

Антибактериальное действие оксида азота на возбудители госпитальной пневмонии (экспериментальное исследование)

Т. П. Калашникова^{1*}, Ю. А. Арсеньева¹, Н. О. Каменщиков¹, Ю. К. Подоксеннов¹, И. В. Кравченко¹, М. В. Чубик², М. Р. Карпова², А. Е. Мышова², С. А. Быконя³, С. С. Ракитин³, М. С. Козулин¹, Б. Н. Козлов¹, А. А. Бощенко¹

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, д. 111А

² Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2

³ Томская областная клиническая больница, Россия, 634063, г. Томск, ул. И. Черных, д. 96

Для цитирования: Т. П. Калашникова, Ю. А. Арсеньева, Н. О. Каменщиков, Ю. К. Подоксеннов, И. В. Кравченко, М. В. Чубик, М. Р. Карпова, А. Е. Мышова, С. А. Быконя, С. С. Ракитин, М. С. Козулин, Б. Н. Козлов, А. А. Бощенко. Антибактериальное действие оксида азота на возбудители госпитальной пневмонии (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2024; 20 (3): 32–41. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2024-3-2424> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Калашникова Татьяна Петровна, Kalashnikova-t@mail.ru

Резюме

Цель исследования: оценить антимикробное действие оксида азота (NO) *in vitro* при однократном и многократном воздействии на основные возбудители внутрибольничной пневмонии, выделенные из мокроты кардиохирургических пациентов.

Материалы и методы. Суточную культуру микроорганизмов из панрезистентных изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из мокроты стационарных кардиохирургических пациентов с внутрибольничной пневмонией, а также музейные культуры *P. aeruginosa* и *E. coli* из Американской коллекции типовых культур подвергали воздействию NO в дозе 200 ppm в герметичной камере в течение 30 мин (экспериментальный образец) или медицинского воздуха (контрольный образец). После однократного либо 4-кратного с интервалом в 4 ч воздействия газов чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C, результаты оценивали через 24, 48 ч либо через 12, 24, 36 и 48 ч соответственно. Выращенные колонии подсчитывали с помощью автоматического счетчика колоний. Результаты выражали в КОЕ/мл.

Результаты. Через 24 и 48 ч после однократного воздействия NO ни в одном случае не наблюдали роста клинических изолятов *P. aeruginosa* и *E. coli*. Рост *A. baumannii* был меньше по сравнению с контролем через 24 ч, но его непрерывный рост отметили через 48 ч. Эффекта NO в дозе 200 ppm при однократном воздействии на другие микроорганизмы не обнаружили. После 4 воздействий NO рост музейной культуры *E. coli* так и не обнаружили, рост других экспериментальных штаммов был значительно снижен по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Заключение. Представленные результаты могут служить предпосылкой начала применения многократной прерывистой ингаляционной NO-терапии в дозе 200 ppm при лечении пациентов с внутрибольничной бактериальной пневмонией.

Ключевые слова: оксид азота; NO; *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; госпитальная пневмония

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 122123000017-3.

Antibacterial Effect of Nitric Oxide on the Causative Agents of Hospital-Acquired Pneumonia (Experimental Study)

Tatiana P. Kalashnikova^{1*}, Yulia A. Arsenyeva¹, Nikolay O. Kamenshchikov¹, Yuri K. Podoksenov¹, Igor V. Kravchenko¹, Marianna V. Chubik², Mariia R. Karpova², Alexandra E. Myshova², Svetlana A. Bykonja³, Sergei S. Rakitin³, Maksim S. Kozulin¹, Boris N. Kozlov¹, Alla A. Boshchenko¹

¹ Research Institute for Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111A Kievskaya Str., 634012 Tomsk, Russia

² Siberian State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 2 Moskovsky tract, 634050 Tomsk, Russia

Summary

The aim of the study was to evaluate the antimicrobial effect of single and repeated nitric oxide (NO) exposure on the major pathogens of nosocomial pneumonia isolated from the sputum of cardiac surgery patients.

Materials and Methods. A 24-hour culture of microorganisms from pan-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, and *Klebsiella pneumoniae* from the sputum of inpatient cardiac surgery patients with nosocomial pneumonia, as well as strains of *P. aeruginosa* and *E. coli* from the American Type Culture Collection (ATCC), were exposed to 200 ppm NO (experimental sample) or medical air (control sample) in a sealed chamber for 30 minutes. After a single or 4 repeated gas exposure at 4 h intervals, Petri dishes were placed in a thermostat at 37°C and the results were evaluated at 24 and 48 h or at 12, 24, 36 and 48 h, respectively. Grown colonies were counted using an automated colony counter and recorded as CFU/mL.

Results. No growth of clinical isolates of *P. aeruginosa* and *E. coli* was observed 24 and 48 h after a single exposure to NO. Growth of *A. baumannii* was lower compared to controls at 24 h but continued at 48 h. No effect of a single exposure to 200 ppm NO on other microorganisms was observed. After 4 exposures to NO, the growth of ATCC *E. coli* was not detected, the growth of other experimental strains was significantly lower compared to the control ($P < 0.05$).

Conclusion. Our results provide a rationale for the use of multiple intermittent inhalation of 220 ppm NO for the treatment of patients with hospital-acquired bacterial pneumonia.

Keywords: nitric oxide; NO; *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; hospital-acquired pneumonia

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was carried out under the government order No. 122123000017-3.

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Летальность от инфекций, вызванных бактериями с множественной лекарственной устойчивостью, ежегодно растет во всем мире. На сегодняшний день более 700 тыс. смертей в год происходят по причине устойчивых инфекций, к 2050 г. эта цифра может вырасти до 10 млн. [1, 2]. Эксперты всего мира предупреждают о высоком риске наступления постантибиотической эпохи [2]. В 2017 г. Всемирная Организация Здравоохранения опубликовала список патогенов, для которых необходимо создание новых антимикробных препаратов. В нем, в особенно приоритетной категории, выделены карбапенеморезистентные Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* [3, 4]. Эти патогены являются основными возбудителями госпитальных пневмоний и представляют угрозу общественному здоровью во всем мире [5]. Однако разработка новых антимикробных препаратов с момента создания молекулы до выхода препарата на рынок занимает десятилетия. При этом параллельно с введением и использованием антибиотика в клинической практике начинается рост резистентности к нему.

Исследователи по всему миру работают над проблемой повышения эффективности антибактериальной терапии. С этой точки зрения использование оксида азота (NO) в медицинских целях является очень перспективным, поскольку в последние годы появились данные о его антимикробных свойствах. Описана противовирусная эффективность данной молекулы [6–18], успешное применение при лечении инфи-

цированных ран [19–23], легочной инфекции у больных муковисцидозом [24–27]. Описана способность NO разрушать бактериальные биопленки, являющиеся причиной псевдорезистентности к антибиотикам [28–35]. Исследуется способность NO подавлять рост ряда микроорганизмов *in vitro* [36–39], описано снижение бактериальной нагрузки под его воздействием у крыс на модели пневмонии, вызванной синегнойной палочкой [40]. Появился опыт применения NO как спасительной терапии у больных муковисцидозом, сопровождающейся снижением микробной нагрузки и клиническим улучшением течения легочной инфекции [41–44]. Применение NO особенно актуально при лечении инфекций, вызванных патогенами с множественной лекарственной устойчивостью, поскольку механизмы его антимикробного действия отличаются от механизмов действия традиционных антибиотиков [25, 45, 46].

