

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Ph.D., prof. (Russia)

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D., prof. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), Z.O. Karayev — M.D., prof. (Azerbaijan), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), A.K. Mirzabalaeva — M.D., prof. (Russia), S.M. Ozerskaya — Ph.D. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), Ye.V. Pronina — M.D., prof. (Russia), A.G. Rakhmanova — M.D., prof. (Russia), K.I. Raznatovsky — M.D., prof. (Russia), F.P. Romanyuk — M.D., prof. (Russia), A.V. Samzov — M.D., prof. (Russia), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), M.A. Shevyakov — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), A.A. Stepanova — Ph.D. (Russia), H.J. Tietz — M.D. (Germany), T.N. Trofimova — M.D., prof. (Russia), M.A. Viviani — M.D. (Italy), V.A. Zinzerling — M.D., prof. (Russia)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 16, № 3, 2014

North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute
of Medical Mycology (KRI MM)

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 16, № 3, 2014

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)
Научно-исследовательский институт
медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
(НИИ ММ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.П. Елинов — д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

Н.В. Васильева — д.б.н., профессор (Россия),

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

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор (Россия),
Дж. Беннетт — доктор медицины (США), С.А. Бурова —
д.м.н., профессор (Россия), М.А. Вивиани — доктор
медицины (Италия), В.И. Голубев — д.б.н., вед.н.с.
(Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция),
З.О. Караев — д.м.н., профессор (Азербайджан),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), В.Г. Кубась — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Липницкий — д.м.н., профессор (Россия),
В.И. Мазуров — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Ю.А. Медведев — д.м.н., профессор (Россия),
А.К. Мирзабалаева — д.м.н., профессор (Россия),
С.М. Озерская — д.б.н. (Россия), И. Полачек —
доктор медицины (Израиль), Е.В. Пронина — д.м.н.,
профессор (Россия), К.И. Разнатовский — д.м.н.,
профессор (Россия), А.Г. Рахманова — д.м.н.,
профессор (Россия), Ф.П. Романюк — д.м.н.,
профессор (Россия), А.В. Самцов — д.м.н., профессор
(Россия), А.В. Соболев — д.м.н., профессор (Россия),
А.А. Степанова — д.б.н. (Россия), Х.Й. Титц — доктор
медицины (Германия), Т.Н. Трофимова — д.м.н.,
профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н., проф.
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор
(Россия), Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия),
М.А. Шевяков — д.м.н., профессор (Россия)

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Елинов Н.П.</i> <i>Aspergillus persii</i> A.M. Korte и M. Zotti – новый вид и возбудитель онихомикоза у человека и <i>Aspergillus tanneri</i> K. Дж. Квон-Чунг, Дж.А. Сугуи и С.У. Петерсон – новый вид и возбудитель инвазивного рефрактерного заболевания	3
<i>Челпаченко О.Е., Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Андрущенко С.В., Данилова Е.И., Федотова Л.П.</i> Микробиологические аспекты антимикотической фитотерапии (обзор)	13
<i>Рябинин И.А.</i> Клинические случаи аспергиллеза, вызванные <i>Neosartorya</i> spp., и некоторые биологические свойства этих микромицетов (обзор)	20

СЛУЧАИ ИЗ ПРАКТИКИ

<i>Хостелиди С.Н., Шагдилеева Е.В., Сорокина М.М., Мелехина Ю.Э., Сатурнов А.В., Такуев Е.К., Ямов Л.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Мирзабалаева А.К., Клишко Н.Н.</i> Случай успешного лечения кандидозного перитонита (возбудитель – <i>Candida albicans</i>) у пациентки с острым панкреонекрозом	26
<i>Хостелиди С.Н., Мелехина Ю.Э., Горностаев Д.А., Семелев В.Н., Богомолова Т.С., Тыренко В.В., Клишко Н.Н.</i> Случай успешного лечения редкого микоза лёгких, вызванного <i>Acremonium</i> spp., у пациента с острым миелобластным лейкозом (М4Э0)	32

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Фролова Е.В., Шадризова О.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Волкова А.Г., Попова М.О. Зубаровская Л.С., Зюзгин И.С., Ружинская О.С., Богомолова Т.С., Васильева Н.В., Афанасьев Б.В., Клишко Н.Н.</i> Прогностическое значение иммунологических показателей у гематологических больных инвазивным аспергиллезом	37
<i>Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Клишко Н.Н.</i> Актиномикоз органов брюшной полости и малого таза	44
<i>Иванова Ю.А., Емельянова И.В.</i> Клинико-эпидемиологические особенности и эффективность терапии дерматомикозов у больных сахарным диабетом	51
<i>Раводин Р.А.</i> Интеллектуальная система поддержки принятия врачебных решений в дерматовенерологии	59
<i>Шахбазова Е.Н., Жадько Е.Н., Котляр Е.Ю., Захарова О.С., Килина Л.Н., Нагимова Ф.И., Галиуллин Н.И.</i> Лабораторная диагностика криптококкоза в республиканском центре по профилактике и борьбе со СПИД и другими инфекционными заболеваниями в городе Казани	66

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Степанова А.А., Васильева Н.В., Аравийский Р.А., Борзова Ю.В., Чернолятова Р.М., Десятник Е.А., Клишко Н.Н.</i> Электронно-микроскопическое изучение аспергиллеза легких человека на примере архивного биопсийного материала	70
<i>Ананьева Е.П., Гурина С.В., Алексеева Г.М.</i> Изучение условий культивирования и антиоксидантной активности мицелия базидиомицета <i>Phallus impudicus</i> (веселка обыкновенная)	80
<i>Чарушина И.П., Фельдблюм И.В., Александрова Г.А., Баландина С.Ю.</i> Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии инфекционного и хирургического стационаров	83
<i>Доршакова Е.В., Павлова И.Э., Богомолова Т.С., Чилина Г.А., Васильева Н.В.</i> Чувствительность штаммов <i>Stachybotrys</i> spp. к некоторым строительным биоцидам	87
<i>Пашинина О.А., Карташова О.Л., Уткина Т.М., Потехина Л.П.</i> Характеристика биологических свойств клинических изолятов <i>Candida albicans</i>	91

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Yelinov N.P.</i> <i>Aspergillus persii</i> A.M. Korte and M. Zotti – new species and pathogen of onychomycosis at man and <i>Aspergillus tanneri</i> K.J. Kwon-Chung, J.A. Sugui & S.W. Peterson – the new exciter of invasive aspergillosis in patients with chronic granulomatous disease (CGD)	3
<i>Chelpachenko O.E., Perunova N.B., Ivanova E.V., Andryushenko S.V., Danilova E.I., Fedotova L.P.</i> Microbiological aspects of antifungal herbal medicine (review)	13
<i>Ryabinin I.A.</i> Clinical cases of aspergillosis caused by <i>Neosartorya</i> spp. and some biological properties of these micromycetes (review)	20

CASES FROM PRACTICE

<i>Khostelidi S.N., Shagdilееva E.V., Sorokina M.M., Melekhina Yu.E., Saturnov A.V., Takuev E.K., Yamov L.V., Raush E.R., Bogomolova T.S., Vybornova I.V., Mirzabalaeva A.K., Klimko N.N.</i> Case of successful treatment of <i>Candida</i> peritonitis (pathogen – <i>Candida albicans</i>) at patients with acute pancreonecrosis	26
<i>Khostelidi S.N., Melekhina Y.E., Gornostaev D.A., Semelev V.N., Bogomolova T.S., Tirenko V.V., Klimko N.N.</i> Case of successful treatment of mycotic pneumonia caused by <i>Acremonium</i> spp. at patients with acute myeloid leukemia	32

