагрегативные и шигатоксинпродуцирующие *E. coli* традиционно рассматривались отдельно друг от друга. Однако в 2011 г. впервые были зарегистрированы случаи одновременного присутствия обоих типов в одном бактериальном штамме, формируя так называемый гибридный фенотип. Эти штаммы обладают характеристиками как EAgEC, так и STEC, сочетая в себе два механизма патогенеза: продукцию цитотоксичных веществ (шигатоксинов) и уникальную форму колонизации эпителия кишечника, известную как «stacked-brick-like» («кирпично-стопочная адгезия») [18-20]. Такие гибриды становятся серьезной проблемой здравоохранения ввиду повышенной патогенности и риска возникновения серьезных клинических проявлений, таких как геморрагический колит и гемолитико-уремический синдром [21]. Важно отметить, что традиционные методы лабораторной диагностики зачастую ориентированы на отдельные патогруппы *E. coli*, и идентификация гибридных штаммов представляет особую сложность, поскольку требует специальных методик и высокочувствительных инструментов анализа [22].

Информация о генах резистентности к антибиотикам в настоящее время востребована как важный инструмент для эпидемиологических исследований при оценке общего пула генов резистентности в популяции патогенных *E. coli* и слежения за появлением

новых клинически значимых фенотипов резистентности [23]. Материалы, представленные в данной статье, свидетельствуют о том, что информация о генах вирулентности также имеет важное значение в клинической практике врачей-инфекционистов для обоснования тактики лечения пациентов и снижения риска развития жизнеугрожающих осложнений, таких как гемолитико-уремический синдром и почечная недостаточность [24]. В этой связи характеристика штаммов диареогенных *E. coli* на основе современных молекулярно-генетических технологий позволяет своевременно оценить клиническую и эпидемиологическую значимость выделенного от пациента возбудителя для разработки персонализированных терапевтических стратегий и проведения целенаправленных профилактических и противоэпидемических мероприятий [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, данные полногеномного секвенирования гибридного штамма EAgEC/STEC, выделенного от пациента с острым энтероколитом, осложненным гемолитико-уремическим синдромом, свидетельствуют, что традиционные культуральные методы изучения штаммов *E. coli*, включая определение чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, подходят только для фенотипической характеристики выделенного изолята. В виду этого одним из перспективных направлений в детекции новых или с измененными свойствами штаммов DEC у пациентов с диарейным синдромом, а также в изучении механизмов резистентности к антибиотикам становится применение современных генетических методик. Использование дополнительных методов позволит получить информацию, необходимую клиницисту для принятия решения о назначении адекватной этиотропной терапии пациентам с ОКИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mare A., Man A., Ciurea C.N., et al. Serogroups and genetic diversity of diarrheagenic strains of *Escherichia coli*: a retrospective study. J. Infect. Dev. Ctries. 2022; 16 (5): 827-834. doi: 10.3855/jidc.15703
2. Mueller M., Tainter CR. *Escherichia coli* infection. 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. PMID: 33231968.
3. Gomes T.A., Elias W.P., Scaletsky I.C., et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Braz. J. Microbiol. 2016; 47 (Suppl 1): 3-30. doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.015
4. Jesser K.J., Levy K. Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. Curr. Opin. Infect. Dis. 2020; 33 (5): 372-380. doi: 10.1097/QCO.0000000000000665
5. Bendary M.M., Abd El-Hamid M.I., Alhomrani M., et al. What is behind the correlation analysis of diarrheagenic *E. coli* pathotypes? Biology (Basel). 2022; 11 (7):1004. doi: 10.3390/biology11071004
6. Singh P., Metgud S.C., Roy S., Purwar S. Evolution of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes in India. J. Lab. Physicians. 2019; 11 (4): 346-351. doi: 10.4103/JLP.JLP_58_19
7. Pas C., Latka A., Fieseler J., Briers Y. Phage tailspike modularity and horizontal gene transfer reveals specificity towards *E. coli* O-antigen serogroups. Virol. J. 2023; 20 (1):174. doi: 10.1186/s12985-023-02138-4
8. Chattaway M.A., Dallman T., Okeke I.N., Wain J. Enterotoxigenic *E. coli* O104 from an outbreak of HUS in Germany 2011, could it happen again? J. Infect. Dev. Ctries. 2011; 5 (6): 425-36. doi: 10.3855/jidc.2166

9. Navarro-Garcia F. *Escherichia coli* O104:H4 pathogenesis: an enteroaggregative *E. coli*/Shiga toxin-producing *E. coli* explosive cocktail of high virulence. Microbiol. Spectr. 2014; 2 (6). doi: 10.1128/microbiolspec.EHEC-0008-2013
10. Coipan C.E., Friesema I.H., van den Beld M.J.C., et al. Sporadic occurrence of enteroaggregative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 similar to 2011 outbreak strain. Emerg. Infect. Dis. 2022; 28 (9): 1890-1894. doi:10.3201/eid2809.220037
11. Lang C., Fruth A., Campbell I.W., et al. O-antigen diversification masks identification of highly pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4-like strains. Microbiol. Spectr. 2023; 11 (3): e0098723. doi: 10.1128/spectrum.00987-23
12. Santos A.C.M., Santos F.F., Silva R.M., Gomes T.A.T. Diversity of hybrid- and hetero-pathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases. Front. Cell Infect. Microbiol. 2020; 10: 339. doi:10.3389/fcimb.2020.00339
13. Ahmed H.A., Elsohaby I., Elamin A.M., et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* from retail meat and workers: genetic diversity, virulotyping, pathotyping and the antimicrobial effect of silver nanoparticles. BMC Microbiol. 2023; 23 (1): 212. doi: 10.1186/s12866-023-02948-0
14. Bendary M.M., Abdel-Hamid M.I., Alshareef W.A., et al. Comparative analysis of human and animal *E. coli*: serotyping, antimicrobial resistance, and virulence gene profiling. Antibiotics (Basel). 2022; 11 (5): 552. doi: 10.3390/antibiotics11050552
15. Bowen E.E., Hurcombe J.A., Barrington F., et al. Shiga toxin targets the podocyte causing hemolytic uremic syndrome through endothelial complement activation. Med. 2023; 4 (11): 761-777.e8. doi: 10.1016/j.medj.2023.09.002
16. McMahon T., Clarke S., Deschênes M., et al. Real-time PCR primers and probes for the detection of Shiga toxin genes, including novel subtypes. Int. J. Food Microbiol. 2024; 419: 110744. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110744
17. Prieto A., Bernabeu M., Sánchez-Herrero J.F., et al. Modulation of AggR levels reveals features of virulence regulation in enteroaggregative *E. coli*. Commun Biol. 2021; 4 (1): 1295. doi: 10.1038/s42003-021-02820-9
18. Rausch-Phung E.A., Nguyen A.D., Aziz M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. 2025. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. PMID: 30137794
19. Joseph A., Cointe A., Mariani Kurkdjian P., et al. Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: a narrative review. toxins (Basel). 2020; 12 (2): 67. doi: 10.3390/toxins12020067
20. Boisen N., Østerlund M.T., Joensen K.G., et al. Redefining enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC): Genomic characterization of epidemiological EAEC strains. PLoS Negl. Trop. Dis. 2020; 14 (9): e0008613. doi:10.1371/journal.pntd.0008613
21. Liu Y., Thaker H., Wang C., et al. Diagnosis and treatment for Shiga toxin-producing *Escherichia coli* associated hemolytic uremic syndrome. Toxins (Basel). 2022; 15 (1): 10. doi: 10.3390/toxins15010010
22. Ohmura-Hoshino M., Miyaki Y., Yashima S. A one-step multiplex PCR-based assay for simultaneous detection and classification of virulence factors to identify five diarrheagenic *E. coli* pathotypes. Heliyon. 2022; 8 (8): e10231. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10231
23. Umscheid J.H., Nevil C., Vasudeva R., et al. Treatment of Shiga-toxin hus with severe neurologic features with eculizumab. Case Rep. Pediatr. 2021; 2021: 8053246. doi: 10.1155/2021/8053246
24. Loos S., Oh J., van de Loo L., et al. Hemoconcentration and predictors in Shiga toxin-producing *E. coli*-hemolytic uremic syndrome (STEC-HUS). Pediatr. Nephrol. 2021; 36 (11): 3777-3783. doi: 10.1007/s00467-021-05108-6
25. Макарова М.А. Современное представление о диареогенных *Escherichia coli* – возбудителях острых кишечных инфекций. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023; 100 (4): 333-344. [Makarova M.A. modern view of diarrheagenic *Escherichia coli* — a causative agent of acute intestinal infections. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2023; 100 (4): 333-344. (In Russ.)]. doi: 10.36233/0372-9311-410

Поступила в редакцию журнала 13.10.25

Принята к печати 16.10.25



Для цитирования: Бондарева Е.А., Евстропов А.Н., Мадонов П.Г., Захарова Л.Н., Бурова Л.Г., Кретъен С.О., Иващенко А.Е., Солдатова М.С., Ярославцев Д.В., Любушкина Е.М. Новый синтетический пептид КАМП-1 и его антимикробные свойства. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 54-61. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-54-61

For citation: Bondareva E.A., Evstropov A.N., Madonov P.G., Zakharova L.N., Burova L.G., Cretien S.O., Ivashenko A.E., Soldatova M.S., Yaroslavtsev D.V., Lyubushkina E.M. New synthetic peptide CAMP-1 and its antimicrobial properties. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 54-61. (In Russ). doi:10.24412/1999-6780-2025-3-54-61

НОВЫЙ СИНТЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД КАМП-1 И ЕГО АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА

^{1,2}Бондарева Е.А. (ассистент, аспирант, м.н.с.)*, ¹Евстропов А.Н. (зав. кафедрой), ^{1,2}Мадонов П.Г. (зав. кафедрой, зав. лаб.), ¹Захарова Л.Н. (доцент), ¹Бурова Л.Г. (доцент), ³Кретъен С.О. (зав. лаб.), ³Иващенко А.Е. (врач-клинический фармаколог), ²Солдатова М.С. (м.н.с.), ²Ярославцев Д.В. (м.н.с.), ²Любушкина Е.М. (м.н.с.)