Для успешного применения NO в качестве противомикробного средства в клинической практике необходимо определить его дозу, эффективную против конкретного патогена и, в то же время, безопасную для человека, а также необходимую продолжительность воздействия. Авторы сообщают о неоднородности чувствительности различных штаммов микроорганизмов к NO [36, 38, 41]. Большинство исследований показывают, что молекула NO демонстрирует свою антибактериальную активность в высоких дозах (≥ 160 частей на миллион (ppm)) [23–25, 36, 39–47]. Было установлено *in vitro*, что для полной гибели бактерий необходимо непре-

рывное воздействие высоких доз NO (≥ 160 ppm) в течение 2–10 ч, в зависимости от возбудителя [36, 38, 46]. Постоянное воздействие NO в такой концентрации на организм человека ограничено, поскольку оно приводит к метгемоглобинемии [39].

Большинство отечественных исследований, посвященных использованию высоких доз NO в качестве противомикробного агента, связано с его местным применением при лечении раневых процессов [48–53].

Исследования, посвященные высокодозной ингаляционной доставке NO, в отечественной литературе единичны [54, 55]. В настоящее время на сайте реестра клинических исследований Clinicaltrials.gov зарегистрированы 3 отечественных исследования по применению ингаляционного NO в дозе 200 ppm: RECORD Pilot NCT06162455 «High-dose Inhaled NO Therapy for the Prevention of Nosocomial Pneumonia After Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass», RECORD NCT06261827 «High-dose Inhaled NO Therapy for the pREvention of nosoCOMial Pneumonia After Cardiac Surgery Under caRDiopulmonary Bypass» и NO PNEUMONIA NCT06170372 «High-dose Inhalations of Nitric Oxide in the Treatment of Pneumonia».

Высокий интерес к ингаляционной NO-терапии в последние годы был вызван пандемией COVID-19. При этом большинство исследователей подчеркивают эффективность и безопасность периодической многократной NO-терапии высокими дозами (160–200 ppm) со средней продолжительностью каждой ингаляции у человека в течение 30 минут [8, 24, 25, 40–44, 56, 57], включая беременных женщин [11] и новорожденных [58].

Исследования, изучающие применение ингаляционного NO при бактериальной инфекции дыхательных путей, в современной литературе посвящены лишь лечению пациентов с муковисцидозом [40–44]. Таким образом, изучение возможности использования NO в качестве противомикробного средства при внутрибольничной бактериальной пневмонии представляется весьма актуальным.

Цель исследования — оценка антимикробного действия NO *in vitro* при однократном и многократном воздействии на основные возбудители внутрибольничной пневмонии, выделенные из мокроты кардиохирургических пациентов.

Материал и методы

Суточную культуру микроорганизмов из панрезистентных изолятов *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *A. baumannii* и *Klebsiella pneumoniae* из мокроты стационарных кардиохирургических пациентов с внут-

рибольничной пневмонией, а также музейные культуры *P. aeruginosa* и *E. coli* из Американской коллекции типовых культур выращивали на Эндо-агаре. Готовили бактериальную суспензию и доводили ее до 10^8 колониеобразующих единиц на мл (КОЕ/мл) путем визуального сравнения с соответствующим стандартом Макфарланда (0,5) [36]. 0,1 мл суспензии разводили стерильным физиологическим раствором 1:1000. По 2 мкл суспензии каждой культуры инокулировали в десять чашек Петри с Эндо-агаром с использованием откалиброванной бактериологической петли и шпателя методом «газонов». Все микроорганизмы были предоставлены Отделом лабораторной диагностики «Томской областной клинической больницы».

В первой части эксперимента, согласно слепой рандомизации 1:1, 5 из 10 чашек Петри подвергали воздействию NO в дозе 200 ppm в герметичной камере в течение 30 минут однократно (экспериментальный образец). Вторые 5 чашек Петри однократно подвергали воздействию медицинского воздуха в течение 30 мин (контрольный образец). Таким образом, для каждого микроорганизма провели серию из 10 вмешательств ($n=5$ в экспериментальном образце и $n=5$ в контрольном образце). NO, полученный плазмохимическим синтезом, проходил через линию подачи NO, которая была подключена к контуру доставки медицинского воздуха. Подачу синтезированного NO регулировали до достижения целевой концентрации 200 ppm. Полученная газовоздушная смесь через вирусно-бактериальный фильтр поступала в проточную камеру, куда помещали чашки Петри с исследуемыми микроорганизмами. Мониторинг концентрации NO осуществляли непрерывно на входе и выходе из проточной камеры. Выдержка чашек Петри с исследуемыми микроорганизмами в газовоздушной смеси с содержанием NO 200 ppm составляла 30 мин.

Для контрольных образцов компрессор генерировал поток медицинского воздуха с объемной скоростью 5 литров в минуту. Полученная воздушная смесь через вирусно-бактериальный фильтр поступала в проточную камеру, куда помещали чашки Петри с исследуемыми микроорганизмами. Выдержка чашек Петри с исследуемыми микроорганизмами в воздушной смеси без NO составляла 30 мин.

После воздействия NO или медицинского воздуха чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C. Результат оценивали через 24 и 48 ч.

Во второй части эксперимента с помощью той же методики оценивали влияние многократного воздействия NO в дозе 200 ppm на микроорганизмы. Для этого панрезистентные штаммы *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, выделенные из мокроты пациентов с внутрибольничной пневмонией, а также музейные культуры *P. aeruginosa* и *E. coli* из Американской коллекции типовых культур подвергали воздействию NO (экспериментальные образцы) или медицинского воздуха (контрольные образцы) в течение 30 мин 4 раза с интервалом в 4 ч. Для каждого микроорга-

низма провели серию из 10 вмешательств ($n=5$ в экспериментальном образце и $n=5$ в контрольном образце). После каждого воздействия газов чашки Петри помещали в термостат при температуре 37°C до окончания эксперимента.

Эксперимент проводили в 2 этапа.

Этап 1. Выращивание однодневной культуры бактерий.

1. Приготовление эндо-агара. К 100 см³ холодной дистиллированной воды добавляли 4 г сухой питательной среды, тщательно перемешивали и кипятили в течение 3–5 мин, избегая пригорания. После охлаждения до 40–50°C питательную среду разливали в стерильные пробирки, располагая их под углом для получения агаровых наклонов.

2. Приготовление суточной культуры бактерий. На наклонный эндо-агар инокулировали 6 штаммов бактерий: панрезистентные изоляты *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae* из мокроты пациентов с внутрибольничной пневмонией, а также музейные культуры *P. aeruginosa* и *E. coli* из Американской коллекции типовых культур. Бактериальные штаммы выращивали в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч.

Этап 2. Приготовление бактериальной суспензии и воздействие NO.