CLINICAL MYCOLOGY

<i>Frolova E.V., Shadrivova O.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Volkova A.G., Popova M.O., Zubarovskaya L.S., Zjuzgin I.S., Ruzhinskaya O.S., Bogomolova T.S., Vasilyeva N.V., Afanasyev B.V., Klimko N.N.</i> Prognostic value of immunological parameters in hematological patients with invasive aspergillosis	37
<i>Kozlova O.P., Mirzabalaeva A.K., Klimko N.N.</i> Actinomycosis of abdominal cavity and small pelvis	44
<i>Ivanova Y.A., Emelyanova I.V.</i> Clinical and epidemiological peculiarities and effectiveness of dermatomycoses treatment in patients with diabetes mellitus	51
<i>Ravodin R.A.</i> Intellectual system to support medical decisions in dermatovenereology	59
<i>Shakhbazova E.N., Zhad'co E.N., Kotlyar E.J., Zakharova O.S., Kilina L.N., Nagimova F.I., Galiullin N.I.</i> Laboratory diagnostics of cryptococcosis in the republican center for AIDS and infectious diseases treatment and prophylaxis in the Kazan city	66

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

<i>Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Aravijskiy R.A., Borzova Y.V., Chernopiyatova R.M., Desiyatik E.A., Klimko N.N.</i> Electron-microscopic investigation of human lung aspergillosis by the example of archives biopsy material	70
<i>Ananjeva E.P., Gurina S.V., Alekseeva G.M.</i> Study of cultivation conditions and antioxydant activity of basidiomycet <i>Phallus impudicus</i> (fungus-fun ordinary)	80
<i>Charushina I.P., Feldblyum I.V., Aleksandrova G.A., Balandina S.J.</i> Comparative assessment of contamination by micromycetes of the hospital environment departments of reanimation and intensive therapy of infectious and surgical hospitals	83
<i>Dorchakova E.V., Pavlova I.E., Bogomolova T.S., Chulina G.A., Vasilyeva N.V.</i> The sensitivity of <i>Stachybotrys</i> spp. strains to some construction biocides	87
<i>Pashinina O.A., Kartashova O.L., Utkina T.M., Potekhina L.P.</i> Characteristic of biological properties of <i>Candida albicans</i> clinical isolates	91

ASPERGILLUS PERSII
A.M. KORTE И M.
ZOTTI – НОВЫЙ
ВИД И ВОЗБУДИТЕЛЬ
ОНИХОМИКОЗА У
ЧЕЛОВЕКА И ASPERGILLUS
TANNERI K. ДЖ. КВОН-
ЧУНГ, ДЖ.А. СУГУИ И
С.У. ПЕТЕРСОН – НОВЫЙ
ВИД И ВОЗБУДИТЕЛЬ
ИНВАЗИВНОГО
РЕФРАКТЕРНОГО
ЗАБОЛЕВАНИЯ

Елинов Н.П. (профессор кафедры)*

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

© Елинов Н.П., 2014

*В статье представлены материалы о новых видах аспергиллов – *Aspergillus persii*, вызывающим онихомикоз у человека, и *Aspergillus tanneri*, вызывающим инвазивный аспергиллёз (ИА) у лиц с хроническим гранулематозным заболеванием (ХГЗ). Рассмотрены их микро- и макроскопические характеристики клеток и колоний, выросших на разных питательных средах и при различных температурах, систематическое положение в ряду близко родственных видов и родов микромицетов, активность против них ряда антимикотиков.*

Я надеюсь, что представленные материалы будут интересными и полезными российским микологам.

Ключевые слова: *Aspergillus persii*, *A. tanneri*, инвазивный аспергиллёз, микро- и макроскопические характеристики видов, номенклатура, онихомикоз, хроническое гранулематозное заболевание

ASPERGILLUS PERSII
A.M. KORTE AND M.
ZOTTI – NEW SPECIES
AND PATHOGEN OF
ONYCHOMYCOSIS AT
MAN AND ASPERGILLUS
TANNERI K.J. KWON-
CHUNG, J.A. SUGUI & S.W.
PETERSON – THE NEW
EXCITER OF INVASIVE
ASPERGILLOSIS IN
PATIENTS WITH CHRONIC
GRANULOMATOUS
DISEASE (CGD)

Yelinov N.P. (professor of the chair)

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

© Yelinov N.P., 2014

*Materials of Italian authors about *Aspergillus persii* inducing the onychomycosis at man, and american (USA) scientists – about *A. tanneri* – the new exciter of invasive aspergillosis have surveied in this article. Micro- and macroscopic characteristics of cells and colonies grown in different nutrient media under various temperatures; systematic position in a row of closely related of species and genera of micromycetes, the activity against *Aspergillus persii* and *A. tanneri* of some antimycotics have been considered in presented work. I hope that presented materials shall be interest and useful for Russian mycologists.*

Key words: antimycotics, *Aspergillus persii*, *A. tanneri*, chronic granulomatous disease, invasive aspergillosis, macro- and microscopic characteristics of species, nomenclatura, onychomycosis

В последние годы ряд авторов нередко сообщают о возрастающей роли недерматомицетов в заболеваниях кожи и её придатков и, прежде всего, ногтей [1-5; Zotti M., Montemartini Corte A.M. // Myconaxon, 2002. – Vol. 83]. В журнале «Медицинская микология» [1] была опубликована статья группы итальянских авторов (Мирка Зотти, Марко Макетти, Маддалена Перотти и др.) о новом виде аспергилла – *Aspergillus persii*; очевидно, что название вида связано с фамилией последнего соавтора. Несколько ранее Мирка Зотти и Аврора Монтемартини Корте [Zotti M., Montemartini Corte A.M. // Myconaxon, 2002. – Vol. 83] выступили со статьёй «*Aspergillus persii*: новый вид в секции *Circumdati* – важной группы в пределах родов *Petromyces* (Malloch и Cain, 1972) и *Neopetromyces* (Frisvad и Samson, 2000) и в пределах анаморфного рода *Aspergillus*. Фрисвад и коллеги [3] включили *A. persii* в число 21 других видов аспергиллов, продуцирующих охратоксин А. Он также об-

* Контактное лицо: Елинов Николай Петрович,
 тел.: (812) 303-51-40

разует пеницилловую кислоту, ксантомегнины, меллеин. Данный вид изолирован в 1999 от женщины в возрасте 61 года, поражённой и страдавшей от онихомикоза ещё 20 лет тому назад (Рис. 1, 2).



Рис. 1. Онихомикоз большого пальца левой стопы; проксимальное и левостороннее поражение ногтя с кератозом



Рис. 2. *Aspergillus persii* в культуре на модифицированной среде Сабуро (1% неопептона, 1,5% агар-агара, 2% глюкозы)

Виду присущи такие характеристики, как образование склероциев и дубинкоподобных образований мицелия, которые вполне особенные, и поэтому авторы предположили, что должен быть предложен новый вид *A. persii* (Рис.2а-в).