¹Новосибирский государственный медицинский университет; ²Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики; ³Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск, Россия

Проблема создания новых эффективных средств для борьбы с лекарственно устойчивыми штаммами представителей патогенной и условно-патогенной микробиоты была и остается актуальной. В связи с этим заслуживает внимания перспектива применения антимикробных пептидов (АМП) и их синтетических аналогов ввиду широкого спектра и скорости их антимикробного действия, а также разнообразия источников для производства АМП в промышленных масштабах.

В статье приведены результаты оценки *in vitro* антибактериального и антимикотического действия вновь синтезированного короткого антимикробного пептида (КАМП-1) на коллекционные и оригинальные клинические штаммы ряда патогенных и условно-патогенных бактерий и грибов рода *Candida*. Приобретенная устойчивость клинических штаммов к антибиотикам не защищала их от повреждающего действия КАМП-1. Пептидомиметик препятствовал образованию экспериментальной биопленки и проявлял способность разрушать зрелую биопленку, образованную *Staphylococcus aureus*. Полученные данные свидетельствуют о перспективности КАМП-1 в качестве эффективной антимикробной основы для создания препаратов с его содержанием.

Ключевые слова: антимикробный пептид, множественная лекарственная устойчивость, возбудители внутрибольничных инфекций

NEW SYNTHETIC PEPTIDE CAMP-1 AND ITS ANTIMICROBIAL PROPERTIES

^{1,2}Bondareva E.A. (assistant, postgraduate student, junior scientific researcher), ¹Evstropov A.N. (head of the department), ^{1,2}Madonov P.G. (head of the department, head of the laboratories), ¹Zakharova L.N. (associate professor), ¹Burova L.G. (associate professor), ³Cretien S.O. (head of the laboratory), ³Ivashenko A.E. (clinical pharmacologist), ²Soldatova M.S. (junior scientific researcher), ²Yaroslavtsev D.V. (junior scientific researcher), ²Lyubushkina E.M. (junior scientific researcher)

¹Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; ²Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics; ³Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia

The problem of creating new effective means to combat drug-resistant strains of representatives of pathogenic and opportunistic microbiota has been and remains relevant. In this regard, the prospect of using antimicrobial peptides (AMP) and their synthetic analogues deserves attention due to the wide range and speed of their antimicrobial action, as well as the variety of sources for the production of AMP on an industrial scale.

The results of *in vitro* evaluation of the antibacterial and antimycotic effect of the newly synthesized short antimicrobial peptide (SAMP-1) on collectible and original clinical strains of a number of pathogenic and opportunistic bacteria and fungi of the genus *Candida* are presented in the article. The acquired resistance of clinical strains to antibiotics did not protect them from damaging effects of SAMP-1. The peptidomimetic inhibited the formation of experimental biofilm and exhibited the ability to degrade mature biofilm formed by *Staphylococcus aureus*. The data obtained indicate the promise of SAMP-1 as an effective antimicrobial basis for the creation of drugs with its content.

Key words: antimicrobial peptide, multidrug resistance, pathogens of nosocomial infections

* Контактное лицо: Бондарева Елена Александровна,
e-mail: elena.bondarewa@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Чувствительность инфекционных агентов к традиционным антимикробным лекарственным средствам неуклонно снижается. Во многом это связано с тем, что антибактериальные и противогрибковые препараты широко и не всегда обоснованно используются не только в медицине. Антибиотики нашли свое применение в животноводстве, пищевой, аграрной промышленности, косметологии и др. Это привело к адаптации патогенных микроорганизмов к существующим лекарственным средствам и возникновению антибиотикоустойчивых штаммов, которые наносят значительный ущерб здоровью населения и экономике стран во всем мире [1].

Большую проблему для здравоохранения представляют инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. Нозокомиальные инфекции пролонгируют время госпитализации пациентов, вследствие чего увеличиваются финансовые затраты на их лечение и пребывание в медицинском учреждении [6]. Основными возбудителями бактериальных внутрибольничных инфекций (ВБИ) в последние пятнадцать лет являются *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. и *Escherichia coli*, получившие обозначение ESKAPE-E [2]. Среди представителей данных видов значительную часть составляют штаммы, в том числе госпитальные, обладающие множественной лекарственной устойчивостью. Ввиду того, что микроорганизмы ESKAPE-E потеряли чувствительность ко многим антибиотикам, представленным на фармацевтическом рынке, у больных с различной патологией могут развиваться инфекционные осложнения даже на фоне приема антибиотиков широкого спектра действия [4, 5].

В результате продолжительной антибиотикотерапии нередко возникает дисбаланс в составе нормальной микробиоты, что приводит к активации представителей условно-патогенной микробиоты и возникновению инфекционного процесса эндогенной природы (антибиотико-ассоциированная диарея и псевдомембранозный колит, вызванные *Clostridioides difficile*; осложнения, вызванные энтеробактериями; эндогенные микозы).

Согласно данным международного фонда повышения осведомленности о грибковых заболеваниях GAFFI (Global Action for Fungal Infection), ежегодно более 3500 смертей приходится на оппортунистические микозы. Наиболее распространенным патогеном является *Candida albicans*, для которого характерен диморфизм, связанный с возможностью вирулентных штаммов переходить из дрожжеподобной в гифальную форму с высокой инвазивной и протеолитиче-

ской активностью, что оказывает повреждающее действие на ткани организма хозяина. Также нередко кандидоз вызывают такие виды, как *Nakaseomyces glabratus* (ранее – *C. glabrata*), *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Pichia kudriavzevii* (ранее – *C. krusei*) и другие [7-9].

Проблема преодоления антибиотикорезистентности обозначена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как первостепенная задача, требующая срочных решений [3]. В связи с этим в последнее десятилетие появились исследования, направленные на поиск новых противомикробных агентов различной природы и механизмов действия (бактериофаги, бактериоцины, антимикробные пептиды, иммуноглобулины и др.). Интенсивно ведутся экспериментальные работы по тестированию антимикробной активности веществ природного происхождения, модификации известных антибиотиков, синтезу новых групп соединений. В их число входят и антимикробные пептиды (АМП).

АМП представляют собой продукт естественной эволюции, так как являются неотъемлемой частью врожденного иммунитета у большинства живых существ. АМП и их синтетические аналоги (пептидомиметики) вызывают интерес как альтернативные вещества с присущими им свойствами, которыми не обладает ни один антибиотик. До настоящего времени не найден универсальный механизм действия АМП, поскольку каждая молекула имеет свой уникальный способ взаимодействия с живой системой, обусловленный физико-химической, структурной, электростатической характеристикой пептида, а также особенностями мембраны клетки-мишени. АМП обладают широким спектром действия и высокой скоростью достижения антимикробного, иммуномодулирующего, ангиогенного, противовоспалительного эффекта. Некоторые из них могут уничтожить микроорганизм через несколько секунд после первоначального контакта с клеткой [10-15]. Также известно, что АМП усиливают активность антибиотиков за счет синергетического эффекта [12, 13]. Примечательно, что пептиды, полученные путем искусственного синтеза, по своей биологической активности не уступают природным прототипам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом настоящего исследования был пептидомиметик КАМП-1 (короткий антимикробный пептид – 1), полученный путем многостадийного химического пептидного синтеза в растворе в лаборатории фармакологически активных соединений Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии филиала ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН.

КАМП-1 представляет собой короткий катионный пептид, содержащий две гуанидиновые группы, триптофан и бензильную группу [16, 17] (Рис. 1).

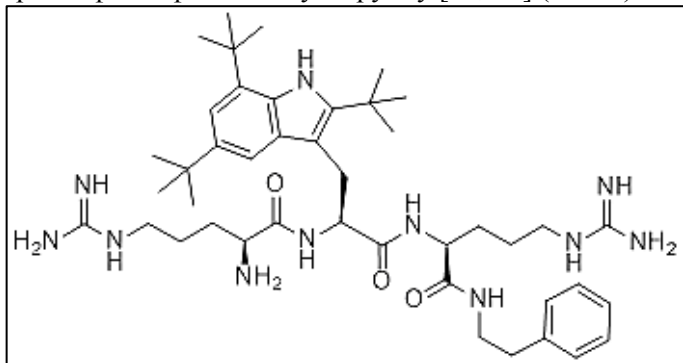


Рис. 1. Молекула КАМП-1.

Соединение обладает амфифильностью и при физиологических значениях pH среды несет положительный заряд, не чувствителен к протеолитическому расщеплению за счет размеров молекулы в 0,8 кДа и проявляет антимикробные эффекты в соответствии с моделью тороидальной поры [16, 17].

Для определения антибактериальной и противогрибковой активности пептидомиметика КАМП-1 использовали следующие тест-культуры: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 FDA 209P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* NCTC 885-653, полученные из государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», а также клинически значимые штаммы *Staphylococcus aureus* 2041 MRSA+ (метициллин-резистентные *S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* 2114 MRS+, *Escherichia coli* 527, *Escherichia coli* 1981 карбапенем-R, *Pseudomonas aeruginosa* 2096, *Enterobacter cloacae* 2116, *Enterococcus faecium* 12m Van-R, *Acinetobacter baumannii* 2088, полученные из коллекции ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна»; *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Nakaseomyces glabratus*, *Candida parapsilosis*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida tropicalis* – из музея кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Новосибирского государственного медицинского университета.

В связи с тем, что осуществлялся первичный скрининг антимикробной активности синтезированного пептидомиметика КАМП-1 к разнообразному спектру патогенов, обладающих вариативностью чувствительности к разным видам антибактериальных и антимикотических веществ, перед нами не стояла задача в сравнении противомикробных эффектов между КАМП-1 и препаратами контроля. Данный

этап, несомненно, важен при внедрении пептидомиметика в клиническую практику.

Антимикробное действие КАМП-1 изучали методом серийных разведений в жидких питательных средах: бульоне Мюллера-Хинтона – для бактерий и сахарном бульоне – для грибов с определением минимальной ингибирующей концентрации (МИК), полностью подавлявшей рост тест-культуры, выраженной в мкг/мл. Из 1-суточной культуры бактерий или 2-суточной культуры грибов готовили взвесь, которая соответствовала 0,5 единицам по McFarland, измеренной на денситометре «Den-1 & Den-1B» («Biosan», Рига), затем разводили до 1×10^4 /мл – для бактерий и до 1×10^6 /мл – для грибов, вносили в объеме 0,1 мл во флаконы с различными концентрациями КАМП-1 (количество жизнеспособных микробов в инокулюме определяли высевом на плотную питательную среду и выражали в КОЕ/мл). Культивирование флаконов с общим объемом 1 мл, содержащих КАМП-1 и тест-культуру микроба, проводили в течение 20-24 часов при температуре +37 °C – для бактерий и 48 часов при +35°C – для грибов. Отсутствие признаков роста в жидкой среде контролировали путем посева на агар Мюллера-Хинтона или агар Сабуро соответственно. В качестве контроля использовали жидкую питательную среду с тест-микробом без КАМП-1 [18].