1. Приготовление бактериальной суспензии. В пробирки с выращенной однодневной культурой микроорганизмов добавляли 5 мл стерильного раствора 0,9% NaCl. Для получения суспензии пробирки помещали на платформу термошейкера PST-60HL и выдерживали при температуре 30°C в течение 10 мин.

2. Разведение бактериальной суспензии. Используя стерильные пипетки, из пробирок отбирали по 5 мл бактериальной суспензии и помещали в пробирки из боросиликатного стекла. Оптическую плотность суспензии измеряли с помощью денситометра Biosan Den-1B и доводили с помощью стерильного 0,9% раствора NaCl до 0,5 стандарта Макфарланда (до 10⁸ КОЕ/мл).

3. Посев на чашки Петри. 0,1 мл суспензии разводили стерильным 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:1000. 2 мкл суспензии инокулировали в чашки Петри с плотной питательной средой Endo с использованием откалиброванной бактериологической петли и шпателя методом «газонов».

Каждую культуру микроорганизмов высевали на 2 чашки Петри.

Планшеты с культурами обрабатывали NO 200 ppm или медицинским воздухом в течение 30 мин один или 4 раза с интервалом в 4 ч. После каждой обработки в соответствии с протоколом 4-кратного использования планшеты помещали в термостат при температуре 37°C. Результаты оценивали через 12, 24, 36, 48 ч инкубации: выращенные колонии подсчитывали с помощью автоматического счетчика колоний Scan 1200, Interscience. Результаты выражали в КОЕ/мл. В каждом случае после завершения периода инкубации проводили идентификацию микроорганизмов.

Статистическую обработку результатов выполняли в программах STATISTICA 10 и IBM SPSS Statistics 26. Количественные показатели представили медианой и межквартильным промежутком, *Me* [Q1; Q3]. Количественные показатели на 4 этапах измерения для связанных выборок сравнивали по критерию Фридмана. Количественные показатели между группами на каждом этапе исследования сравнивали по критерию Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Через 24 и 48 ч после однократного воздействия ни в одном случае не наблюдали роста клинических изолятов *P. aeruginosa* и *E. coli*. Рост *A. baumannii* был меньше по сравнению с контролем через 24 ч, но его непрерывный рост отметили через 48 ч. Полученный результат дает основание заключить, что однократное воздействие NO 200 ppm в течение 30 мин оказывало бактерицидное действие против панрезистентных штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli* и бактериостатическое действие против панрезистентных штаммов *A. baumannii*. Что касается других микроорганизмов, взятых в эксперимент, то эффекта NO в дозе 200 ppm при однократном воздействии не обнаружили. Поэтому решили подвергнуть эти штаммы повторному воздействию NO в той же концентрации.

После 4 воздействий NO с интервалом в 4 ч рост музейной культуры *E. coli* так и не обнаружили, рост других экспериментальных штаммов был значительно снижен по сравнению с контролем (табл.).

При этом для *P. aeruginosa* и *E. coli* значительные различия в росте по сравнению с контролем наблюдали через 36 и 48 часов после первого воздействия NO, для *A. baumannii* — через 12, 24, 36 и 48 ч и для *K. pneumoniae* — через 12, 36 и 48 ч (табл.).

Результаты повторного воздействия NO по сравнению с контрольной группой через 24 и 48 ч показали на рисунке.

Таким образом, повторное воздействие NO вызывает гибель музейного штамма *E. coli*, значительно подавляет рост *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и музейной культуры *P. aeruginosa*.

При сравнении количества КОЕ/мл во временных точках 12, 24, 36 и 48 ч для каждого микроорганизма статистически значимых различий не обнаружили (табл.).

Ключевым результатом работы является доказательство антимикробного действия NO на основные возбудители внутрибольничной пневмонии у кардиохирургических пациентов, включая штаммы микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. Более того, однократное воздействие NO в дозе 200 ppm в течение 30 минут полностью подавляло рост

Таблица. Результаты многократного воздействия NO на исследуемые культуры микроорганизмов, Me [25; 75].

Микроорганизмы	Образцы	КОЕ/мл после последней обработки газовой смесью				<i>p</i>
		Через 12 ч	Через 24 ч	Через 36 ч	Через 48 ч	
<i>P. aeruginosa</i> Американской коллекции типовых культур	NO, <i>n</i> =5	23,5 [22; 24,5]	25 [24; 26]	23,5 [22; 24]	23 [22; 24,5]	0,059
	Контроль, <i>n</i> =5	38,5 [36; 39,5]	40 [37; 41]	39,5 [38; 43]	40 [38,5; 41,5]	0,061
	<i>p</i>	0,054	0,2	0,0025	0,0015	
<i>E. coli</i> Американской коллекции типовых культур	NO, <i>n</i> =5	0 [11,5; 13]	0 [11,5; 13]	0 [12,5; 13,5]	0 [12; 14]	—
	Контроль, <i>n</i> =5	12 [11,5; 13]	12 [11,5; 13]	13 [12,5; 13,5]	13 [12; 14]	0,054
	<i>p</i>	0,051	0,051	0,0048	0,0048	
<i>A. baumannii</i> (панрезистентный штамм)	NO, <i>n</i> =5	13,5 [11; 14]	15 [12; 16,5]	15 [11; 16,5]	15 [13; 15,5]	0,061
	Контроль, <i>n</i> =5	54,5 [51,5; 59]	55 [53; 58,5]	55 [51,5; 56]	55,5 [54,5; 58]	0,059
	<i>p</i>	0,004	0,0195	0,044	0,018	
<i>K. pneumoniae</i> (панрезистентный штамм)	NO, <i>n</i> =5	24 [23,5; 25]	27 [25,5; 28]	26,5 [25,5; 27]	27 [23; 30]	0,062
	Контроль, <i>n</i> =5	53 [49,5; 54]	54 [51; 57]	53 [52,5; 57,6]	53 [52,5; 54,5]	0,058
	<i>p</i>	0,0013	0,51	0,022	0,039	

Примечание. Сравнение между группами проводили с помощью теста Манна-Уитни; внутри групп — с помощью теста Фридмана.

клинических изолятов *P. aeruginosa* и *E. coli*. Эффект оставался стабильным даже после 48 ч наблюдения. Рост *A. baumannii* через 24 ч после однократного воздействия NO уменьшился по сравнению с контрольными образцами, однако через 48 ч этот эффект исчез. После многократного воздействия NO роста музейного штамма *E. coli* не наблюдали, рост других изученных микроорганизмов был менее выражен, чем в контроле.

Внутрибольничная пневмония является одним из распространенных инфекционных осложнений у кардиохирургических пациентов. Ее частота, по разным данным, колеблется от 2 до 36%, в зависимости от вида хирургического вмешательства [59–66]. Основные патогены представлены энтеробактериями (включая *K. pneumoniae* и *E. coli*), *A. baumannii*, *P. aeruginosa* [67]. Больничные штаммы микроорганизмов характеризуются высоким уровнем устойчивости к противомикробным препаратам, главным образом за счет выработки ферментов, разрушающих антибиотики. Это бета-лактамазы расширенного спектра действия и карбапенемазы [5, 67–74].