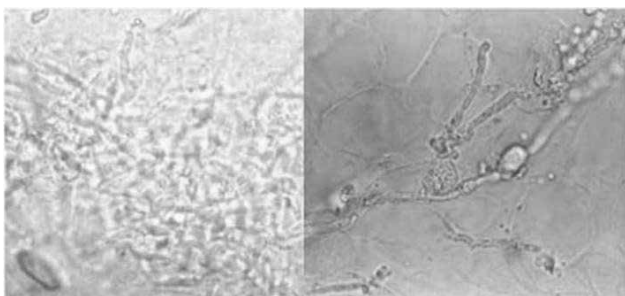


Рис. 2а. Микроскопический препарат материала из ногтя в растворе калия гидроксида, в котором видны нити мицелия с «дубинкоподобными утолщениями» у *Aspergillus persii* (x100)

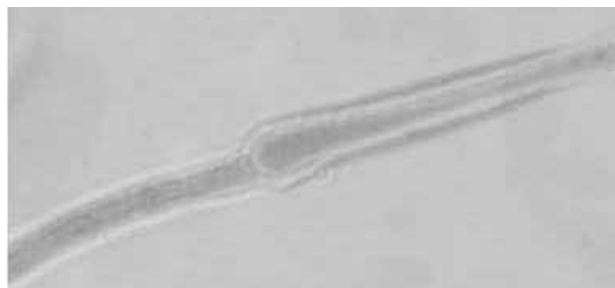


Рис. 2б. Септальное «дубинкоподобное утолщение» в нити *Aspergillus persii* на дрожжевом агаре Чапека (CYA) при 25 °С (x100)

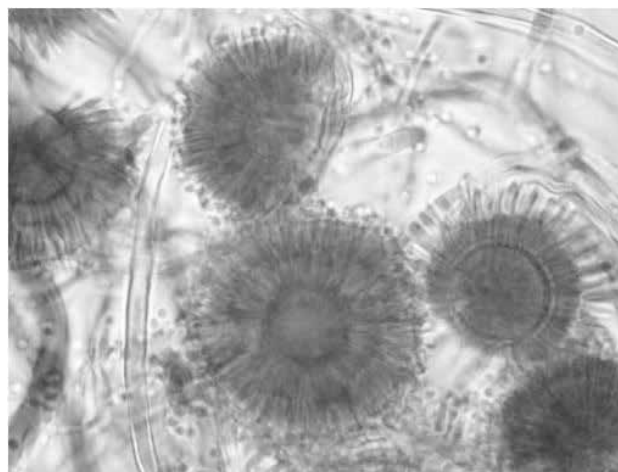


Рис. 2в. Сферические головки (10-25 мкм в диаметре) у *Aspergillus persii* (x100) с двурядными свободно расположенными (до радиальных) стеригмами, несущим и овальные конидии, гладкие 2,5-3 мкм в диаметре

Колонии гриба культивировали на 4 агаризованных средах с выдержкой при разных температурах (при +20 °С, + 24 °С и + 37 °С) – на агаре Чапека с дрожжевым экстрактом (CYA), Чапека-Докса и Сабуро (Рис. 3). На рисунке в верхнем ряду, обозначенными заглавными буквами А,В,С,Д, представлены колонии с лицевой (наружной) стороны; в нижнем ряду прописными буквами а,в,с,д обозначены те же колонии с обратной (реверсной – от лат. reverse – обратный) стороны.

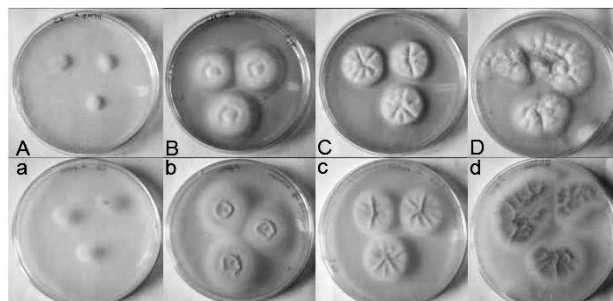


Рис. 3. Колонии *Aspergillus persii* на разных питательных средах: снимки с поверхности, обозначенные заглавными буквами (слева →направо): А,В,С,Д, а прописными буквами – а,в,с,д - с реверсной (обратной) стороны: Аа – на среде Чапека-Докса при 24 °С; Вв – на дрожжевом агаре Чапека при 20 °С; Сс – на агаре Сабуро при 37 °С; Дд – на дрожжевом агаре Чапека при 24 °С

На среде Чапека-Докса при + 24 °С (чашка А,а) в точках посева «рост» проявляется в виде небольших двояковогнутых сфер; на среде СУА при + 20 °С – колонии выпуклые с кратеровидным центром, окаймлённым выпуклым ободком [реверсная сторона – в представляет собой «зеркальный негатив» наружной (лицевой) стороны. На агаре Сабуро (чашка С,с) при + 37 °С – колонии круглые, с углублёнными бороздками, идущими от центра колонии к периферии, формируя некое подобие заглавной буквы Ж; оборотная сторона колоний представляется негативом с выпуклыми рубцами в форме той же буквы Ж. На среде СУА (чашка D,d) при + 24 °С – колонии крупные (в 1,5-2 раза больше, чем на той же среде, но при + 20 °С; они выпуклые с углублённым, окаймлённым центром, от которого отходят бороздки к краю колонии; оборотная сторона с «зеркальным негативом» (с углублением) на месте колоний. Культура *A. persii* из поражённого ногтя на модифицированной среде Сабуро образует пигмент жёлтого цвета и показана на рис.4.

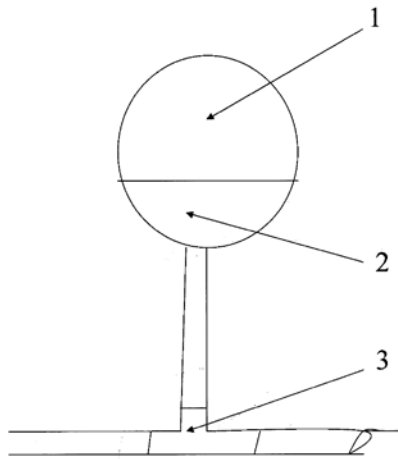


Рис. 4. Схематичный рисунок аспергиллы с обозначенными частями его структуры: 1) большая часть головки, где возникают стеригмы с конидиями; 2) меньшая часть головки, свободная от стеригм с конидиями (**апофизис**); 3) опорная клетка

Конидиальные головки сферические, стеригмы двухрядные продолговатые с терминальными овальными конидиями. Апофизная часть у головок *A. persii* отсутствует (от англ. **Аpo** - приставка «прочь от», от-делённый; **physique** = **fi' -zèk'** - развитие и структура, организация тела) (Рис.5).