Способность КАМП-1 препятствовать пленкообразованию изучали на фрагментах интубационной поливинилхлоридной (ПВХ) трубки площадью $0,97 \pm 0,03$ см², погруженных в жидкую питательную среду с различными концентрациями исследуемого вещества. Далее вносили взвесь тест-культур *S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P или *E. coli* ATCC 25922. Через 20-24 часа инкубирования в стандартных условиях фрагмент интубационной трубки промывали в стерильном физиологическом растворе, помещали в раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и выдерживали 10 минут при температуре +37 °C, затем подвергали встряхиванию в течение 1 минуты на аппарате «Vortex» с целью открепления и освобождения бактериальных клеток из биопленки. Далее осуществляли высев раствора на плотную питательную среду для определения МИК пептидомиметика.

Для выявления способности КАМП-1 влиять на сформированную биопленку различной степени зрелости фрагменты интубационной ПВХ трубки помещали в бульон Мюллера-Хинтона, вносили *S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P и инкубировали при +37°C. Через 24, 48 и 72 часа извлекали фрагмент трубки, промывали в стерильном физиологическом растворе и помещали в подготовленный раствор КАМП-1 разной концентрации в жидкой питательной среде и вновь инкубировали в течение 20-24 часов при +37 °C (контрольные фрагменты трубки не

подвергали воздействию исследуемого вещества). Затем фрагменты обрабатывали описанным выше способом и проводили высеив раствора ЭДТА на плотную питательную среду для определения МИК пептидомиметика.

Каждую серию экспериментов выполняли не менее шести раз ($n \geq 6$). Результаты представлены как значения средней величины и ее стандартной ошибки ($M \pm SEM$). Все пары выборок были оценены с использованием t-критерия Стьюдента. Нормальность распределения показателей оценивали тестом Шапиро-Уилка. Уровень $p < 0,1$ определял статистически значимые различия между сравниваемыми выборками.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

При первичной оценке антимикробного действия КАМП-1 выявили, что все виды тестируемых штаммов бактерий в разной степени были чувствительны к данному пептидомиметику в экспериментах *in vitro*. Наибольшей чувствительностью к соединению обладали грамположительные бактерии (табл. 1). В этой группе микроорганизмов значения МИК варьировали от $2,73 \pm 0,39$ мкг/мл (*E. faecium* 12mVan-R) до $6,67 \pm 1,67$ мкг/мл (*S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P). Исключение составил штамм *E. cloacae* 2116, для которого МИК была равна $21,92 \pm 6,4$ мкг/мл.

Таблица 1

Значения минимальной ингибирующей концентрации КАМП-1 в отношении исследуемых штаммов бактерий

Тест-культура	Инокулюм (КОЕ/0,1 мл)	МИК (мкг/мл)
<i>S. aureus</i> ATCC 6538 FDA 209P	$(5,44 \pm 0,90) \times 10^3$	$6,25 \pm 0,80$
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	$(5,88 \pm 0,70) \times 10^3$	$6,50 \pm 0,70$
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$(5,87 \pm 0,51) \times 10^3$	$7,00 \pm 0,76$
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	$(6,37 \pm 0,76) \times 10^3$	$47,29 \pm 4,90$
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	$(6,17 \pm 0,45) \times 10^3$	$5,33 \pm 0,24$
<i>S. aureus</i> 2041 MRSA+	$(6,39 \pm 0,50) \times 10^3$	$5,64 \pm 0,38$
<i>S. epidermidis</i> 2114 MRS+	$(6,29 \pm 0,37) \times 10^3$	$3,31 \pm 0,25$
<i>K. pneumoniae</i> 2069	$(6,61 \pm 0,70) \times 10^3$	$4,09 \pm 0,74$
<i>E. coli</i> 1981 карбапенем-R	$(6,46 \pm 0,32) \times 10^3$	$35,85 \pm 4,76$
<i>P. aeruginosa</i> 2096	$(5,84 \pm 0,41) \times 10^3$	$20,02 \pm 3,06$
<i>E. cloacae</i> 2116	$(6,39 \pm 0,87) \times 10^3$	$21,92 \pm 3,40$
<i>E. faecium</i> 12m Van-R	$(6,73 \pm 0,28) \times 10^3$	$3,03 \pm 0,33$
<i>A. baumannii</i> 2088	$(6,41 \pm 0,49) \times 10^3$	$7,21 \pm 0,55$

В группу со средними показателями чувствительности вошли штаммы *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* 2069 и *A. baumannii* 2088 (МИК= $7,00 \pm 0,76$, $4,09 \pm 0,74$ мкг/мл и $7,21 \pm 0,55$ мкг/мл соответственно). Несмотря на высокие значения МИК, КАМП-1 проявил также антимикробную активность в отношении антибиотико-резистентного

штамма *E. coli* 1981 карбапенем-R (МИК= $35,85 \pm 4,76$ мкг/мл) и *P. aeruginosa* ATCC 9027 ($47,29 \pm 4,90$ мкг/мл).

Поскольку бактерии, входящие в группу ESKAPE-E, характеризуются высокой устойчивостью в отношении современных антибактериальных препаратов [2, 4, 5], представляется важным сравнить эффективность КАМП-1 относительно референсных (музейных) и клинических штаммов одного и того же вида микробов. Множественная лекарственная устойчивость клинических изолятов была подтверждена в бактериологической лаборатории ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» методом диско-диффузии, на планшетах системы «Sensititre» и стрип-полосками «ErbaLachema».

Установлено, что чувствительность к КАМП-1 клинических и референсных штаммов существенно различалась. При этом лекарственная устойчивость клинических изолятов к официальным антибактериальным препаратам отличалась от их чувствительности к пептидомиметику. Более того, в ряде случаев рост резистентных штаммов КАМП-1 подавлял в концентрациях значительно меньших, чем требовалось для ингибирования музейных бактерий. Так, МИК пептидомиметика в отношении *P. aeruginosa* 2096, выделенной от пациента, находившегося на стационарном лечении, составила $20,02 \pm 3,06$ мкг/мл, а МИК КАМП-1 относительно *P. aeruginosa* ATCC 9027 была равна $47,29 \pm 4,90$ мкг/мл (Рис. 2). Аналогичную зависимость наблюдали и со *S. aureus*: для метициллин-резистентного штамма *S. aureus* 2041 значение МИК составило $5,64 \pm 0,38$ мкг/мл, тогда как для референсного штамма *S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P – $6,25 \pm 0,80$ мкг/мл. Различия статистически значимы при $p < 0,1$.

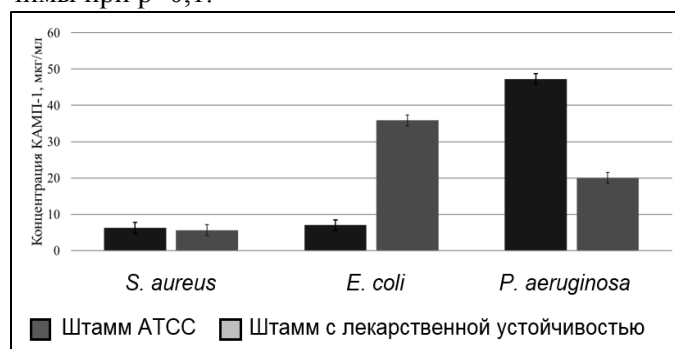


Рис. 2. Сравнение МИК КАМП-1 для клинических и музейных штаммов.

Иным был результат воздействия пептидомиметика на *E. coli*. Карбапенем-резистентный штамм *E. coli* 1981 проявил более высокую устойчивость к КАМП-1 (МИК= $35,85 \pm 4,76$ мкг/мл) по сравнению с музейным штаммом *E. coli* ATCC 25922 (МИК= $7,00 \pm 0,76$ мкг/мл).

При количественной оценке различий между штаммами при уровне значимости $p<0,1$ статистически достоверные различия были установлены в большинстве сравниваемых пар, в том числе между представителями грамположительной и грамотрицательной микробиоты, наибольшие – между *P. aeruginosa* ATCC 9027 и другими штаммами.

Влияние КАМП-1 на бактериальную биопленку. Более трети взрослого населения планеты является носителями золотистого стафилококка, известного своей способностью к коагрегации и пленкообразованию, что значительно увеличивает вероятность формирования устойчивости и изменчивости бактерий данного вида [19]. Сами же пациенты-носители входят в группу риска постантибиотических осложнений, так как более подвержены развитию стафилококкового сепсиса или бактериемии [20, 21].

Образование биопленки считается одним из факторов, обуславливающих осложнения при инвазивных методах лечения и протезирования. В составе биопленки бактерии эффективней адаптируются к некоторым антимикробным средствам и формируют устойчивость, что может приводить к хронизации инфекционного процесса. Среди существующих противомикробных препаратов лишь немногие способны препятствовать образованию или разрушать уже сформированные бактериальные биопленки [19-21].

В связи с этим нами была изучена способность КАМП-1 влиять на экспериментальную биопленку, образованную *S. aureus* ATCC 6538 и *E. coli* ATCC 25922.

Установлено, что сравнительно небольшая концентрация КАМП-1 ($МИК=13,57\pm3,03$ мкг/мл) подавляла процесс пленкообразования *S. aureus*. Однако она почти в два раза выше, чем МИК в отношении планктонных бактериальных клеток, что в очередной раз подтверждает хорошую защищенность бактерий в составе биопленки. Близкая по значению МИК установлена и для *E. coli*, образовавшей биопленку ($МИК=13,34\pm3,07$ мг/л).