Основные режимы дозирования противомикробных препаратов указаны в инструкции к упаковке, которая является юридически значимым документом. Эти дозы рассчитаны на основе фармакокинетики и фармакодинамики препарата, чувствительности микроорганизма к антибиотику, на период его регистрации и получения разрешения на применение. Со временем происходит естественный процесс снижения чувствительности микроорганизма к противомикробным препаратам, что отражается в увеличении минимальной подавляющей концентрации. Для успешного лечения инфек-

ционных заболеваний, вызванных резистентными микроорганизмами, необходимо назначать все более высокие дозы антибактериальных препаратов. Врачу приходится балансировать на грани между терапевтическими и токсичными для макроорганизма дозами. В клинической практике трудно выполнить эти условия. Например, у пациентов с почечной, печеночной недостаточностью требуется коррекция дозы антибиотиков, при этом сложно достичь требуемой терапевтической концентрации в очаге воспаления. Все чаще используются комбинации из двух, трех или более антибиотиков, одновременное введение антибактериальных препаратов одного класса. Это сопровождается повышением риска неблагоприятных побочных реакций и приводит к значительным экономическим тратам. В настоящее время тестируются различные методы доставки антибиотиков (например, ингаляционная доставка аминогликозидов), метод продленной инфузии и т. д. Одной из причин неэффективности антибактериальной терапии может быть суперинфицирование, то есть активация во время лечения другого этиологического штамма с иной чувствительностью к антибиотикам. Безуспешность антибактериальной терапии часто сопровождается изменением схем лечения, продлением его сроков, что может сопровождаться развитием таких осложнений, как антибиотик-ассоциированная диарея (вплоть до формирования язвенного колита) и присоединением грибковых инфекций. Часто клиницист сталкивается с несоответствием между определенной микробиологической лабораторией чувствительностью возбудителя к антибиотику и отсутствием клинического эффекта от его применения.

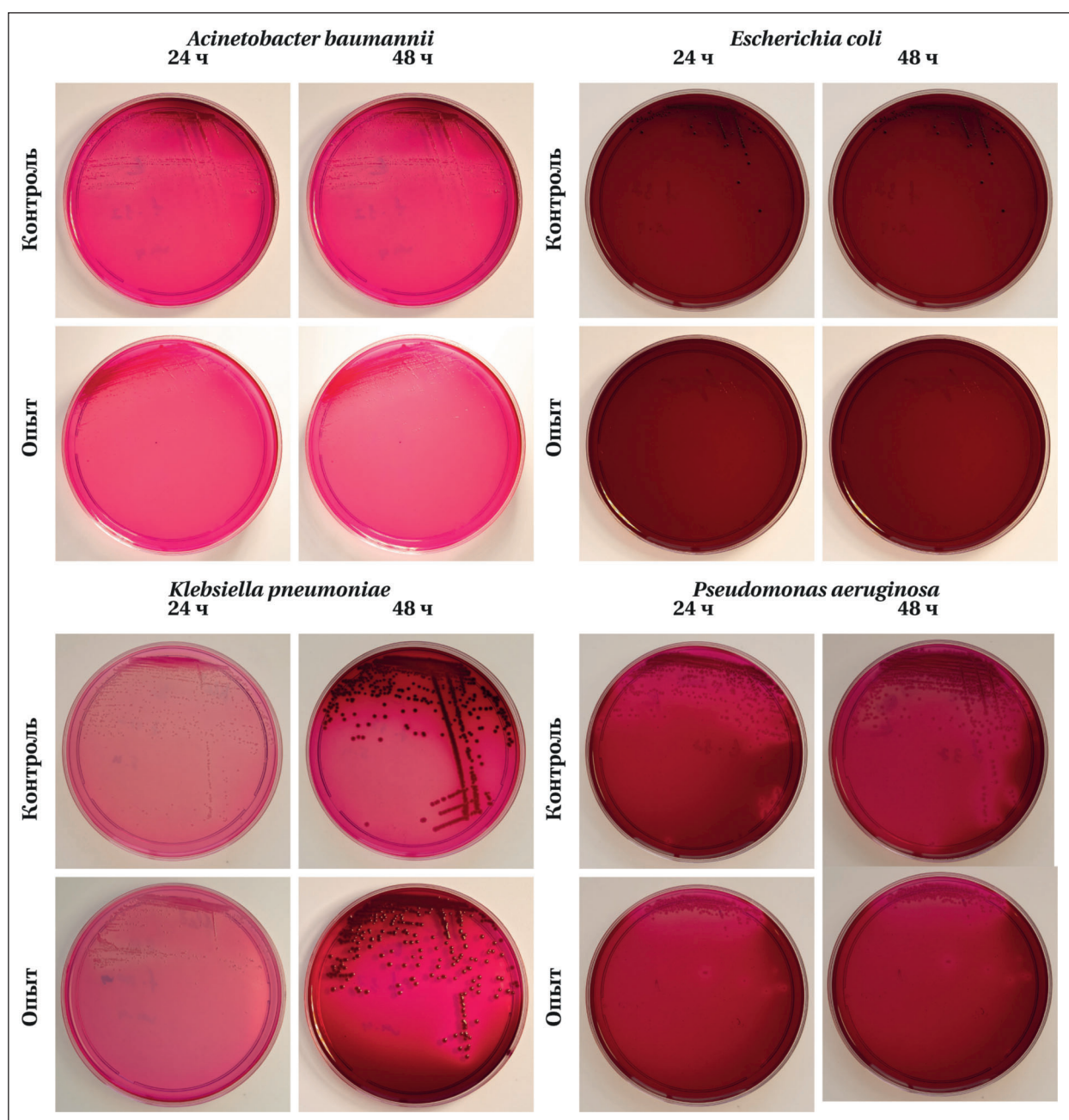


Рис. Визуальная оценка результата повторных воздействий NO на основные возбудители госпитальной пневмонии *in vitro*.

Внутрибольничная пневмония является наиболее распространенным инфекционным осложнением у пациентов, перенесших кардиохирургические операции [63–66]. Это связано с влиянием многих повреждающих факторов на легкие пациентов, перенесших кардиохирургические операции. После операции на сердце нарушается целостность и нормальная экскурсия грудной клетки, нарушается кашлевой рефлекс. В то же время основным первичным звеном в патогенезе внутрибольничной пневмонии является аспирация секрета ротоглотки пациента, колонизированного условно-патогенными микроорганизмами. У кардиохирур-

гических пациентов присутствуют такие факторы риска развития антибиотикорезистентности, как предшествующая терапия антибиотиками широкого спектра действия, частая встречаемость фермент-продуцирующих штаммов, тяжелая сопутствующая патология.

При выборе режима NO-терапии необходимо определить наиболее эффективную и в то же время безопасную для пациента разовую дозу, продолжительность каждой ингаляции и продолжительность общего курса терапии. Безопасность многократных ингаляций NO в течение 30 минут была доказана при лечении вирусной пневмонии [7, 8, 11]. Однако не установ-

лена выраженность и продолжительность антибактериального эффекта при 30-минутном периодическом воздействии NO.

Гипотезу о том, что многократное 30-минутное воздействие NO в дозе 200 ppm окажет антибактериальное действие на основные, в том числе панрезистентные, возбудители внутрибольничной пневмонии решили проверить в качестве клинически значимой модели NO-терапии *in vitro*.