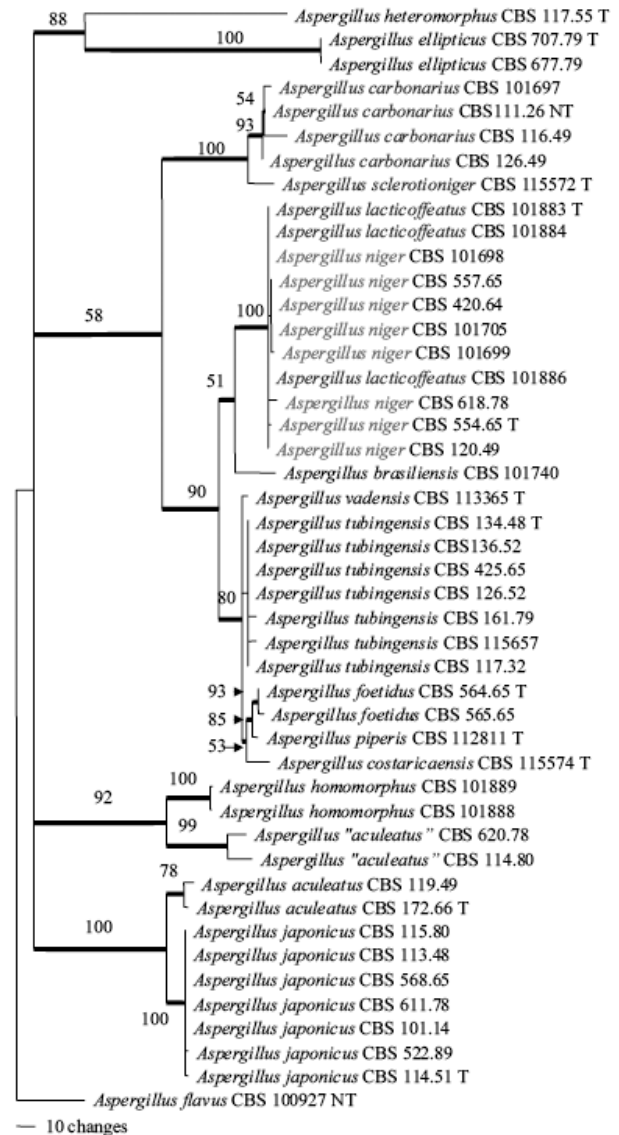


Рис. 5. Одни из 500 равных МРТ 517 ступеней, базирующихся на эвристическом поиске частичных β-глобулиновых последовательностей *Aspergillus flavus* как одного из рода. Ветви отчетливо составляют 100% у 70% большинства, как правило, в соответствии с парсимонийными деревьями. Интенсивно окрашенный *Aspergillus persii*, как и другие более окрашенные аспергиллы, являются продуцентами охратоксина А

Из других аспергиллов, описанных в качестве этиологических агентов онихомикоза, названы *A. flavus*, *A. sclerotiorum* и *A. terreus*, относящиеся к секциям *Flavi*, *Circumdati* и *Terrei* соответственно. Члены секции *Circumdati*, включающие *A. sclerotiorum* и *A. persii*, типично образуют головки с преобладающе двухрядными стеригмами с желтыми (или охряными или цвета кожи буйвола) конидиями (Klich M.A., et al, 1st ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002). Субкультуры первого изолята *A. persii* были переданы в католический университет (Бельгия, MUCB 41970), в Centraalbureau voor Schimmelcultures, Нидерланды (CBS112795) и в Mycotheca университета в Турине, Италия (MUT 3318). Последовательность (сиквенс = sequence) генов β-тубулина передана в GenBank (AY 819988) другими авторами [5]. При пер-

вом подходе к лечению пациентки применили так называемую «эмаль», содержащую 28% тиоконазола, но это оказалось явно недостаточным. Также разочаровывающим стало применение лака для ногтей с 5% аморолфина. Прибегнув к комбинированному лечению (местному – после тщательной чистки инфицированной части ногтевой пластины наносили мазь, содержащую 1% амфотерицина В, а *per os* назначали суточную дозу – 250 мг – тербинафина), удалось добиться желаемого эффекта через 3 месяца. Подобное лечение продолжали 2 года, когда пациентку признали избавившейся от онихомикоза и его возбудителя. Спустя почти 10 лет, эта же пациентка вновь заболела (заразилась, рецидив?!) онихомикозом в ноябре 2008 г., а в январе 2009 г. был определён и получен в культуре патоген, оказавшийся тем же видом *A. persii*. В тот же коллектив университета Генуя (Италия) [3] в июне 2006 г. обратился 56-летний мужчина с онихомикозом больших пальцев обеих ног. У пациента не было сахарного диабета и каких-либо иммунологических нарушений, но приобрёл онихомикоз в 2005 г., более выражено проявившийся в 2006 г. Ногтевые пластины были дистрофическими. При микроскопии патологического материала грибок не был обнаружен, но получен в культуре на агаре Сабуро с глюкозой. В целях подтверждения образцов патогена проанализировали последовательность генов β -тубулина. Вся геномная ДНК *A. persii* была выделена по инструкции от Qiagen DN easy Plant Mini Kit® (QIAGEN GmbH, Hilden, Германия). Амплификация гена β -тубулина выполнена с использованием Bt2a и Bt2b праймеров [Glass N.L., Donaldson G.C. // Appl. Environ. Microbiol., 1995. – Vol. 61].

Амплификацию проводили в Biometra T3000 термоциклере (Goettingen, Германия), ДНК-сиквенирование – в Италии (DiNAMYCODE, Турин), Данными сиквенирования, вместе с морфологическими данными, подтвердили идентификацию *A. persii*. Живые культуры патогена от данного пациента также переданы в Нидерланды (CBS 124573) и в Mycotheca университет в Турине, Италия (MUT 4189). Последовательность генов β -тубулина передана в GenBank (GQ850380). Пациенту назначили местную и системную терапию. Местно также, как и в первом случае с пациенткой, выполняли смягчение ногтевых пластин 50% раствором мочевины с последующим применением 5% аморолфиновой «эмали». При системной терапии ежедневно назначали 400 мг итраконазола в течение одной недели в месяц и так – 6 месяцев (пульс-терапия). После проведенного лечения больной клинически выздоровел, однако, к сожалению, в феврале 2009 г. ногти на больших пальцах вновь «заболели» – в ногтевых пластинах обнаружили *A. persii*. На предложение начать вторую лечебную попытку пациент отказался.

Очевидно, что в каждом из приведенных случаев возможны 4 объяснения: 1) выражено торпидное (вялое) течение окончательно недолеченного заболевания (онихомикоза); 2) долговременно отсрочен-

ный рецидив за счёт ослабленных, но до конца не убитых, особей патогена в оставшейся, кажущейся здоровой, ногтевой пластине; 3) повторное заражение ногтя(-ей) за счёт контакта пациентов; в этом(-их) случае(-ях) необходимо проведение тщательного исследования эпидемиологической ситуации (первоисточником патогена может быть домашняя обувь (!?); 4) неадекватность выбора антимикотика. Штаммы *A. persii* – изоляты (1) от 1999 г (от пациентки – женщины в возрасте 61 г.) и (2) от 2006 г. (от пациента-мужчины 56 лет) проверены на чувствительность к антимикотикам [3] (таблица 1).

Таблица 1

Чувствительность *A. persii* к ряду антимикотиков

<i>A. persii</i> №	МИК (мкл/мл) M38A2/YeastOne						МИК (мкл/мл) M38A2 TERB
	Am	FZ	IZ	VZ	POS	CAS*	
1	8/8	>256/>256	0,5/1	1/0,5	0,5/1	>16/>16	0,5
2	16/8	>256/>256	1/1	0,5/0,5	1/1	>16/>16	1

Примечание.* МЕС(мкл/мл) M38A2/MIC(мкл/мл) YeastOne.

Am = амфотерицин В; FZ = флуконазол, IZ = итраконазол; VZ = вориконазол; POS = позаконазол; CAS = каспифунгин; TERB = тербинафин; M38A2 = CLSI документ; YeastOne *Sensititre метод.