КАМП-1 продемонстрировал также способность подавлять размножение бактерий в уже сформированной биопленке. Такой эффект, несомненно, важен при инвазивных вмешательствах: протезировании, катетеризации, длительной интубации, когда возрастает риск микробной контаминации и пленкообразования. Пептидомиметик оказывал статистически значимое подавление размножения стафилококка всеми использованными концентрациями соединения в биопленке различной степени зрелости (табл. 2). При этом прослеживалась прямая зависимость между степенью зрелости биопленки и дозой вещества для подавления стафилококка: чем старше была сформированная биопленка, тем большую численность бактерий она содержала, и тем большая концентрация

пептидомиметика требовалась для их уничтожения. Отметим, что КАМП-1 в дозе 100 мкг/мл обладал бактерицидным действием, полностью подавляя тест-микроб. Аналогичное действие оказывало соединение и в дозе 50 мкг/мл, но только на раннюю 24-часовую биопленку.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности КАМП-1 в терапии инфекций, ассоциированных с биоплёнками *S. aureus*.

Таблица 2
Влияние КАМП-1 на содержание *S. aureus* в зрелой биопленке

Доза КАМП-1, мкг/мл	Содержание <i>S. aureus</i> в биопленке, КОЕ/мл		
	24 часа	48 часов	72 часа
100	0	0	0
50	0	$(1,63\pm0,38)\times10^2$	$(2,50\pm0,65)\times10^2$
25	$(8,13\pm0,63)\times10$	$(1,33\pm0,33)\times10^3$	$(8,17\pm0,44)\times10^2$
10	$(1,63\pm0,24)\times10^2$	$(2,20\pm0,35)\times10^3$	$(2,88\pm0,80)\times10^3$
5	$(5,66\pm0,76)\times10^4$	$(6,67\pm0,88)\times10^3$	$(5,78\pm0,74)\times10^4$
2,5	$(4,63\pm4,43)\times10^4$	$(1,53\pm0,48)\times10^4$	$(1,20\pm0,20)\times10^5$
КК	$(2,66\pm0,68)\times10^{12}$	$(3,11\pm0,45)\times10^{13}$	$(2,45\pm0,40)\times10^{14}$

Антимикотическое действие КАМП-1.

При изучении антимикотической активности КАМП-1 выявили, что грибы рода *Candida* и сходные дрожжи также проявляли чувствительность к исследуемому образцу синтетического пептидомиметика, но в более высоких концентрациях, чем против бактерий. Такой дозозависимый эффект, в том числе, может быть связан с тем, что мембрана прокариот имеет отрицательный заряд, нежели мембрана эукариот. Значения МИК соединения находились в пределах от 40 мкг/мл до 80 мкг/мл. Наименьшие значения МИК КАМП-1 были получены для *C. tropicalis* ($40\pm4,08$ мкг/мл), *P. kudriavzevii* ($40\pm3,34$ мкг/мл) и *C. albicans* NCTC 885-653 ($40\pm5,58$ мкг/мл). *N. glabratus* и *C. parapsilosis* оказались более устойчивыми к действию КАМП-1: значения МИК были почти в два раза выше и составили $80\pm4,93$ мкг/мл и $80\pm4,17$ мкг/мл соответственно (Рис. 3).

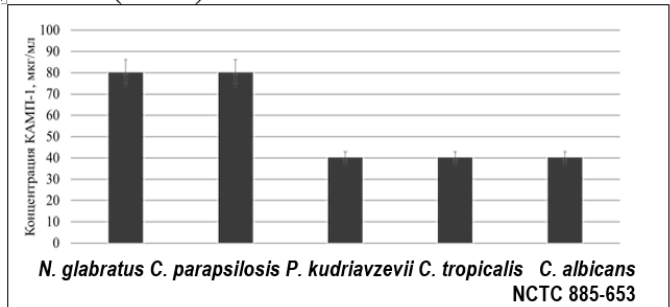


Рис. 3. Сравнение значений МИК КАМП-1 в отношении грибов рода *Candida*.

При статистическом анализе обнаружены достоверные различия между двумя группами грибов: группа I (*N. glabratus*, *C. parapsilosis*) и группа II (*P.*

kudriavzevii, *C. tropicalis*, *C. albicans*). Внутригрупповые различия не достигали статистической значимости.

Согласно полученным результатам, пептидомиметик КАМП-1 проявлял антимикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, бактериальных биопленок и одноклеточных грибов в значениях МИК, не превышающих 100 мкг/мл, что подтверждает перспективность дальнейших исследований данного антимикробного соединения.

Расширенный спектр микроорганизмов-мишеней для КАМП-1 и антимикробный потенциал в качестве действующего вещества лекарственных препаратов обусловлен предполагаемым механизмом антимикробного действия КАМП-1, направленным на разрушение мембраны клетки инфекционного агента. За счет положительного заряда пептидомиметик взаимодействует с отрицательно заряженной поверхностью микроорганизмов вне зависимости от их таксономической принадлежности и особенностей строения и приводит к повреждению жизненно важных органоидов.

На сегодняшний день известны два основных механизма антибактериального действия АМП: повреждение мембраны и разрушение внутриклеточных структур. При повреждении мембраны АМП сначала прикрепляются к поверхности микроорганизма за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий, далее происходит образование трансмембранной поры по одной из четырех известных моделей взаимодействия (бочкообразная, тороидально-поровая, ковровая и агрегатная), увеличение проницаемости мембраны патогена и гибель клетки. При внутриклеточном повреждающем действии АМП проникают в цитоплазму, разрушают молекулы, повреждают внутриклеточные органоиды и нарушают метаболизм: ингибируют синтез ДНК, РНК и белка, способствуют высвобождению лиаз для разрушения клеточных структур, ингибируют активность ферментов для синтеза клеточной стенки [10, 11].

Разницу в чувствительности к пептидомиметику у представителей разных видов бактерий и их штаммов

можно связать с индивидуальными особенностями строения, метаболизма, типов секреции, скорости размножения и арсенала механизмов изменчивости.

Зачастую сложная структура биопленки препятствует проникновению к бактериям антибиотиков, снижая их таргетный эффект. Антимикробные пептиды способны проникать сквозь коллоидный матрикс бактериального сообщества и оказывать повреждающее действие, нарушая проницаемость мембраны. Проникновение в биопленку происходит под действием трех движущих сил: положительного заряда, гидрофобной группы пептида и избирательной проницаемости мембраны микроорганизма. Пептид достигает поверхности клеточной мембраны и приводит к нарушению ее целостности [10-15]. При определении острой токсичности в эксперименте на мышах был обнаружен дозозависимый летальный эффект и выявлены летальные дозы [17].

ВЫВОДЫ

1. Вновь синтезированный пептидомиметик КАМП-1 в исследовании *in vitro* проявил антимикробное и антифунгальное действие в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов рода *Candida*.

2. Выявлена способность КАМП-1 подавлять размножение штаммов бактерий с установленной лекарственной резистентностью.

3. КАМП-1 способен препятствовать формированию биопленок, образуемых *S. aureus* и *E. coli*, а также значительно ингибировать размножение бактерий в составе зрелых биопленок.

4. КАМП-1 проявляет свою активность в относительно малых концентрациях, что делает его перспективным для дальнейшего изучения в качестве эффективной антимикробной основы для изготовления лекарственных препаратов.

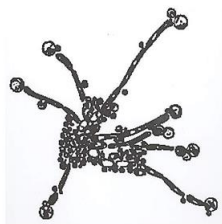
ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmad M., Khan A.U. Global economic impact of antibiotic resistance: A review. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2019; 19: 313-316. doi: 10.1016/j.jgar.2019.05.024
2. Tabah A., Koulenti D., Laupland K., et al. Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. Intensive Care Med. 2012; 38 (12): 1930-45. doi: 10.1007/s00134-012-2695-9
3. Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. Lancet Infect. Dis. 2018; 18 (3): 318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3
4. Dadashi M., Hajikhani B., Nazarinejad N., et al. Global prevalence and distribution of antibiotic resistance among clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: A systematic review and meta-analysis. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2023; 34: 253-267. doi: 10.1016/j.jgar.2023.02.018
5. Попов Д.А., Зубарева Н.А., Паршаков А.А. Азтреонам: клинико-фармакологическая характеристика на современном этапе // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2023; 25 (1): 19-25. [Popov D.A., Zubareva N.A., Parshakov A.A. Aztreonam: clinical and pharmacological characteristics at the present stage. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2023; 25 (1): 19-25. (In Russ.)]. doi: 10.36488/cmac.2023.1.19-25
6. von Dach E., Albrich W.C., Brunel A., et al. Effect of C-reactive protein-guided antibiotic treatment duration, 7-day treatment, or 14-day treatment on 30-day clinical failure rate in patients with uncomplicated gram-negative bacteremia: a randomized clinical trial. JAMA. 2020; 323 (21): 2160-2169. doi:10.1001/jama.2020.6348
7. Хостелиди С.Н., Серебряная Н.Б. Иммуноterapia инфекций, вызванных *Candida* spp.: миф или реальность? Инфекция и иммунитет. 2025; 15 (1): 27-36. [Khostelidi S.N., Serebryanaya N.B. Immunotherapy of *Candida* spp.-caused infections: myth or reality? Russian Journal of Infection and Immunity. 2025; 15 (1): 27-36. (In Russ.)]. doi:10.15789/2220-7619-IOC-17696
8. Босак И.А., Ковыршин С.В., Выборнова И.В. и др. Экспериментальный инвазивный кандидоз, обусловленный штаммами *Candida tropicalis* с различной чувствительностью к противогрибковым лекарственным средствам. Проблемы медицинской микологии. 2024; 26 (4): 56-58. [Bosak I.A., Kovyrshin S.V., Vybornova I.V., et al. Experimental invasive candidiasis caused by *Candida tropicalis* strains with different antifungal susceptibility patterns. Problems in Medical Mycology. 2024; 26 (4): 56-58. (In Russ.)]. doi: 10.24412/1999-6780-2024-4-56-60
9. Ковыршин С.В., Венчакова В.В., Выборнова И.В. и др. Рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз: фокус на резистентность *Candida albicans* к противогрибковым лекарственным средствам. Проблемы медицинской микологии. 2024; 26 (4): 61-66. [Kovyrshin S.V., Venchakova V.V., Vybornova I.V., et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis: focus on *Candida albicans* resistance to antifungal drugs. Problems in Medical Mycology. 2024; 26 (4): 61-66. (In Russ.)]. doi: 10.24412/1999-6780-2024-4-61-66
10. Резникова О.В., Царёв А.В., Пантелеев П.В. и др. Пространственная структура нового антимикробного пептида капителлацина из полихеты *Capitella teleta*. XXXIII Зимняя международная молодёжная научная школа "Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии". Сборник тезисов. М., 2021: 34. [Reznikova O.V., Tsarev A.V., Panteleev P.V., et al. Spatial structure of the new antimicrobial peptide capitellacin from the polychaete *Capitella teleta*. XXXIII Winter International Youth Scientific School "Promising areas of physico-chemical biology and biotechnology". Collection of abstracts. Moscow, 2021: 34. (In Russ.)].
11. Дадали Ю.В., Дадали В.А., Кормилец Д.Ю., Марьянович А.Т. Как пептиды-антибиотики взаимодействуют с микроорганизмами. Российские биомедицинские исследования. 2020; 5 (2): 31-38. [Dadali Y.V., Dadali V.A., Kormilets D.Yu., Maryanovich A.T. How antibiotic peptides interact with microorganisms. Russian Biomedical Research. 2020; 5 (2): 31-38. (In Russ.)].
12. Червоткина Д.Р., Борисова А.В. Антимикробные препараты природного происхождения: обзор свойств и перспективы применения. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022; 12 (2): 254-267. [Chervotkina D.R., Borisova A.V. Antimicrobial substances of natural origin: a review of properties and prospects. Proceedings of Universities. Applied chemistry and biotechnology. 2022; 12 (2): 254-267. (In Russ.)]. doi:10.21285/2227-2925-2022-12-2-254-267
13. Баландин С.В., Шереметьева Э.В., Овчинникова Т.В. Педиоцин-подобные антимикробные пептиды бактерий. Биохимия. 2019; 84 (5): 616-633. [Balandin S.V., Sheremetyeva E.V., Ovchinnikova T.V. Pediocin-like antimicrobial peptides of bacteria. Biochemistry. 2019; 84 (5): 616-633. (In Russ.)].
14. Афанасьева Е.Ф., Сырямина В.Н., Дзюба С.А. Механизм нарушения функционирования бактериальных мембран под воздействием пептидов-антибиотиков. МНСК-2018: Физические методы в естественных науках. 2018: 68. [Afanasyeva E.F., Syryamina V.N., Dzyuba S.A. Mechanism of malfunction of bacterial membranes under the influence of antibiotic peptides. MNSK-2018: Physical methods in natural sciences. 2018: 68. (In Russ.)].