Результаты исследования указывают на сохранение антимикробной эффективности NO при его периодическом повторном 30-минутном воздействии. В то же время продемонстрировали различную восприимчивость бактерий к действию NO, о чем также говорили некоторые другие авторы [36, 38, 41]. Это связано с тем, что микроорганизмы также могут обладать механизмами ферментной дезактивации оксида азота. Одним из таких ферментов является NO-редуктаза, которая преобразует NO в закись азота, а затем в азот. Вторым механизмом дезактивации NO является его окисление диоксигеназой. Кроме того, некоторые микробы могут вырабатывать собственный NO и использовать его для противодействия окислительному стрессу, вызванному внешним воздействием NO и его производных. В результате микробы проявляют различную чувствительность к NO. Это было продемонстрировано на примере распространенных респираторных патогенов, восприимчивость к которым была ранжирована (от самой высокой до самой низкой): *P. aeruginosa* > *Candida albicans* > *Staphylococcus aureus* > *K. pneumoniae* [75].

Результаты выполненного исследования демонстрируют целесообразность повторного

воздействия NO, поскольку значительное снижение роста *P. aeruginosa* и *E. coli* по сравнению с контролем наблюдали только через 36 и 48 ч, то есть после 4 воздействий NO.

Использование NO наиболее актуально при лечении пневмоний, вызванных резистентной флорой, поскольку механизмы антимикробного действия оксида азота отличаются от механизмов действия традиционных антибиотиков [25, 45, 46]. Кроме того, имеются наблюдения, описывающие восстановление чувствительности патогена к ряду антибиотиков в процессе лечения NO [43], в т. ч. микробных ассоциаций патогенов с различной чувствительностью к антибиотикам. Применение NO представляется многообещающим при развитии псевдорезистентности, связанной со способностью патогена образовывать биопленки, поскольку NO является «антибиопленочным» агентом [30]. Следует отметить, что NO-терапия не заменяет антибактериальную терапию при пневмонии, она должна применяться в сочетании с современными противомикробными препаратами.

Заключение

Установленное антимикробное действие NO в дозе 200 ppm на основные возбудители внутрибольничной пневмонии *in vitro* может служить предпосылкой для начала применения многократной прерывистой ингаляционной NO-терапии при внутрибольничной пневмонии. Это особенно актуально при пневмонии, вызванной бактериями с множественной лекарственной устойчивостью, а также у пациентов с факторами риска наличия резистентной флоры до получения результатов микробиологического исследования.

Литература

- Centers for Disease Control and Prevention Home Page (U.S.) (2019). Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Available online <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html> (accessed on 19 July 2023).
- World Health Organization home page. No time to wait: securing the future from drug-resistant infection. Available online <https://www.who.int/publications/i/item/no-time-to-wait-securing-the-future-from-drug-resistant-infections> (accessed on 19 July 2023).
- Jean S.S., Gould I.M., Lee W.S., Hsueh P.R., International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). New drugs for multidrug-resistant gram-negative organisms: time for stewardship. *Drugs*. 2019; 79 (7): 705–714. DOI: 10.1007/s40265-019-01112-1. PMID: 30972660.
- World Health Organization home page. Available online: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (Accessed on 19 July 2023).
- Hovan M.R., Narayanan N., Cedarbaum V., Bhowmick T., Kim T.J. Comparing mortality in patients with carbapenemase-producing carbapenem resistant Enterobacterales and non-carbapenemase-producing carbapenem resistant Enterobacterales bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021; 101 (4): 115505. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115505. PMID: 34399381.
- Kamenshchikov N.O., Berra L., Carroll R.W. Therapeutic effects of inhaled nitric oxide therapy in COVID-19 patients. *Biomedicine*. 2022; 10 (2): 369. DOI: 10.3390/biomedicine10020369. PMID: 35203578.
- Kamenshchikov N.O., Kozlov B.N., Dish A.Y., Podoksenov Y.K., Anfinogenova Y.D., Boshchenko A.A., Safaee B., et al. A safety study of intermittent versus continuous inhaled NO therapy in spontaneously breathing COVID-19 patients: a randomized controlled trial. *Circulation* 2021; 144 (Suppl 1). ID: covidwho-1633798.
- Fakhr B.S., Di Fenza R., Gianni S., Wiegand S.B., Miyazaki Y., Morais C.C.A., Gibson L.E., et al., Nitric Oxide Study Investigators. Inhaled high dose nitric oxide is a safe and effective respiratory treatment in spontaneous breathing hospitalized patients with COVID-19 pneumonia. *Nitric Oxide*. 2021; 116: 7–13. DOI: 10.1016/j.niox.2021.08.003. PMID: 34400339.
- Parikh R., Wilson C., Weinberg J., Gavin D., Murphy J., Reardon C.C. Inhaled nitric oxide treatment in spontaneously breathing COVID-19 patients. *Ther Adv Respir Dis*. 2020; 14: 1753466620933510. DOI: 10.1177/1753466620933510. PMID: 32539647.