Как следует из таблицы, оба штамма *A. persii* были чувствительны к вориконазолу, итраконазолу, позаконазолу и тербинафину с небольшим различием между двумя применёнными методами – микроразведения в бульоне (Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Filamentous Fungi. Approved Standard, 21nd ed. M-38-A2.V.28, #16.Wayne, IN: National Committee Laboratory Standards, 2002) в соответствии с документом CLSIM38-A2, используя питательную среду RPMI 1640 с добавлением 2% глюкозы, и метод *Sensititre Yeast One* панель (*Trek Diagnostic Systems*). Инкубирование разведений и панели проводили при 35 °С с учётом результатов через 2 и 3 суток. Из названного ряда препаратов «выпадают» по активности флуконазол и каспифунгин; первый из них в достаточно большой концентрации ингибировал рост *A. persii* лишь на 50%, а минимальная эффективная концентрация (МЭК) каспифунгина была определена как самая малая, при которой всё же был отмечен аномальный рост тестируемого микромицета. Контролями в данных экспериментах (метод микроразведения) служили *Aspergillus flavus* ATCC и *A. fumigatus* ATCC 204305. Результаты с ними оказались в пределах, отмеченных и рекомендованных. Frisvad J.C., Frank J.M. с коллегами [3] прибегнули к **кладистике, или филогенетической реконструкции**, то есть методу систематики, нацеленному на воспроизведение генеалогического происхождения организмов посредством объективного и воспроизводимого анализа, а из этого образца предложить искусственную гипотезу естественной классификации, или филогении. Она основывается на трёх следую-

щих фундаментальных предположениях:

1) таксоны объединяют в естественные группы на основании долевого участия в производимых характеристиках (**синаноморфии**);

2) все признанные группы должны происходить из единого предшественника (например, они являются монофилетическими), и что самый **парсимонийный** образец, требующийся, по крайней мере, в ряду ступеней для доказательства родства таксонов, является, очевидно, одним из самых корректных;

3) группы, определённые при использовании доли примитивных (первобытных) характеристик (**simplesiomorphies**), очевидно, должны быть парафилетическими и, таким образом, не включают всех потомков предка. Авторы использовали второй метод – парсимонийного анализа последовательных данных, ограниченных до 500 равных более парсимонийных древ (MPT= *most parsimonious trees*), один из которых показан в филограмме (Рис. 5). Древо закоренено на *Aspergillus flavus*.

A. tanneri – возбудитель хронического гранулематозного инвазивного заболевания, впервые описанного группой исследователей из США [6]. Видовой эпитет «tanneri» авторы дали с позволения семьи второго пациента, страдавшего и погибшего от ХГ, инфицированного штаммом NIH1004, и выделенного из легочного биоптата; другой штамм NIH1005 был изолирован из гнойного свища в желудке первого пациента. И, если в 2007 г. в роде *Aspergillus* насчитывали 200 видов, то в последние 6 лет к ним добавили ещё 2 вида, отнесенных к секции *Circumdata*. С 1981 г. и до настоящего времени всего описано 10 видов аспергиллов как возбудителей инвазивного хронического гранулематозного заболевания, и во всех таких случаях исходы для пациентов оказались летальными. Такими видами стали: *A. calidoustus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. quadrilineatus* (*Emericella quadrilineatus*), *A. tanneri*, *A. terreus*, *A. udogawae* (*Neosartorya udogawae*) и *A. viridimutans*.

Применительно к *A. tanneri*, культуры были изолированы от двух пациентов, наблюдаемых согласно протоколам, одобренным Советом Национального института аллергии и инфекционных заболеваний в составе NIH (национальные институты здравоохранения в г. Бетезда, США).

Первый пациент – юноша 17 лет, у которого с семимесячного возраста выявили остеомиелит, индуцированный *Staphylococcus aureus* (сплайсинговая мутация экзона 6, отсутствие продукции супероксида). Пациента профилактически поддерживали антибиотиками и γ -интерфероном.

В восемь лет он перенёс бактериемию *Klebsiella* sp. после аппендэктомии. Позже, в возрасте 12, 13 и 15 лет, страдал от рекуррентной пневмонии, «отвечающей» на эмпирическое лечение антибиотиками. В 16 лет у пациента была диагностирована грибковая пневмония с плевральной эффузией (излиянием), медиастинальным абсцессом и сдвигом к печени и селезёнке. Удаление абсцесса из печени и спленэк-

томию сопровождали агрессивным лечением АмфВ, итраконазолом, вориконазолом и каспофунгином. Кроме того, были проведены трансфузии гамма-интерферона и гранулоцитов. Несмотря на интенсивную терапию, инфекция прогрессировала и диссеминировала дальше. Лихорадка, нарушение дыхания и эдема (отёк) достигали высшей точки в респираторной недостаточности, связанной с массивной лёгочной инфекцией. Изоляты грибов из биоптатов лёгких, печени, селезёнки и фистул желудка, а также БАЛ (бронхоальвеолярного лаважа) выделяли идентичные колонии неспорулирующей белой плесени. При аутопсии показаны неисчислимы абсцессы в лёгких, печени, средостении, брюшной полости, с множественными адгезиями, интенсивными воспалительными инфильтратами и некрозом. GMS (Гомори метенамин серебра) – окрашиванием тканевых секций показаны септированные пряди гиф с ветвлением или без него.

Второй пациент – юноша 19 лет был с диагностированным хроническим гранулематозным заболеванием (ХГЗ) в двухмесячном возрасте (большой интерстициальный пробел целых СУВ и ХК генов, дающий выход фенотипа McLeod'a, отсутствие продукции супероксида).

В возрасте двух лет он получал противотуберкулёзные лекарства для лечения медиастинальной аденопатии и предполагаемого туберкулёза.

В восьмилетнем возрасте он предстал с пневмонией правой верхней доли, в которой рос *Phaeoacremonium inflatipes*, который отвечал на лечение АмфВ и итраконазолом.

В возрасте 13 лет ему потребовались расширение мочеочника и замена резинового стента. Он также имел цервикальную аденопатию, обусловленную *Serratia marcescens*.

В возрасте 17 лет у пациента была выявлена пневмония правой верхней доли вследствие гемопизиса (кровохаркания из дыхательных путей), в течение которого он получал вориконазол с постепенным рентгенографическим улучшением.

В 18 лет, ещё во время лечения вориконазолом, у него был новый эпизод пневмонии, который сопровождался дополнительным лечением широкого спектра антибиотиками. Однако продолжались кашель, перемежающееся кровохаркание, потеря веса и лихорадка. Было добавлено лечение позаконазолом. Из БАЛ выделяли культуру (штамм) белой плесени, напоминающую таковую, изолированную от первого пациента. Микафунгин, амбизом, вориконазол, тербинафин и альбендазол были добавлены к лечебному режиму без устойчивого успеха. Чтобы смягчить серьёзные лёгочные ограничения на функцию лёгких посчитали своевременной обширную инфильтрацию, наблюдаемую при компьютерной томографии (КТ). В образце лёгочной ткани, взятом через игольную биопсию, выростала та же плесень, которую изолировали из БАЛ. Пробное лечение внутривенно вводимым пентамидином, базируясь на

его активности на модели фузариоза у мышей [7], сопровождалось временно изменяющимся ментальным статусом. Образцы биоптатов лёгких и грудной стенки содержали многочисленные гифы.

Экспериментальная инфекция. Опыты были проведены с одобрения и досмотром со стороны специального комитета при US NIH. Вирулентность *A. tanneri* NIH 1004 сравнивали с вирулентностью *A. fumigatus* штамм В-5233 на двух ХГЗ моделях у мышей, заражаемых свежесобранными конидиями путём фарингеальной (глоточной) аспирации [8]. ХГЗ-дефицитные мыши получали $2 \cdot 10^4$ и $5 \cdot 10^3$ КОЕ/мышь соответственно. Эти концентрации инокуляума вызывали смертность до 80% и 100% в течение 10-15 суток ХГЗ-мышей, заражённых *A. fumigatus* В-5233. Сроки выживания мониторировали до 80 суток после заражения. Данные выживания анализировали, используя long-ранг-тест. Лёгкие мышей подвергали гистопатологическому изучению в окрашенном гематоксилин-эозином и по Гомори (GMS метенамином серебра) состоянии.