15. Мусин Х.Г. Антимикробные пептиды – потенциальная замена традиционным антибиотикам. Инфекция и иммунитет. 2018; 8 (3): 295-308. [Musin Kh.G. Antimicrobial peptides – a potential replacement for traditional antibiotics. Russian Journal of Infection and Immunity. 2018; 8 (3): 295-308. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-2018-3-295-308
16. Любушкина Е.М., Бондарева Е.А., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. Синтетический пептидомиметик КАМП-1: новое инновационное оружие в борьбе с бактериями Фармацевтическое дело и технология лекарств. 2025; 2. [Lyubushkina E.M., Bondareva E.A., Soldatova M.S., Madonov P.G. Synthetic Peptidomimetic SAMP-1: A New Innovative Weapon in the Fight Against Bacteria. Pharmaceutical Science and Technology of Medicines. 2025; 2. (In Russ.)]. doi:10.33920/med-13-2502-05
17. Любушкина Е.М., Бондарева Е.А., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. Изучение первичных фармакодинамических эффектов и возможного цитотоксического действия синтетического пептидомиметика КАМП-1. BGRS/SB-2024; 1760-1765. [Lyubushkina E.M., Bondareva E.A., Soldatova M.S., Madonov P.G. Analysis of primary pharmacodynamic effects and possible cytotoxic effects of synthetic peptidomimetics SAMP-1. BGRS/SB-2024; 1760-1765. (In Russ.)]. doi:10.18699/bgrs2024-9.4-08
18. Миронов А.Н., Бунаatian Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012: 944 с. [Mironov A.N., Bunatyan N.D., Vasiliev A.N. and others. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. M.: Grif and K, 2012: 944 p. (In Russ.)].
19. Shivaee A., Sadeghi Kalani B., Talebi M., Darban-Sarokhalil D. Does biofilm formation have different pathways in *Staphylococcus aureus*? Iran J. Basic Med. Sci. 2019; 22 (10): 1147-1152. doi: 10.22038/ijbms.2019.34888.8281
20. Vanegas J.M., Salazar-Ospina L., Roncancio G.E., Jimenez J.N. *Staphylococcus aureus* colonization increases the risk of bacteremia in hemodialysis patients: a molecular epidemiology approach with time-dependent analysis. Am. J. Infect. Control. 2021; 49: 215-223. doi:10.1016/j.ajic.2020.05.031
21. Xu X., Zhang X., Zhang G., Abbasi Tadi D. Prevalence of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis infection: a systematic review and meta-analysis. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2024; 36: 419-425. doi:10.1016/j.jgar.2023.05.006

Поступила в редакцию журнала 21.08.25

Принята к печати 07.10.25



Для цитирования: Рябинин И.А., Васильева Н.В., Чилина Г.А. Действие культуральных жидкостей дрожжей-аскомицетов на MALDI-ионизацию 2,5-дигидроксibenзойной кислоты как основа экспресс-обнаружения роста микроскопических грибов. Проблемы медицинской микологии. 2025; 27 (3): 62-68. doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-62-68

For citation: Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Chilina G.A. Impact of ascomycete yeast culture fluids on MALDI-ionization of 2,5-dihydroxybenzoic acid as the basis for rapid detection of microscopic fungal growth. Problems in Medical Mycology. 2025; 27 (3): 62-68. (In Russ). doi: 10.24412/1999-6780-2025-3-62-68

ДЕЙСТВИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ЖИДКОСТЕЙ ДРОЖЖЕЙ-АСКОМИЦЕТОВ НА MALDI-ИОНИЗАЦИЮ 2,5-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ КАК ОСНОВА ЭКСПРЕСС-ОБНАРУЖЕНИЯ РОСТА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Рябинин И.А. (доцент, н.с.)*, Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой), Чилина Г.А. (зав. лаб.)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; кафедра медицинской микробиологии), Санкт-Петербург, Россия

При работе с MALDI-TOF-масс-спектрометром обычно обращают внимание на ионы аналитов, игнорируя ионы матрицы. Гипотетически аналиты могут влиять на взаимодействие матрицы с лазером и на поведение ионов матрицы. Данные феномены интересны и для аналитической химии, и для применения в микробиологии; оптимальным объектом для их установления следует считать 2,5-дигидроксibenзойную кислоту, обладающую отличными свойствами MALDI-матрицы.

Цель: выявить специфические изменения, происходящие при MALDI-ионизации 2,5-гидроксibenзойной кислоты в присутствии культуральной жидкости дрожжей-аскомицетов. Культуральные жидкости *Candidozyma auris*, других возбудителей инвазивного кандидоза и промышленно значимых дрожжей *Pichia manchurica*, *Saccharomyces cerevisiae*, выращенных на мясо-пептонном бульоне (МБП), исследовали в линейной MALDI-TOF-масс-спектрометрии с высокоэнергетической ионизацией. Провели сравнение MALDI-масс-спектров чистой матрицы, образца МПБ и культуральной жидкости *S. auris*, а затем – сравнение MALDI-масс-спектров матрицы без аналитов, в присутствии чистой питательной среды и культуральных жидкостей дрожжей по показателю интенсивности ионного тока с использованием тестов ANOVA и Тьюки. Культуральная жидкость *S. auris* и незасеянный МПБ изменяют параметры отдельных пиков 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, причем у действия экзометаболитов *S. auris* имеются специфические особенности в сравнении с компонентами среды. Пути ионизации матрицы в присутствии культуральных жидкостей различ-

ных микромицетов принципиально похожи, но существуют достоверные отличия по величинам интенсивности; наиболее выраженные различия имеются в «парах» сравнения: *Pichia kudriavzevii* и стерильный МПБ, *P. kudriavzevii* и *S. cerevisiae*. Метаболиты дрожжей-аскомицетов оказывают прямое и косвенное действие на характер ионизации 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, при этом *S. auris* вызывает образование ионов со «смещенным» значением *m/z* относительно других микромицетов. Обнаруженные явления могут быть полезны для экспресс-обнаружения роста дрожжевых грибов в жидких питательных средах.

Ключевые слова: дигидроксibenзойная кислота, *Candida*, MALDI-TOF-масс-спектрометрия, MALDI-матрица, кандидоз

IMPACT OF ASCOMYCETE YEAST CULTURE FLUIDS ON MALDI-IONIZATION OF 2,5-DIHYDROXYBENZOIC ACID AS THE BASIS FOR RAPID DETECTION OF MICROSCOPIC FUNGAL GROWTH

Ryabinin I.A. (associate professor, scientific researcher), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department), Chilina G.A. (head of the laboratory)

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

Attention is usually paid to the ions of analytes, ignoring the matrix ions when working with a MALDI-TOF-mass-spectrometer. Hypothetically, analytes can influence in the interaction of the matrix with laser and the behavior of matrix ions. These phenomena are interesting both for analytical chemistry and for use in microbiology. The optimal object for their establishment should be considered 2,5-dihydroxybenzoic acid which has excellent properties as the MALDI-matrix. The aim of the study is to identify specific changes that occur during MALDI-ionization of 2,5-hydroxybenzoic acid in the presence of ascomycete yeast culture fluids. Culture fluids of *Candidozyma auris*, other causative agents of invasive candidiasis and industrially important yeasts *Pichia manchurica* and *Saccharomyces cerevisiae* grown in meat-peptone broth (MPB) were studied in linear MALDI-TOF-mass-spectrometry with

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

high-energy ionization. We compared the MALDI-mass-spectra of the pure matrix, the MPB sample and the *C. auris* culture fluid, and then compared the MALDI-mass-spectra of the matrix without analytes, in the presence of a pure nutrient medium and yeast culture fluids in terms of ion amperage intensity using ANOVA and Tukey tests. The culture fluid of *C. auris* and uninoculated MPB change the parameters of individual peaks of 2,5-dihydroxybenzoic acid, and the action of *C. auris* exo-metabolites has specific features in comparison with the components of the medium. The paths of matrix ionization in the presence of cultural liquids of various micromycetes are fundamentally similar, but there are significant differences in intensity values; the most pronounced differences were found in the «pairs» of comparison: *Pichia kudriavzevii* and sterile MPB, *P. kudriavzevii* and *S. cerevisiae*.