10. Lei C., Su B., Dong H., Bellavia A., Di Fenza R., Fakhr B.S., Gianni S., et al. Protocol of a randomized controlled trial testing inhaled nitric oxide in mechanically ventilated patients with severe acute respiratory syndrome in COVID-19 (SARS-COV-2). *medRxiv*. Preprint. 2020; 03.09.20033530. DOI: 10.1101/2020.03.09.20033530. PMID: 32511534.
11. Fakhr B.S., Wiegand S.B., Pincioli R., Gianni S., Morais C.C.A., Ikeda T., Miyazaki Y., et al. High concentrations of nitric oxide inhalation therapy in pregnant patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Obstet Gynecol*. 2020; 136 (6): 1109–1113. DOI: 10.1097/AOG.00000000000004128. PMID: 32852324.
12. Sodano F., Gazzano E., Fruttero R., Lazzarato L. NO in viral infections: role and development of antiviral therapies. *Molecules*. 2022; 27 (7): 2337. DOI: 10.3390/molecules27072337. PMID: 35408735.
13. Lisi F., Zelikin A.N., Chandrawati R. Nitric oxide to fight viral infections. *Adv Sci (Weinh)*. 2021; 8 (7): 2003895. DOI: 10.1002/advs.202003895. PMID: 33850691.
14. Akaberi D., Krambrich J., Ling J., Luni C., Hedenstierna G., Järhult J.D., Lennerstrand J., et al. Mitigation of the replication of SARS-CoV-2 by nitric oxide in vitro. *Redox Biol*. 2020; 37: 101734. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101734. PMID: 33007504.
15. Pieretti J.C., Rubilar O., Weller R.B., Tortella G.R., Seabra A.B. Nitric oxide (NO) and nanoparticles — potential small tools for the war against COVID-19 and other human coronavirus infections. *Virus Res*. 2021; 291: 198202. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198202. PMID: 33086123.
16. Fang W., Jiang J., Su L., Shu T., Liu H., Lai S., Ghiladi R.A., et al. The role of NO in COVID-19 and potential therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med*. 2021; 163: 153–162. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.008. PMID: 33347987.
17. Oza P.P., Kashfi K. Utility of NO and H2S donating platforms in managing COVID-19: rationale and promise. *Nitric Oxide*. 2022; 128: 72–102. DOI: 10.1016/j.niox.2022.08.003. PMID: 36029975.
18. Chavda V.P., Patel A.B., Vora L.K., Singla R.K., Shah P., Uversky V.N., Apostolopoulos V. Nitric oxide and its derivatives containing nasal spray and inhalation therapy for the treatment of COVID-19. *Curr Pharm Des*. 2022; 28 (46): 3658–3670. DOI: 10.2174/1381612829666221024124848. PMID: 36284382.
19. Malone-Povolny M.J., Maloney S.E., Schoenfisch M.H. Nitric oxide therapy for diabetic wound healing. *Adv Healthc Mater*. 2019; 8 (12): e1801210. DOI: 10.1002/adhm.201801210. PMID: 30645055.
20. Kletschkus K., Haralambiev L., Mustea A., Bekeschus S., Stope M.B. Review of innovative physical therapy methods: introduction to the principles of cold physical plasma. *In Vivo*. 2020; 34 (6): 3103–3107. DOI: 10.21873/in vivo.12143. PMID: 33144413.
21. Shekhter A.B., Pekshev A.V., Vagapov A.B., Telpukhov V.I., Panyushkin P.V., Rudenko T.G., Fayzullin A.L., et al. Physicochemical parameters of NO-containing gas flow affect wound healing therapy. An experimental study. *Eur J Pharm Sci*. 2019; 128: 193–201. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.11.034. PMID: 30543840.
22. Pekshev A.V., Shekhter A.B., Vagapov A.B., Sharapov N.A., Vanin A.F. Study of plasma-chemical NO-containing gas flow for treatment of wounds and inflammatory processes. *Nitric Oxide*. 2018; 73: 74–80. DOI: 10.1016/j.niox.2017.06.002. PMID: 28602888.
23. Ghaffari A., Jalili R., Ghaffari M., Miller C., Ghahary A. Efficacy of gaseous nitric oxide in the treatment of skin and soft tissue infections. *Wound Repair Regen*. 2007; 15 (3): 368–377. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00239.x. PMID: 17537124.
24. Bentur L., Gur M., Ashkenazi M., Livnat-Levanon G., Mizrahi M., Tal A., Ghaffari A., et al. Pilot study to test inhaled nitric oxide in cystic fibrosis patients with refractory Mycobacterium abscessus lung infection. *J Cyst Fibros*. 2020; 19 (2): 225–231. DOI: 10.1016/j.jcf.2019.05.002. PMID: 31129068.
25. Deppisch C., Herrmann G., Graepler-Mainka U., Wirtz H., Heyder S., Engel C., Marschal M., et al. Gaseous nitric oxide to treat antibiotic resistant bacterial and fungal lung infections in patients with cystic fibrosis: a phase I clinical study. *Infection*. 2016; 44 (4): 513–520. DOI: 10.1007/s15010-016-0879-x. PMID: 26861246.
26. Hall J.R., Rouillard K.R., Suchyta D.J., Brown M.D., Ahonen M.J.R., Schoenfisch M.H. Mode of nitric oxide delivery affects antibacterial action. *ACS Biomater Sci Eng*. 2020; 6 (1): 433–441. DOI: 10.1021/acsbmaterials.9b01384. PMID: 32671191.
27. Chau T., Blade K., Da Silva J., Ghaffari A., Zelazny A., Olivier K. High efficacy of high-dose nitric oxide and its synergistic effect with antibiotics against Mycobacterium Abscessus. *European Respiratory Journal*. 2019; 54: OA4950. DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.OA4950.
28. Sulemankhil I., Ganopolsky J.G., Dieni C.A., Dan A.F., Jones M.L., Prakash S. Prevention and treatment of virulent bacterial biofilms with an enzymatic nitric oxide-releasing dressing. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56 (12): 6095–103. DOI: 10.1128/AAC.01173-12. PMID: 22948868.
29. Waite R.D., Stewart J.E., Stephen A.S., Allaker R.P. Activity of a nitric oxide-generating wound treatment system against wound pathogen biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2018; 52 (3): 338–343. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2018.04.009. PMID: 29665443.
30. Howlin R.P., Cathie K., Hall-Stoodley L., Cornelius V., Duignan C., Allan R.N., Fernandez B.O., et al. Low-dose nitric oxide as targeted anti-biofilm adjunctive therapy to treat chronic Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis. *Mol Ther*. 2017; 25 (9): 2104–2116. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.06.021. PMID: 28750737.
31. Hasan S., Albayaty Y.N.S., Thierry B., Prestidge C.A., Thomas N. Mechanistic studies of the antibiofilm activity and synergy with antibiotics of isosorbide mononitrate. *Eur J Pharm Sci*. 2018; 115: 50–56. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.01.003. PMID: 29305985.
32. Ren H., Wu J., Colletta A., Meyerhoff M.E., Xi C. Efficient eradication of mature Pseudomonas aeruginosa biofilm via controlled delivery of nitric oxide combined with antimicrobial peptide and antibiotics. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1260. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01260. PMID: 27582732.
33. Zemke A.C., Madison C.J., Kasturiarachi N., Pearce L.L., Peterson J. Antimicrobial synergism toward Pseudomonas aeruginosa by gallium (III) and inorganic nitrite. *Front Microbiol*. 2020; 11: 2113. DOI: 10.3389/fmicb.2020.02113. PMID: 32983071.
34. Rouillard K.R., Novak O.P., Pistiolis A.M., Yang L., Ahonen M.J.R., McDonald R.A., Schoenfisch M.H. Exogenous nitric oxide improves antibiotic susceptibility in resistant bacteria. *ACS Infect Dis*. 2021; 7 (1): 23–33. DOI: 10.1021/acsinfectdis.0c00337. PMID: 33291868.
35. Poh W.H., Rice S.A. Recent developments in nitric oxide donors and delivery for antimicrobial and anti-biofilm applications. *Molecules*. 2022; 27 (3): 674. DOI: 10.3390/molecules27030674. PMID: 35163933.
36. Ghaffari A., Miller C.C., McMullin B., Ghahary A. Potential application of gaseous nitric oxide as a topical antimicrobial agent. *Nitric Oxide*. 2006; 14 (1): 21–29. DOI: 10.1016/j.niox.2005.08.003. PMID: 16188471.
37. Ghaffari A., Neil D.H., Ardakani A., Road J., Ghahary A., Miller C.C. A direct nitric oxide gas delivery system for bacterial and mammalian cell cultures. *Nitric Oxide*. 2005; 12 (3): 129–140. DOI: 10.1016/j.niox.2005.01.006. PMID: 15797841.
38. Miller C.C., Rawat M., Johnson T., Av-Gay Y. Innate protection of Mycobacterium smegmatis against the antimicrobial activity of nitric oxide is provided by mycothiol. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51 (9): 3364–3366. DOI: 10.1128/AAC.00347-07. PMID: 17638697.
39. Miller C., McMullin B., Ghaffari A., Stenzler A., Pick N., Roscoe D., Ghahary A., et al. Gaseous nitric oxide bactericidal