Изоляты *A. tanneri* NIH 1004 и NIH 1005 были переданы в Agricultural Research Culture Collection Peoria (Illinois) под доступными номерами NRRL 62425 и NRRL 62426 соответственно. Голотип NIH 1005 (NRRL 62426) – высушенная колония, выращенная на агаре Чапека с солодовым экстрактом (MEA – malt-extract agar), была передана в национальную коллекцию грибов (U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD) под доступным номером BPt882529.

ДНК-сиквенсы из NIH1004 переданы в GenBank под следующими доступными номерами: JN 853798, JN 896584, JN 896585 и JN 896586 для ITS (внутреннего транскрибируемого спейсера), Msm 7, RPB 2 Tas1 соответственно. Морфология колоний показана на рисунке 6, а микроскопическая картина – на рис. 7.

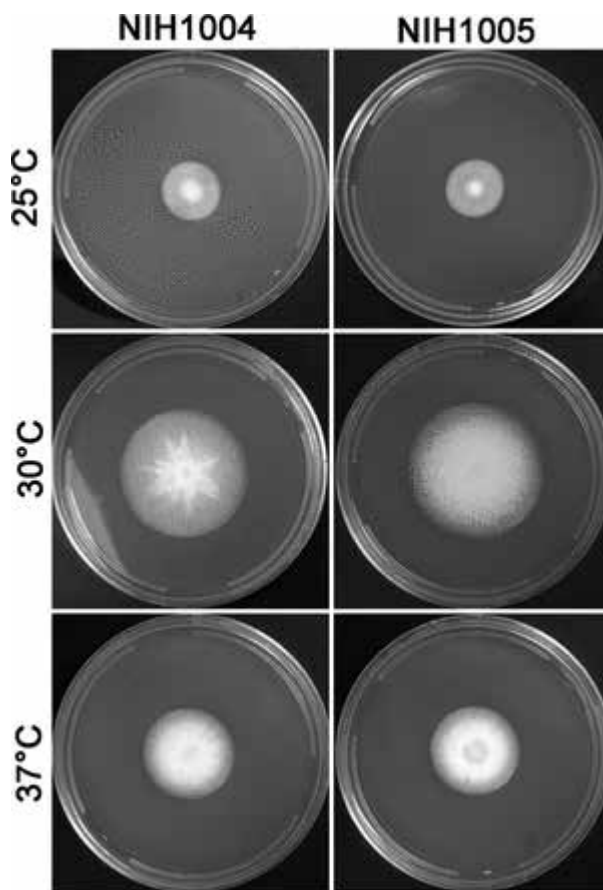


Рис. 6. Морфология колоний *A. tanneri* NIH1004 и NIH1005 на MEA-агаре через 2 недели роста и развития при +25 °C, +30 °C и +37 °C

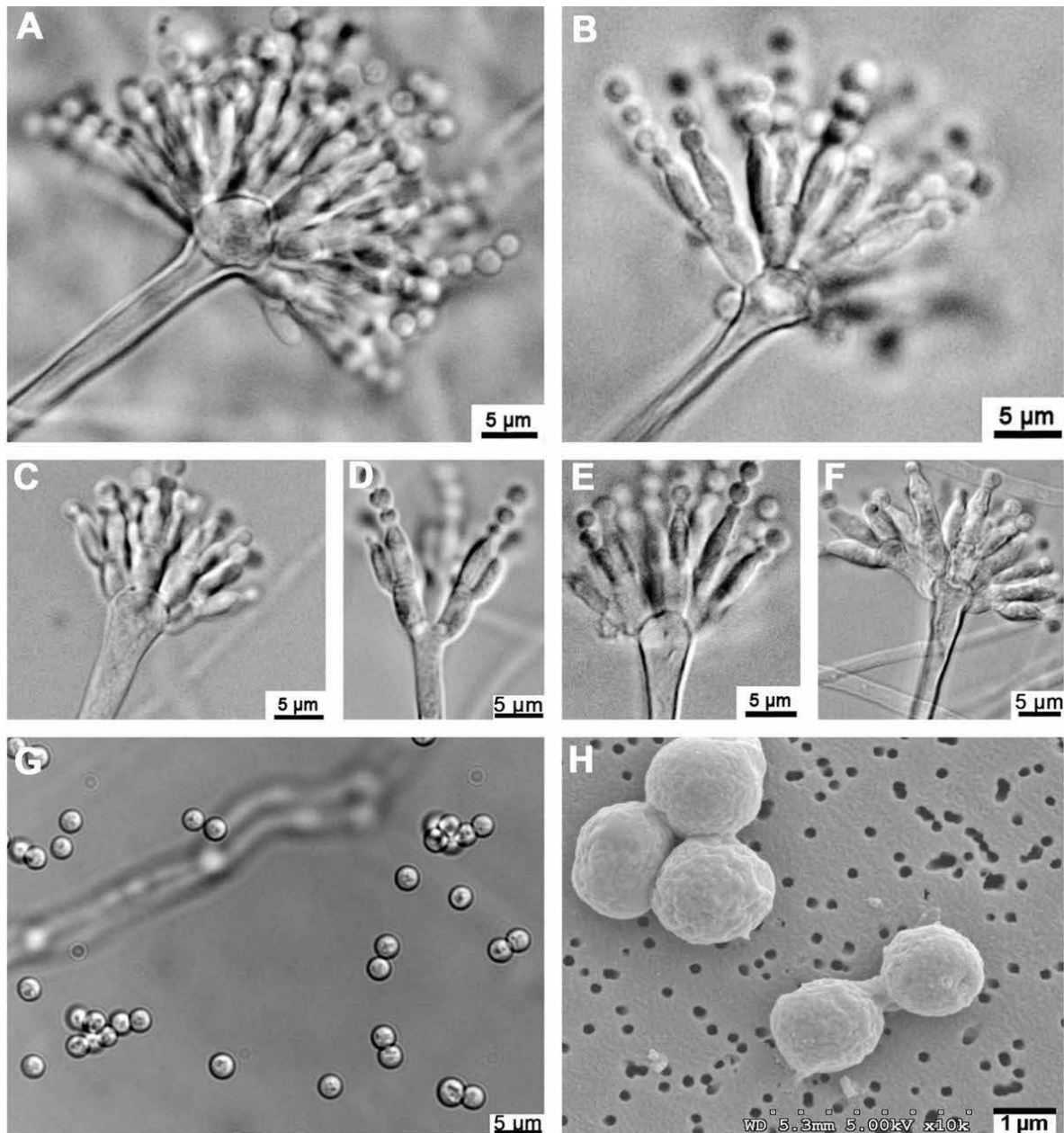


Рис. 7. Микроскопическая картина конидиеносцев и конидий *A. tanneri* NIH1004 и NIH1005. Конидиальные головки первого обозначены буквами А, С и D, а второго – В, Е и F на MEA агаре и на кукурузном агаре соответственно; шаровидные конидии с гладкими стенками в световом микроскопе обозначены в нижней части рисунка буквами G и H

Характеристика нового вида *Aspergillus tanneri*

К.Ж. Kwon-Chung, J.A. Sugui and S.W. Peterson sp. nov.