Ascomycete yeast metabolites have direct and indirect effects on the ionization pattern of 2,5-dihydroxybenzoic acid, with *C. auris* causing the formation of ions with a «biased» m/z value relative to other micromycetes. The discovered phenomena can be useful for rapid detection of the growth of yeasts in liquid nutrient media.

Key words: *Candida*, candidiasis, dihydroxybenzoic acid, MALDI-TOF-Mass Spectrometry, MALDI matrix

ВВЕДЕНИЕ

Базовый принцип ионизации в MALDI-TOF-масс-спектрометрии (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass-Spectrometry) связан с ключевой ролью так называемого вещества – «матрицы», трансформирующего физическую энергию лазера в химическую. Анализируемые вещества, в том числе высокомолекулярные, в этом случае в основном сохраняют свое строение при ионизации, в то же время молекулы матрицы превращаются в «молекулярные» и «псевдомолекулярные» (с аддуктами) ионы, продукты фрагментации [1]. Такие ионы в наиболее низкомолекулярной части спектра образуют серию близкорасположенных пиков [2]. При видовой идентификации микроорганизмов с помощью MALDI-TOF-MS по комплексу пептидов и легких белков ионы матрицы не учитывают, а в масс-спектрометрах некоторых производителей «область матрицы» даже не входит в стандартный детектируемый диапазон. Между тем, ионы матрицы дают сигналы, в несколько порядков превышающие по интенсивности сигналы от белков и пептидов микроорганизмов. С учетом малой массы и высокой реакционной способности ионов матрицы с большой долей вероятности следует предположить, что на их образование в той же степени оказывают влияние и молекулы аналитов, которыми в сфере микробиологии являются бактериальные или грибковые метаболиты и компоненты клеток. В связи с этим представляется перспективным поиск специфических изменений в ионизации MALDI-матриц в присутствии веществ микробного происхождения.

В MALDI-TOF-масс-спектрометрии, используемой в микробиологии, в качестве стандартной матрицы традиционно применяют насыщенный при комнатной температуре раствор α -циано-4-гидроксициннамовой кислоты в комплексном растворителе «OS» (включает нитрил уксусной кислоты, деионизованную воду и трифторуксусную кислоту) [3]. Существенный недостаток данной матрицы – срок активности готового раствора. Наиболее качественная ионизация образцов происходит при использовании раствора матрицы *ex tempore* в первые сутки, сохранение рабочих качеств (с их угасанием) можно наблюдать в течение 5-7 суток, последующее применение обычно не приводит к удовлетворительному результату съемки. В связи с этим недостатком целесообразно рассмотреть замену α -циано-4-гидроксициннамовой кислоты на другую имеющуюся доступную MALDI-матрицу из многочисленных ароматических кислот, широко используемых в данной сфере. Так, отличными качествами обладают матрицы на основе 2,5-дигидроксibenзойной (гентиизиновой) кислоты (DHB), которые в зависимости от состава растворителя и настроек масс-спектрометра подходят для исследования белков, пептидов, углеводов, липидов и некоторых синтетических полимеров [4-7]. Впервые о применении дигидроксibenзойной кислоты в качестве матрицы сообщили в 1991 г. Strupat K. и создатели метода MALDI-TOF-масс-спектрометрии Karas M. и Hillenkamp F. [8]. В оригинальном опыте авторы показали, что чувствительность съемки по препарату белка (цитохрома C) с дигидроксibenзойной кислотой составила 1 фемтомоль, притом удалось обнаружить устойчивость матрицы с дигидроксibenзойной кислотой к различным низкомолекулярным примесям (неорганическим солям, компонентам буферных растворов, детергентам), например, свойства матрицы сохранялись при добавлении лаурилсульфата натрия до 10% (массы к объему). У дигидроксibenзойной кислоты выявлено длительное сохранение ионизирующих свойств в готовом растворе матрицы. В наших экспериментах успешные масс-спектрометрические съемки удается проводить с реактивом трехмесячного срока хранения, однако со временем происходит изменение картины кристаллизации матрицы (образуются более короткие кристаллы). Опубликовано и более интересное наблюдение, в котором показано сохранение рабочих качеств раствора в течение года (!). Как оказалось, инфракрасные спектры 2,5-дигидроксibenзойной кислоты до и после годового хранения в растворе содержали очень мягкие, едва заметные изменения, а масс-спектры образца шеллака и смеси пептидов от триптического перевара рыбного клея по основным пикам были почти идентичны [9]. Свойствами

MALDI-матрицы обладают также изомеры гентизиновой кислоты, отличающиеся положениями гидроксильных групп в бензольном кольце, их активность варьирует в зависимости от условий ионизации, а сила ионного тока изменяется в ряду 2,3-DHB $\approx$ 2,6-DHB > 2,5-DHB $\approx$ 2,4-DHB > 3,5-DHB [10]. Тем не менее именно 2,5-дигидрокси-изомер в практике масс-спектрометрии используют наиболее часто. Особенность данных веществ заключается еще и в том, что только 2,5-DHB инкорпорирует белки и пептиды в свои кристаллы, другие изомеры способны к этому в значительно меньшей степени, а изомер 2,6-DHB вовсе не образует нужных ассоциатов.

Относительным недостатком 2,5-дигидроксибензойной кислоты как MALDI-матрицы считают специфическую картину кристаллизации, связанную с образованием на поверхности мишени очень крупных игольчатых кристаллов с неравномерным распределением. Этот феномен снижает эффективность работы масс-спектрометра в автоматическом режиме, когда позиции мишени подвергаются действию лазерных импульсов со сменой положения по определенной траектории. С другой стороны, это же свойство матрицы DHB делает ее удобной для работы с «ручным» наведением лазера. Вероятно, в масс-спектрометрах новых поколений автоматический режим работы будет более совершенен благодаря настройке системы программного анализа изображения. Имеются сообщения о получении мелкокристаллической (после наслоения на мишень) формы матрицы DHB путем добавления в ее раствор пиридина [11] или сублимации в процессе сушки на образце [12]. В таком виде DHB удастся распределить по образцу достаточно гомогенно.

Цель исследования: выявить специфические изменения, происходящие при MALDI-ионизации 2,5-гидроксибензойной кислоты в присутствии культуральной жидкости дрожжей-аскомицетов с использованием полирезистентного микромицета *Candidozyma auris* в качестве основного модельного биообъекта.

Предварительные итоги работы в кратком виде были представлены на VII Всероссийском Конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии, X Российско-китайской конференции по медицинской микробиологии, иммунологии и фармакологии «XXVI Кашкинские чтения» (доклад «Дифференцировка *Candida auris* с помощью MALDI-TOF-MS: от внутривидового типирования до культуромики»), в данном сообщении изложены окончательные результаты исследования с их обсуждением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включили первый достоверно документированный в России штамм *Candidozyma auris* РКПГ Y-1821, а также по одному штамму *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Nakaseomyces glabratus*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia manchurica* и *Saccharomyces cerevisiae* из учебной коллекции кафедры медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (реплики штаммов из РКПГ). Штаммы культивировали на плотной среде Сабуро с 2% глюкозы (37 °C, 24 ч), затем высевали полученные культуры в объеме 1 бактериологической петли №2 в 5 мл мясо-пептонного бульона, инкубировали при тех же условиях. В данном случае специально была выбрана жидкая питательная среда без глюкозы, чтобы в культуральной жидкости не накапливались однотипные по составу продукты ферментации углеводов (например, *C. albicans* и *C. tropicalis* сбраживают глюкозу до уксусной кислоты и этанола [13, 14]). По 1,5 мкл культуральной жидкости после осаждения клеток центрифугированием (6000 об/мин, 2 мин) наносили на позиции масс-спектрометрической «мишени» MTP 384 target plate polished steel BC («Bruker Daltonik GmbH»), по 2 позиции на каждый образец, затем сушили образцы в химическом вытяжном шкафу. После высыхания образцы обрабатывали 1 мкл насыщенного при комнатной температуре раствора 2,5-гидроксибензойной кислоты (матрица DHB того же производителя) в стандартном комплексном растворителе «TA30». В качестве контрольных образцов применяли 1,5 мкл стерильного мясо-пептонного бульона (МПБ) с матрицей DHB и чистую матрицу DHB. Съемку образцов выполнили на MALDI-TOF-масс-спектрометре «Autoflex speed TOF/TOF» («Bruker Daltonik GmbH») с рабочей станцией «Workstation Z400 (HP)» с управляющей программой «flexControl v. 3.4». На первом этапе по контрольному образцу матрицы DHB без анализов провели подбор оптимального режима ионизации. Наиболее эффективная ионизация матрицы по интенсивности ионного тока доминантных пиков и количеству пиков с показателем отношения интенсивности сигнала к шуму (S/N) более 3 происходила при использовании модифицированного режима «MBT» (обозначение согласно номенклатуре режимов ионизации производителя оборудования). Для высокоэнергетического воздействия на кристаллы матрицы в дополнение к базовым настройкам выбранного режима устанавливали максимальную мощность лазера и минимальное уменьшение выходной мощности на аттенуаторе (высокий показатель «laser offset»). При содействии сервисного инженера оборудования для адаптации блока лазера в данном

режиме были изменены частотные параметры серии импульсов и количество серий в одном стандартном цикле ионизации пробы на позиции мишени.

Режим детекции изменили до диапазона 0-2000 Da, подавление сигналов от ионов матрицы отключили. Ионизацию выполняли с ручным управлением лазером, суммарные масс-спектры включали до 3000 лазер-импульсов. Анализ масс-спектров осуществляли во «flex Analysis v. 3.4», диапазон просмотра в связи с особенностями масс-спектров сузили до 0-500 Da, масс-спектры сократили до условной базовой линии, сгенерировали масс-листы.

На первом этапе провели сравнение MALDI-масс-спектров чистой матрицы, образца МПБ и культуральной жидкости *C. auris*. Для этого выполнили наложение масс-спектров с сохранением масштаба и рассмотрели их различия, начиная с наименьших значений m/z , последовательно в 6-ти диапазонах: 0-75; 75-84; 84-116,5; 174-203; 294-362; 400-500. Неравенство по протяженности выбранных диапазонов объясняется своеобразием распределения пиков в наблюдаемых MALDI-масс-спектрах.