- activity retained during intermittent high-dose short duration exposure. *Nitric Oxide*. 2009; 20 (1): 16–23. DOI: 10.1016/j.niox.2008.08.002. PMID: 18789393.
40. Miller C.C., Hergott C.A., Rohan M., Arsenault-Mehta K., Döring G., Mehta S. Inhaled nitric oxide decreases the bacterial load in a rat model of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *J Cyst Fibros*. 2013; 12 (6): 817–820. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.01.008. PMID: 23481089.
 41. Bogdanovski K., Chau T., Robinson C.J., MacDonald S.D., Peterson A.M., Mashek C.M., Wallin W.A., et al. Antibacterial activity of high-dose nitric oxide against pulmonary Mycobacterium abscessus disease. *Access Microbiol*. 2020; 2 (9): acmi000154. DOI: 10.1099/acmi.0.000154. PMID: 33195983.
 42. Yaacoby-Bianu K., Gur M., Toukan Y., Nir V., Hakim F., Geffen Y., Bentur L. Compassionate nitric oxide adjuvant treatment of persistent Mycobacterium infection in cystic fibrosis patients. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37 (4): 336–338. DOI: 10.1097/INF.0000000000001780. PMID: 28885458.
 43. Bartley B.L., Gardner K.J., Spina S., Hurley B.P., Campeau D., Berra L., Yonker L.M., et al. High-dose inhaled nitric oxide as adjunct therapy in cystic fibrosis Targeting Burkholderia multivorans. *Case Rep Pediatr*. 2020; 2020: 1536714. DOI: 10.1155/2020/1536714. PMID: 32685229.
 44. Goldbart A., Gatt D., Tripto I.G. Non-tuberculous mycobacteria infection treated with intermittently inhaled high-dose nitric oxide. *BMJ Case Rep*. 2021; 14 (10): e243979. DOI: 10.1136/bcr-2021-243979. PMID: 34711619.
 45. Sorbo L.D., Michaelsen V.S., Ali A., Wang A., Ribeiro R.V.P., Cypel M. High doses of inhaled nitric oxide as an innovative antimicrobial strategy for lung infections. *Biomedicines*. 2022; 10 (7): 1525. DOI: 10.3390/biomedicines10071525. PMID: 35884830.
 46. Schairer D.O., Chouake J.S., Nosanchuk J.D., Friedman A.J. The potential of nitric oxide releasing therapies as antimicrobial agents. *Virulence*. 2012; 3 (3): 271–279. DOI: 10.4161/viru.20328. PMID: 22546899.
 47. McMullin B.B., Chittock D.R., Roscoe D.L., Garcha H., Wang L., Miller C.C. The antimicrobial effect of nitric oxide on the bacteria that cause nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *Respir Care*. 2005; 50 (11): 1451–1456. PMID: 16253152.
 48. Табуйка А.В. Опыт применения плазменного воздействия в сочетании с NO-терапией при лечении хронических ран разной этиологии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2023; 10: 143–149. Tabuika A.V. Experience in the use of plasma exposure with the use of NO therapy in the treatment of chronic wounds of various etiologies. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Khirurgiya (Mosk)*. 2023; 10: 143–149. (in Russ.). DOI: 10.17116/hirurgia2023101143. PMID: 37916569.
 49. Кузнецов М.С., Насрашвили Г.Г., Панфилов Д.С., Кожанов Р.С., Пряхин А.С., Шипулин В.М., Козлов Б.Н. Влияние комбинированного метода воздушно-плазменных потоков и NO-терапии на показатели системы крови при лечении инфекционных раневых осложнений в кардиохирургии. *Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченко*. 2021; 8 (1): 30–41. Kuznetsov M.S., Nasrashvili G.G., Panfilov D.S., Kozhanov R.S., Pryakhin A.S., Shipulin V.M., Kozlov B.N. Influence of the combined method of air plasma flows and NO therapy on the blood system parameters in treatment of infectious wound complications in cardiac surgery. *Wounds and wound infections. The journal named after prof. B.M. Kostyuchenka = Rany i Ranevye Infekcii. Zhurnal im. prof. B.M. Kostyuchenka*. 2021; 8 (1): 30–41. (in Russ.). DOI: 10.25199/2408-9613-2021-8-1-30-41.
 50. Ачкасов Е.Е., Есипов А.В., Пекшев А.В., Мусаилов В.А. Использование аппарата генерации экзогенного монооксида азота в лечении перитонитов. *Медицинская техника*. 2018; 1: 47–50. Achkasov E.E., Esipov A.V., Pekshev A.V., Musailov V.A. The use of an apparatus for generating exogenous nitrogen monoxide in treatment of peritonitis. *Medical equipment= Meditsinskaya Tehnika*. 2018; 1: 47–50. (in Russ.).
 51. Кабисов Р.К., Шехтер А.Б., Пекишев А.В., Решетов И.В., Манейлова М.В., Николаев А.Л., Ерохов С.В., с соавт. Роль экзогенной NO-терапии в системе комплексного лечения ран и раневой патологии у онкологических больных. *Российский онкологический журнал*. 2000; 4: 16–22. Kabisov R.K., Shekhter A.B., Pekshev A.V., Reshetov I.V., Maneylova M.V., Nikolaev A.L., Erokhov S.V., et al. The role of exogenous NO therapy in comprehensive treatment system of wounds and wound pathology in cancer patients. *Russian Journal of Oncology= Ross Zhurnal Oncologii*. 2000; 4: 16–22. (in Russ.).
 52. Григорьян А.С., Грудянов А.И., Фролова О.А., Антипова З.П., Ерохин А.И., Шехтер А.Б., Пекишев А.В. Применение нового биологического фактора — экзогенного оксида азота — при хирургическом лечении пародонтита. *Стоматология*. 2001; 80 (1): 80–83. Grigoryan A.S., Grudyanov A.I., Frolova O.A., Antipova Z.P., Erokhin A.I., Shekhter A.B., Pekshev A.V. The use of a new biological factor — exogenous nitric oxide — in surgical treatment of periodontitis. *Dentistry= Stomatologiya*. 2001; 80 (1): 80–83. (in Russ.).
 53. Лунатов К.В., Сопроматдзе М.А., Шехтер А.Б., Емельянов А.Ю., Грачев С.В. Использование газового потока, содержащего оксид азота (NO-терапия) в комплексном лечении гнойных ран. *Хирургия*. 2002; 2: 41–4354. Lipatov K.V., Sopromadze M.A., Shekhter A.B., Yemelyanov A.Yu., Grachev S.V. The use of a gas flow containing nitric oxide (NO-therapy) in comprehensive management of purulent wounds. *Surgery= Khirurgiya*. 2002; 2: 41–4354. (in Russ.).
 54. Каменщиков Н.О., Кузнецов М.С., Дьякова М.Л., Подоксенов Ю.К., Калашикова Т.П., Тё М.А., Чурилина Е.А., с соавт. Ингаляционная терапия коморбидного пациента с COVID-19 высокими дозами оксида азота: клинический случай. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2022; 37 (4): 180–187. DOI: 10.29001/2073-8552-2022-37-4-180-187. Kamenshchikov N.O., Kuznetsov M.S., Dyakova M.L., Podoksenov Yu.K., Kalashnikova T.P., Te M.A., Churilina E.A., et al. Inhalation therapy with high doses of nitric oxide in a comorbid patient with COVID-19: a clinical case. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine= Sibirskiy Zhurnal Eksperimental'noy i Klinicheskoy Meditsiny*. 2022; 37 (4): 180–187. (in Russ.). DOI: 10.29001/2073-8552-2022-37-4-180-187.
 55. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands can suppress viral infections as donors of the nitrosonium cation (hypothesis). *Biophysics (Oxf)*. 2020; 65 (4): 698–702. DOI: 10.1134/S0006350920040260. PMID: 33100351.
 56. Wiegand S.B., Fakhr B.S., Carroll R.W., Zapol W.M., Kacmarek R.M., Berra L. Rescue treatment with high-dose gaseous nitric oxide in spontaneously breathing patients with severe coronavirus disease 2019. *Crit Care Explor*. 2020; 2 (11): e0277. DOI: 10.1097/CCE.0000000000000277. PMID: 33225304.
 57. Gianni S., Fenza R.D., Morais C.C.A., Fakhr B.S., Mueller A.L., Yu B., Carroll R.W., et al. High-dose nitric oxide from pressurized cylinders and nitric oxide produced by an electric generator from air. *Respir Care*. 2022; 67 (2): 201–208. DOI: 10.4187/respcare.09308. PMID: 34413210.
 58. Goldbart A., Lavie M., Lubetzky R., Pillar G., Landau D., Schlesinger Y., Spiegel R., et al. Inhaled nitric oxide for the treatment of acute bronchiolitis: a multicenter randomized controlled clinical trial to evaluate dose response. *Ann Am Thorac Soc*. 2023; 20 (2): 236–244. DOI: 10.1513/AnnalsATS.202103-348OC. PMID: 36169967.
 59. Kinlin L.M., Kirchner C., Zhang H., Daley J., Fisman D.N. Derivation and validation of a clinical prediction rule for