Колонии белого цвета, растут медленно на агаре Чапека, достигая размера 1,5-2 см в диаметре за две недели роста и развития при +25 °С; от 4 до 4,5 см – при +30 °С и до 3 см – при +30 °С; субстратный мицелий тонкий и гиалиновый (по греч. *hyalos* – стекловидный). Колонии на MEA-агаре росли и развивались быстрее – достигали 2,9-3 см в диаметре за 2 недели при +25 °С, от 6 до 7 см – при +30 °С и 4-5 см – при +37 °С (см. рис 6). Субстратный мицелий возвышался, и колонии с возрастом становились слабо окрашенными в желтоватый цвет. Реверсная сторона колоний оставалась бесцветной. Конидиеносцы, редко формировались в темноте при +30 °С, но их образование повышалось с возрастом. Конидиенос-

цы гиалиновые, гладкие, длинные и тонкие, от 2 до 4 мкм в ширину, несущие гиалиновые, грушевидные или булавовидные головки, размером 5-7x7-10 мкм (см. рис. 7), метулы 1,5-3x4,8 мкм, покрывающие от половины до двух третей поверхности головки (см. на рис. 7 А, В, С, и D), каждый несущий две или более стеригм (фиалид), иногда становящимися септированными, размером 1-2x4 до 10 мкм (см. на рис. 7 от А до F). Конидии овальные, гиалиновые, гладкие, 2-3 мкм в диаметре (на рис. 7 G и H). Миниатюрные конидиальные головки без расширенной части кажутся по структуре почти пенициллоподобными (см. на рис. 7 D). Телеоморфу у *A. tanneri* не наблюдали. Филогенетическое древо *A. tanneri* в сравнении с *A. fumigatus* приведено на рис. 8.

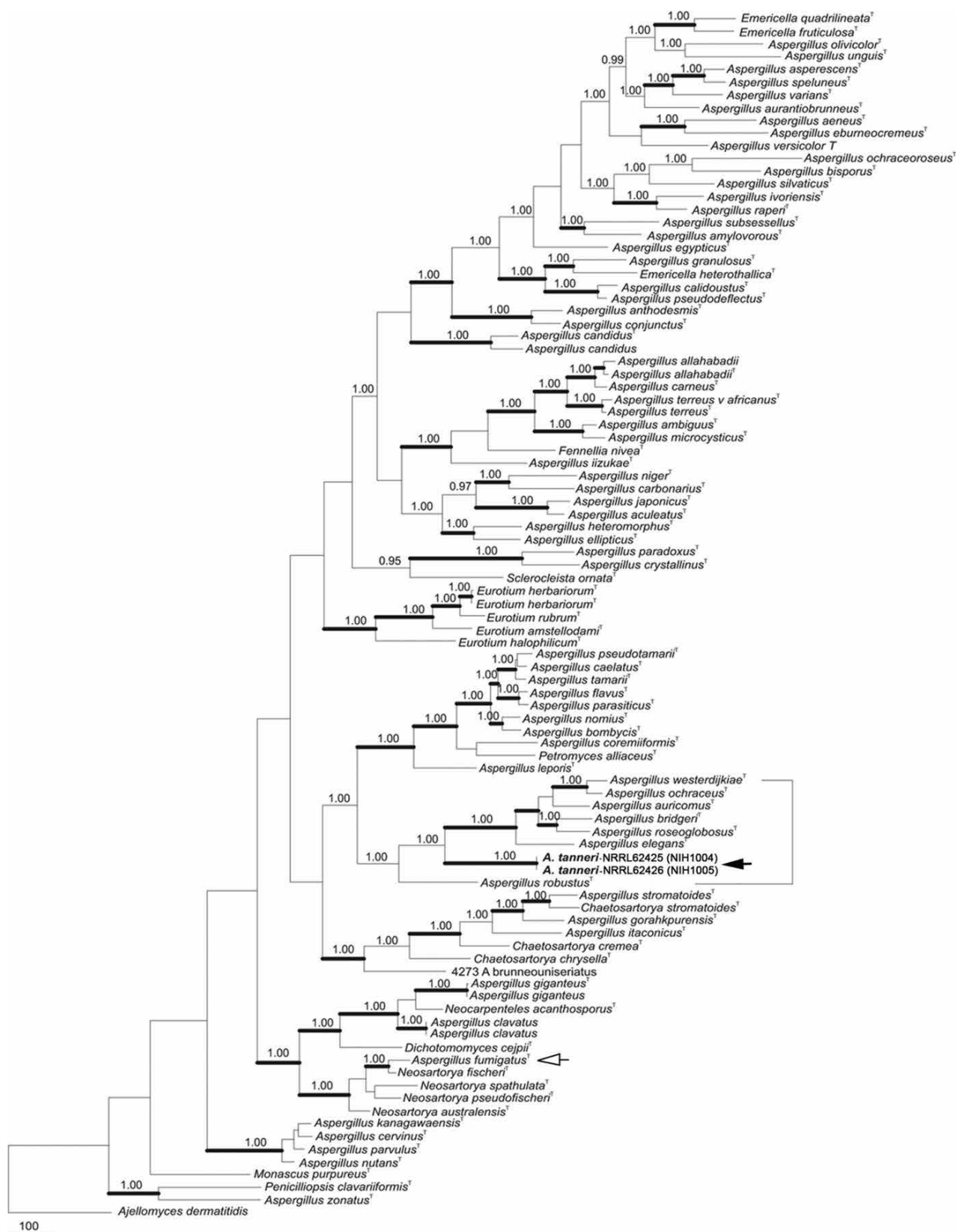


Рис. 8. Филогенетическое древо, выведенное из комбинированных Msc, RPB2 и Tsr1 данного набора. Тонкой стрелкой отмечен *A. fumigatus* (секция Fumigati), а темной – *A. tanneri* (секция Circumdati). Темные ветви соответствуют более чем 95% выгодному составу поддержки

Чувствительность *Aspergillus tanneri* к антимикотикам.

Результаты определения чувствительности тест-культур *A. tanneri* и контрольных штаммов *A. fumigatus* представлены в таблице 2.

Таблица 2

Чувствительность *A. fumigatus* и *A. tanneri* к вориконазолу, итраконазолу и амфотерицину В (АмфВ) in vitro методом микроразведения CLSI (M38-A2)

Штаммы	МИКа (мкг/мл)		
	Вориконазол	Итраконазол	Амф В
<i>A. tanneri</i> (NIH 1005)	4	4	>16
<i>A. fumigatus</i> (B-5233)	1	1	2
<i>A. fumigatus</i> (AF-293)	2	1-4	2

Неудача с ответами обоих пациентов на агрессивное антифунгальное лечение стала основой предположения о том, что новый вид мог быть природноустойчивым к существующим антимикотикам. Чтобы определить высоко ли резистентен *A. tanneri* к противогрибковым препаратам, авторы сравнили значения МИК для вориконазола, итраконазола и АмфВ. Для выполнения Е-теста конидии в количестве $3 \cdot 10^6$ на чашку Петри с агаризованной средой МЕА равномерно распределяли на поверхности среды, а тест-полоски были положены в центре перед инкубацией при $+37^\circ\text{C}$ в течение 3 суток.

Для сравнения использовали также два референтных штамма *A. fumigatus*, широко применяемые для патобиологических исследований.

МИК для *A. tanneri* были значительно выше, чем к АмфВ и, вообще, к азоловым препаратам в сравнении с МИК для *A. fumigatus* (таблица 2). *A. tanneri* проявил интенсивный мицелиальный рост при содержании в среде 16 мкг/мл АмфВ.

Высокая устойчивость *A. tanneri* к антифунгальным препаратам была также подтверждена и в Е-тестах (Рис. 9).