Для сравнения MALDI-масс-спектров матрицы DHB в чистом виде, в присутствии образцов МПБ и культуральных жидкостей дрожжей-аскомицетов по показателю интенсивности ионного тока использовали одномерный метод ANOVA (выбранный уровень значимости $\alpha=0,05$) и критерии Тьюки, в анализ включили только пики с показателем $S/N>3$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2,5-дигидроксibenзойная кислота в выбранном высокоэнергетическом режиме ионизации отличается очень сложным паттерном образования ионов, который после ручной редакции масс-листа включает 86 пиков (Рис. 1: А, В). На рисунке 1 представлено наложение MALDI-масс-спектров 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в чистом стандартном растворе (линия «DHB-clear»), при добавлении стерильного мясо-пептонного бульона (линия «MPB_DHB») и культуральных жидкостей дрожжевых грибов (обозначены именами видов). По оси абсцисс отражены значения m/z , по оси ординат – интенсивность ионного тока в условных единицах. Фрагменты: **А** – перечень полученных масс-спектров: *C. glabrata* = *Nakaseomyces glabratus*, *C. krusei* = *Pichia kudriavzevii*, *C. guilliermondii* = *Meyerozyma guilliermondii*. MBT – режим ионизации; 0-2000_Da – диапазон настройки детектора; буквенно-цифровые индексы (H22, I6 и др.) – обозначение позиций мишени, на которые нанесены образцы. **В** – общий вид масс-спектров 2,5-DHB в наложении. **С, D** – укрупненные фрагменты масс-спектров, где видно влияние культуральной жидкости *C. auris* РКИП Y-1821.

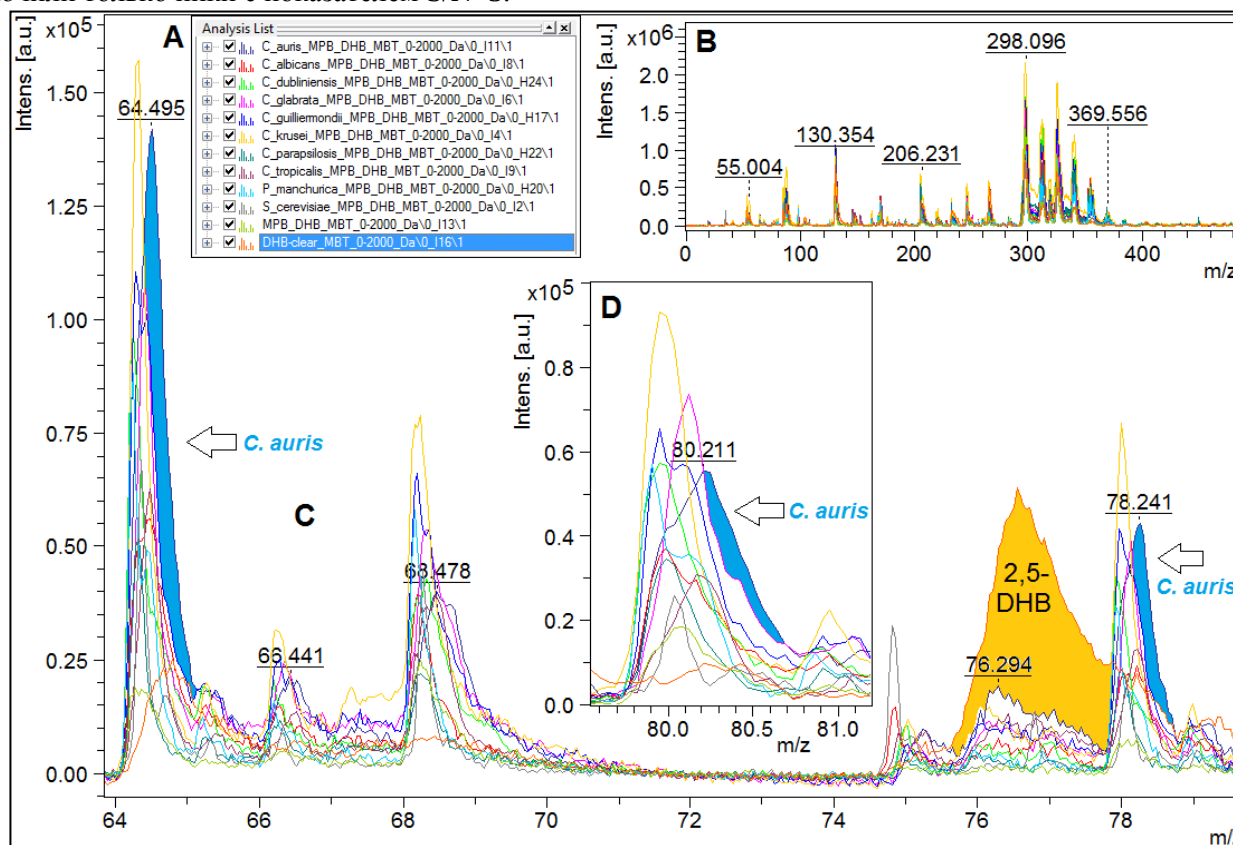


Рис. 1. MALDI-масс-спектры 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в различных состояниях. Подробные обозначения в тексте.

Примечательно, что практически все доминантные пики 2,5-дигидроксibenзойной кислоты представляют собой комплексы сигналов от ионов, вероятно, близкого строения: почти все такие пики либо асимметричны, либо имеют вершину с множественным расщеплением (на 3-4 вероятных компонента). Интенсивность доминантных пиков достигает величин порядка нескольких миллионов условных единиц. Точно понять строение ионов оказалось затруднительным, поскольку режимы аннотирования, пригодные для выявления низкомолекулярных фрагментов («adduct positive mode», «adduct negative mode», «common neutral losses»), позволили установить различия сравнительно небольшого количества пиков. Так, обнаружены аддукты в виде воды, аниона трифторуксусной кислоты (что ожидаемо, поскольку она является компонентом растворителя), формиата, ацетата, пропильного и метильного радикалов, катионов металлов – натрия, калия, лития, аниона брома. Происхождение аддуктов металлов и бромид-аниона в данном случае сомнительно, поскольку они не входили в состав матрицы и ее растворителя; по-видимому, здесь были иные фрагменты с близкой молекулярной массой.

После обработки контрольного MALDI-масс-спектра матрицы приступили к сравнительному анализу MALDI-масс-спектров чистой матрицы, мясопептонного бульона и культуральной жидкости *C. auris*. Так, в культуральной жидкости *C. auris* выявили возрастание интенсивности наиболее низкомолекулярных пиков спектра – 19,208 и 20,026; при этом в чистой матрице и МПБ интенсивность этих пиков была почти идентична, то есть такие изменения вызвали именно метаболиты *C. auris*. В то же время пики 24,398 и 27,187 отличаются наивысшей интенсивностью при работе с чистой матрицей, а в культуральной жидкости *C. auris* и стерильном МПБ их интенсивность сравнима с уровнем шума детектора. В данном случае ионы, образующие эти два пика, с наибольшей вероятностью, поглощаются аминокислотами и короткими пептидами. Более сложные особенности видны в следующем комплексе пиков из двух доминантных – 34,536 и 40,763. В образце МПБ их интенсивность мала, более выраженные сигналы получаются при работе с культуральной жидкостью *C. auris* и чистой матрицей. Очевидно, некоторые компоненты МПБ блокируют образование ионов с m/z 34,536 и 40,763, а экзоферменты *C. auris*, расщепляя компоненты МПБ, позволяют вновь получать высокоинтенсивные сигналы от данных ионов. Причем интенсивность пика 40,763 больше в чистой матрице, а пика 34,536 – в культуральной жидкости *C. auris*. Аналогично пику 40,763 видны особенности в ком-

плексе 47,966-49,324, но данный комплекс анализировать труднее ввиду сложного контура масс-спектра (наложение сигналов от множества ионов).

В образце культуральной жидкости *C. auris* обнаружили высокоинтенсивные пики 64,495 (интенсивность на уровне $1,25 \cdot 10^5$ у.е.); 78,247; 80,211 и 68,478 (на уровне $0,5 \cdot 10^4$ у.е.), а также менее «яркие» сигналы – 66,441 и 76,294. Притом пики 64,495 и 80,211 имеются в образце МПБ и чистой матрице, но со значительно более низкой интенсивностью; пики 78,241, 80,211 и 68,478 – только в МПБ и культуральной жидкости *C. auris*, но отсутствуют в чистой матрице. Небольшой пик 66,441 (интенсивность порядка $0,25 \cdot 10^5$ у.е.) виден только в культуральной жидкости *C. auris*. Пик 76,294 наиболее ярко представлен в MALDI-масс-спектре дигидроксibenзойной кислоты, в культуральной жидкости *C. auris* сигнал от него прослеживается, но искажен, в MALDI-масс-спектре МПБ данный пик отсутствует. Своеобразное взаимодействие с ионами матрицы видно при наложении MALDI-масс-спектров на интервале m/z 98,5-100. В образце чистой матрицы сигналов в этом «окне» нет, в то же время в присутствии МПБ и культуральной жидкости *C. auris* появляются сходные по своим контурам комплексы пиков, отчетливо расходящиеся по величине m/z на доминантных вершинах (97,791 – у МПБ, 98,29 – у *C. auris*), их контуры пересекаются. Контур пиков со стороны меньших значений m/z ровный, а со стороны больших значений образован 3-4-мя почти перекрывающимися пиками у каждого комплекса. На интервале m/z 102,5-110 наименее слабые сигналы характерны для ионов в образце МПБ, похожий трехпиковый контур комплекса проявлен в культуральной жидкости *C. auris*, но с более высокой интенсивностью (десятки тысяч условных единиц), при этом максимальный по интенсивности в сравнении трех объектов пик 103,84 характерен для чистой матрицы, а два других пика комплекса в дигидроксibenзойной кислоте отчетливо не прослеживаются.

В промежутке m/z 175-200 Da MALDI-масс-спектры чистой матрицы и МПБ очень схожи, за исключением пиков 180 Da (имеется в только в чистой матрице) и 186 Da (в образце МПБ низка интенсивность). В то же время в данном промежутке видны специфические сигналы от образца культуральной жидкости *C. auris* в форме пиков 176,451; 186,678; 187,549 и 188,543. Наиболее сильные сигналы в виде высокоинтенсивных пиков у трех сравниваемых объектов наблюдали в интервале 290-360 Da. Интересно, что культуральная жидкость *C. auris* потенцирует эти сигналы, особенно в комплексах пиков, которые можно для краткости обозначить доминантными значениями m/z 298,248; 312,057; 326,29; 341,28 и 356,035. Сегмент MALDI-масс-спектра от 400 до 500

Да отличается у трех аналитов очень полиморфным видом, состоит из множества пиков и комплексов пиков небольшой интенсивности, перемежающимися с шумом детектора; для сравнительного анализа данный сегмент признали непоказательным.