- nosocomial pneumonia after coronary artery bypass graft surgery. *Clin Infect Dis*. 2010; 50 (4): 493–501. DOI: 10.1086/649925. PMID: 20085462.
60. Wang D.S., Huang X.F., Wang H.F., Le S., Du X.L. Clinical risk score for postoperative pneumonia following heart valve surgery. *Chin Med J (Engl)*. 2021; 134 (20): 2447–2456. DOI: 10.1097/CM9.0000000000001715. PMID: 34669637.
 61. Wang D., Chen X., Wu J., Le S., Xie F., Li X., Wang H., et al. Development and validation of nomogram models for postoperative pneumonia in adult patients undergoing elective cardiac surgery. *Front Cardiovasc Med*. 2021; 8: 750828. DOI: 10.3389/fcvm.2021.750828. PMID: 34708096.
 62. Wang D., Huang X., Wang H., Le S., Yang H., Wang F., Du X. Risk factors for postoperative pneumonia after cardiac surgery: a prediction model. *J Thorac Dis*. 2021; 13 (4): 2351–2362. DOI: 10.21037/jtd-20-3586. PMID: 34012584.
 63. Wang D., Lu Y., Sun M., Huang X., Du X., Jiao Z., Sun F., et al. Pneumonia after cardiovascular surgery: incidence, risk factors and interventions. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9: 911878. DOI: 10.3389/fcvm.2022.911878. PMID: 35845037.
 64. He S., Wu F., Wu X., Xin M., Ding S., Wang J., Ouyang H., et al. Ventilator-associated events after cardiac surgery: evidence from 1,709 patients. *J Thorac Dis*. 2018; 10 (2): 776–783. DOI: 10.21037/jtd.2018.01.49. PMID: 29607148.
 65. Greco G., Shi W., Michler R.E., Meltzer D.O., Ailawadi G., Hohmann S.E., Thourani V.H., et al. Costs associated with health care-associated infections in cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65 (1): 15–23. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.09.079. PMID: 25572505.
 66. Ailawadi G., Chang H.L., O'Gara P.T., O'Sullivan K., Woo Y.J., DeRose J.J. Jr, Parides M.K., et al. Pneumonia after cardiac surgery: experience of the National Institutes of Health/Canadian Institutes of Health Research Cardiot-horacic Surgical Trials Network. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017; 153 (6): 1384–1391.e3. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2016.12.055. PMID: 28341473.
 67. Bassetti M., Righi E., Vena A., Graziano E., Russo A., Peghin M. Risk stratification and treatment of ICU-acquired pneumonia caused by multidrug-resistant/extensively drug-resistant/pandrug-resistant bacteria. *Curr Opin Crit Care*. 2018; 24 (5): 385–393. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000534. PMID: 30156569.
 68. Mariappan S., Sekar U., Kamalanathan A. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Int J Appl Basic Med Res*. 2017; 7 (1): 32–39. DOI: 10.4103/2229-516X.198520. PMID: 28251105.
 69. Bassetti M., Carnelutti A., Peghin M. Patient specific risk stratification for antimicrobial resistance and possible treatment strategies in gram-negative bacterial infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017; 15 (1): 55–65. DOI: 10.1080/14787210.2017.1251840. PMID: 27766913.
 70. Igbinsola O., Dogho P., Osadiaye N. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a retrospective review of treatment and outcomes in a long-term acute care hospital. *Am J Infect Control*. 2020; 48 (1): 7–12. DOI: 10.1016/j.ajic.2019.07.006. PMID: 31431290.
 71. Burillo A., Muñoz P., Bouza E. Risk stratification for multidrug-resistant Gram-negative infections in ICU patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2019; 32 (6): 626–637. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000599. PMID: 31567570.
 72. Corcione S., Lupia T., Maraolo A.E., Pinna S.M., Gentile I., De Rosa F.G. Carbapenem-sparing strategy: carbapenemase, treatment, and stewardship. *Curr Opin Infect Dis*. 2019; 32 (6): 663–673. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000598. PMID: 31599774.
 73. Zhang Y., Guo L.Y., Song W.Q., Wang Y., Dong F., Liu G. Risk factors for carbapenem-resistant K. pneumoniae bloodstream infection and predictors of mortality in Chinese paediatric patients. *BMC Infect Dis*. 2018; 18 (1): 248. DOI: 10.1186/s12879-018-3160-3. PMID: 29855274.
 74. Nicolas-Chanoine M.H., Vigan M., Laouénan C., Robert J., E-carb Study Group. Risk factors for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a French case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019; 38 (2): 383–393. DOI: 10.1007/s10096-018-3438-9. PMID: 30488368.
 75. Bath P.M., Coleman C.M., Gordon A.L., Lim W.S., Webb A.J. Nitric oxide for the prevention and treatment of viral, bacterial, protozoal and fungal infections. *F1000Res*. 2021; 10: 536. DOI: 10.12688/f1000research.51270.2. PMID: 35685687.

Поступила 31.01.2024

Принята 17.04.2024

Принята в печать 29.05.2024