По результатам теста ANOVA, расчётный уровень значимости p (0,02732) оказался менее выбранного уровня значимости α , априорная мощность теста сильная (1); расчётное значение F составило 2,008027 и не находилось в зоне принятия «нулевой» гипотезы на диаграмме распределения показателя F ($df_1=11$, $df_2=307$; для 95% площади «области принятия» F критический равен 1,8199). Таким образом, средние значения интенсивности ионного тока в исследованных MALDI-масс-спектрах не равны («нулевая» гипотеза отвергается). Иными словами, несмотря на схожий распад матрицы ($\eta^2=0,067$), у представителей некоторых включенных в работу аскомицетов имеется специфическое влияние на образование ионов дигидроксibenзойной кислоты. В частности, тест Тьюки показал, что наиболее выраженные различия присутствуют в парах сравнения «*P. kudriavzevii* и стерильный МПБ» ($p=0,04977$), а также» *P. kudriavzevii* и *S. cerevisiae*» ($p=0,03605$). Данный феномен согласуется с тем, что под влиянием метаболитов *P. kudriavzevii* дигидроксibenзойная кислота образует масс-спектр с наивысшей интенсивностью большинства пиков в наблюдаемой выборке (Рис. 1).

При относительно консервативном паттерне образования ионов 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в присутствии метаболитов *C. auris* выявлены изменения, касающиеся не интенсивности ионного тока, а значений m/z ряда пиков, что при MALDI-идентификации считается более специфичным признаком. В частности, в пиках с m/z около 64,2; 78 и 80 именно под действием *C. auris* наблюдали максимальное смещение пика в сторону больших величин («вправо»): 64,495; 78,241 и 80,211 соответственно (Рис. 1: С, D). Похожее явление видно в пиках 66,2-66,4 и 68,2-68,6, но здесь пики матрицы в присутствии *C. auris* имеют низкую интенсивность. Более достоверно данные изменения можно будет визуализировать на оборудовании с высоким разрешением съемки, что в MALDI-TOF-MS достигается использованием тандемной масс-спектрометрии (TOF/TOF, MS/MS с классической параболической траекторией пролета ионов или рефлекторной сложной конфигурации).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования благодаря модифицированному режиму ионизации получен наиболее детализированный MALDI-масс-спектр 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в сравнении с более ранними сообщениями. Механизм образования и состав ионов DHB неоднократно исследовался [15, 16]; в зависимости от условий предполагают существование продуктов вида DHB^+ , $[DHB-H_2O]^+$, $[DHB-CO_2]^+$, $[DHB]^+\bullet$, $[DHB + H]^+$, $[DHB + H^+ - H_2O]^+$, $[2DHB - 2H_2O + H]^+$ и $[3DHB - 3H_2O + H]^+$. Тем не менее данный список не позволяет объяснить полученное разнообразие сигналов. Очевидно, встречаются ионы и многих других типов.

В ходе эксперимента установлено, что дрожжи-аскомицеты, включая *C. auris*, оказывают модулирующее влияние на механизм образования ионов DHB своими метаболитами. Гипотетически можно предположить и не прямое взаимодействие в комплексе «DHB – компоненты питательной среды – ферменты аскомицетов», где дрожжи с помощью экзоферментов расщепляют компоненты среды и тем самым меняют характер ионизации в сравнении с интактной стерильной средой вне микробного воздействия. Часть проведенных наблюдений подтверждает эту гипотезу. Примечательно, что и в данной работе, в сравнении с основными возбудителями инвазивного кандидоза их действием на матрицу, представитель *C. auris* (семейство *Mechnikoviaceae*) вновь продемонстрировал особые свойства, выделяющие его среди родственных медицински значимых *Candida* spp. и сходных дрожжей-аскомицетов (семейства *Saccharomycetaceae*, *Pichiaceae* и *Debaryomycetaceae*). Данное обстоятельство указывает на необходимость интенсифицировать исследования метаболома *C. auris* не столько для оценки его проявления в MALDI-ионизации, а для выявления уникальных метаболитов или катализируемых реакций, обуславливающих своеобразие патогенеза инвазивного кандидоза, вызванного *C. auris*, либо принимающих участие во взаимодействии клеток *C. auris* и противогрибковых лекарственных препаратов.

Результаты данной работы могут быть применены на практике для быстрого выявления роста дрожжей в жидких питательных средах в отсутствии явных видимых признаков (помутнения, образования осадка или пристеночного кольца, поверхностной пленки, изменения цвета индикатора pH, микроскопии культуры). Причем в данном случае необязательно использовать именно высокоэнергетический режим ионизации, поскольку многие характерные сильные сигналы от матрицы видны даже при небольшой мощности лазера. Такое потенциальное внедрение теоретически подкрепляется тем фактом, что активное воздействие микромицета на субстрат (субстраты) в питательной среде начинается в конце lag-

фазы – ранней экспоненциальной фазе, когда количество микробных клеток еще слишком мало, чтобы получить их в виде осадка и исследовать по традиционной технологии MALDI-идентификации. Что касается возможности дифференцировки микромицетов на этом этапе, как показало исследование, определенная дифференцировка возможна, но не на уровне видов (исключая *C. auris* и *P. kudriavzevii*). Успехи в этой сфере могут быть достигнуты при использовании на этапе выделения микромицетов из биоматериала серии питательных сред со специфическими субстратами, что позволит выявлять микромицеты отдельных видов благодаря образованию характерных метаболитов, взаимодействующих с матрицей.

Экспериментальная часть исследования выполнена в рамках темы Государственного задания Минздрава России «Генетические биомаркеры и биологические особенности *Candida auris* – возбудителя контактиозного инвазивного кандидоза», дизайн и повторный анализ диаграммы, показанной на рисунке 1, проведен при исполнении темы Государственного задания Минздрава России «Геномная эпидемиология множественно- и экстремально-устойчивых к анти-микробным препаратам, бактериальных и грибковых возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи».

ЛИТЕРАТУРА

1. Li D., Yi J., Han G., Qiao L. MALDI-TOF mass spectrometry in clinical analysis and research. ACS Meas. Sci. Au. 2022; 2 (5): 385-404. doi:10.1021/acsmeasuresciau.2c00019
2. Knochenmuss R. The coupled chemical and physical dynamics model of MALDI. Annu. Rev. Anal. Chem. (Palo Alto Calif). 2016; 9 (1): 365-85. doi:10.1146/annurev-anchem-071015-041750
3. Topić Popović N., Kazazić S.P., Bojanić K., et al. Sample preparation and culture condition effects on MALDI-TOF MS identification of bacteria: a review. Mass Spectrom. Rev. 2023; 42 (5): 1589-1603. doi:10.1002/mas.21739
4. Fukuyama Y. MALDI matrix research for biopolymers. Mass Spectrom. (Tokyo). 2015; 4 (1): A0037. doi:10.5702/massspectrometry.A0037
5. McMillen J.C., Fincher J.A., Klein D.R., et al. Effect of MALDI matrices on lipid analyses of biological tissues using MALDI-2 postionization mass spectrometry. J. Mass Spectrom. 2020; 55 (12): e4663. doi:10.1002/jms.4663
6. Lin X., Xiao C., Ling L., et al. A dual-mode reactive matrix for sensitive and quantitative analysis of carbohydrates by MALDI-TOF MS. Talanta. 2021; 235: 122792. doi:10.1016/j.talanta.2021.122792
7. Springer V., Zhou Y., Aguilera Á.Y., et al. User-friendly platform for analysis of high mass intact proteins and glycopeptides by laser desorption/ionization-mass spectrometry based on copper oxide particles. Anal. Bioanal. Chem. 2024; 416 (4): 861-872. doi:10.1007/s00216-023-05072-0
8. Strupat K., Karas M., Hillenkamp F. 2,5-Dihydroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption-ionization mass spectrometry. International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes. 1991; 111: 89-102. doi.org/10.1016/0168-1176(91)85050-V
9. Teearu A., Vahur S., Haljasorg U., et al. 2,5-Dihydroxybenzoic acid solution in MALDI-MS: ageing and use for mass calibration. J. Mass Spectrom. 2014; 49 (10): 970-9. doi:10.1002/jms.3395
10. Liang C.W., Lee C.H., Lin Y.J., et al. MALDI mechanism of dihydroxybenzoic acid isomers: desorption of neutral matrix and analyte. J. Phys. Chem. B. 2013; 117 (17): 5058-64. doi:10.1021/jp4015492
11. Mery A., Jawhara S., François N., et al. Identification of fungal trehalose for the diagnosis of invasive candidiasis by mass spectrometry. Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj. 2022; 1866 (4): 130083. doi:10.1016/j.bbagen.2022.130083.
12. Shrestha B. Matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI). Introduction to Spatial Mapping of Biomolecules by Imaging Mass Spectrometry. Ed. by B. Shrestha. Elsevier, 2021: 61-67.
13. Liu Q., Li X., Sun C., et al. Effects of mixed cultures of *Candida tropicalis* and aromatizing yeast in alcoholic fermentation on the quality of apple vinegar. 3 Biotech. 2019; 9 (4): 128. doi:10.1007/s13205-019-1662-3
14. Morales D.K., Grahl N., Okegbe C., et al. Control of *Candida albicans* metabolism and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. mBio. 2013; 4 (1): e00526-12. doi:10.1128/mBio.00526-12
15. Shirota T., Hoshina K. Ionization detection of neutral 2,5-dihydroxy benzoic acid molecules in the matrix-assisted laser desorption/ionization plume by ultraviolet laser post-ionization: Correlation between internal energy distribution and thermal decomposition rate. International Journal of Mass Spectrometry. 2023; 490: 117086. doi.org/10.1016/j.ijms.2023.117086
16. Wallace W.E., Arnould M.A., Knochenmuss R. 2,5-Dihydroxybenzoic acid: laser desorption/ionization as a function of elevated temperature. International Journal of Mass Spectrometry. 2005; 242 (1): 13-22.

Поступила в редакцию журнала 18.09.25

Принята к печати 12.10.25