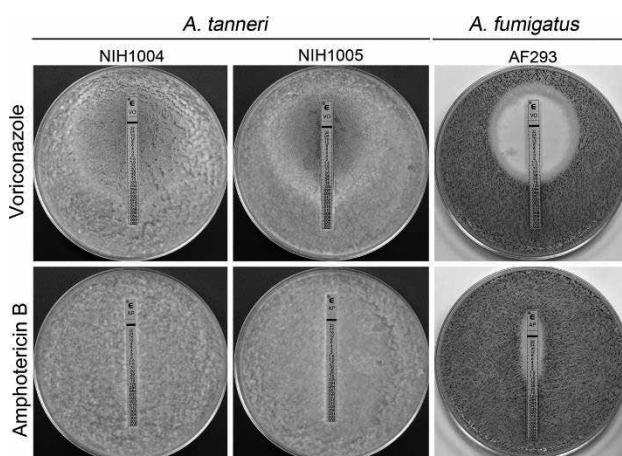


Рис.9. Чувствительность *A. tanneri* и *A. fumigatus* к вориконазолу и АмфВ по результатам Е-теста

При $+37^\circ\text{C}$ в течение 72 часов *A. fumigatus* образовывал зелено-батиловую спорулирующую культуру, тогда как *A. tanneri* вырастал преимущественно в

виде тонкого белого цвета мицелия.

A. fumigatus штамм AF293 проявил большие светлые зоны задержки роста применительно к вориконазолу (МИК – 0,5 мкг/мл) и меньшую зону ингибирования роста для АмфВ (МИК – 1,5 мкг/мл). Напротив, зона задержки роста для вориконазола, также как и для АмфВ, отсутствовала на чашках Петри, засеянных *A. tanneri*.

Подобные результаты были получены со средой RPMI 1640. Е-тестами с позаконазолом и итраконазолом, выполненными на средах МЕА и RPMI 1640, показаны аналогичные данные высокой устойчивости *A. tanneri* в сравнении с *A. fumigatus*. Авторы полагают, что выявленные ими данные по высокой резистентности *A. tanneri* к антимикотикам могли способствовать получению неудачных результатов с терапией пациентов. Следует также отметить, что *A. tanneri* NIH 1004 и NIH 1005 не образуют охратоксины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аспергиллы, в широком понимании рода *Aspergillus*, могут быть уникальными патогенами, являясь в то же время сапробами. Они колонизируют разные экотипы и обитают в природных регионах Земного Шара на всех материках. Однако есть виды, колонизирующие людей с иммунодефицитами, или иммунокомпрометированных лиц. Наиболее распространенным видом при этом оказывается *A. fumigatus*.

Достаточно сказать, что как возбудитель аспергиллёза он индуцирует более 200 000 случаев заболеваний среди населения Земного Шара.

К нему примкнули недавно открытые *A. persii* – возбудитель онихомикоза у людей (описанный итальянскими исследователями) и *A. tanneri*, рассмотренные в данной публикации. Из-за развивающегося туризма по всему миру не исключается завоз сравнительно редких патогенов и в нашу страну. В последнее десятилетие текущего века появляются работы, авторы которых пытаются связать особенности метаболизма (прежде всего – первичного обмена) болезнетворных аспергиллов и их патогенности (вирулентности); называют регуляцию утилизации потребляемого *A. fumigatus* азота; для проявления патогенности у некоторых мутантов *Aspergillus* sp. строго необходима пара-аминобензойная кислота (ПАБК) и др. [8]. При изучении аспергиллов-патогенов следует быть крайне внимательным к их видовой дифференциации и индикации, а экспериментаторам – стремиться привлечь и ауксотрофные виды к оценке их патогенности, равно как и особенности генома каждого вида или штамма.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Zotti M, Machetti M, Perotti M, et al. A new species *Aspergillus persii* as an agent of onychomycosis // Medical Mycology. – 2010. – Vol. 48. – P. 656-660.
2. Bonifaz A, Cruz-Agular P, Ponce R.M. Onychomycosis by moulds // Eur. J. Dermatol. – 2007. – Vol. 17. – P. 70-72.
3. Frisvad J.C., Frank J.M., Houbraken J.A.M., et al. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati* // Stud. Mycol. – 2004. – Vol. 50. – P. 23-43.
4. Gupta M., Sharma L.N., Kanga A.K., et al. Onychomycosis: clinic-mycologic study of 130 patients from Himachal Pradesh, India // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. – 2007. – Vol. 73. – P. 389-392.
5. Romano C., Cianni C., Difonzo E.M. Retrospective study onychomycosis in Italy: 1985-2000 // Mycoses. – 2005. – Vol. 48. – P. 42-44.
6. Sugui J.A., Peterson S.W., Clark L.C., et al. *Aspergillus tanneri* sp. nov., a new pathogen that cause invasive disease refractory to antifungal therapy // J. Clin. Microbiol. – 2012. – Vol. 50, №10. – P. 3309-3317.
7. Rao G.V., et al. Efficacy of a technique for exposing the mouse lung to particles aspirated from the pharynx// J. Toxicol. Environ. Health A. – 2003. – Vol. 66. – P. 1441-1452.
8. Krappmann S. and Braus G.H. Nitrogen metabolism of *Aspergillus* and its role in pathogenicity // Med. Mycology Supplement. – 2005. – Vol. 43. – P. 531-540.

Поступила в редакцию журнала 02.06.2014

Рецензент: Степанова А.А.



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ ФИТОТЕРАПИИ (ОБЗОР)

Челпаченко О.Е. (в.н.с.)*, Перунова Н.Б. (зав. лаб.), Иванова Е.В. (в.н.с.), Андрищенко С.В. (с.н.с.), Данилова Е.И. (ассистент кафедры), Федотова Л.П. (аспирант)

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

В статье представлен обзор из научной литературы, содержащий историческую справку и микробиологические сведения о лекарственных растениях с антимикотической активностью (наряду с другими антимикробными свойствами), микробиологическую характеристику антимикробных компонентов растений с учётом особенностей биохимической структуры, известные механизмы антифунгального действия фитопрепаратов, что является базисом для обоснования целесообразности дальнейших научных исследований и практического использования антимикотической фитотерапии.

Ключевые слова: антигрибковая терапия, антимикотические компоненты растений, лекарственные растения, микозы

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF ANTIFUNGAL HERBAL MEDICINE (REVIEW)

Chelpachenko O.E. (leading scientific collaborator), Perunova N.B. (head of laboratory.), Ivanova E.V. (leading scientific collaborator), Andryushenko S.V. (senior scientific collaborator), Danilova E.I. (assistant of the chair), Fedothova L.P. (postgraduate student)

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

© Collective of authors, 2014

The article presents a review from scientific literature that contains historical and microbiological information on medicinal plants with antimycotic activity (along with other antimicrobial properties), microbiological characteristic of plants antimicrobial components including the peculiarities of bio-chemical structures, known antifungal mechanisms of herbal preparations antifungal action, that is the basis for further research and practical use of antimycotic herbal medicine.

Key words: antifungal components plants, antifungal therapy, medicinal plants, mycoses

* Контактное лицо: Челпаченко Ольга Ефимовна, тел.: (3532) 77-59-08

ВВЕДЕНИЕ

С античных времён растения использовали в качестве источника питания и с лечебной целью [Thomson W., 1978; Stockwell C., 1988; Cowan M.M., 1999], о чём свидетельствуют труды Гиппократов, а также Диоскорида, написавшего в первом веке последнего тысячелетия труд «Материя medica» – каталог медицинских растений, который стал прототипом современной фармакопеи. В азиатских странах была составлена собственная фармакопея лекарственных растений. На Западе, в эпоху Ренессанса, наблюдали возрождение античной медицины, основанной на преимущественном использовании фитосредств. Альтернативная «растительная» медицина получила широкую популярность в странах Америки и Европы, начиная с 19 века [Weiner M.A., 1980]. Моэрман в статьях, посвящённых фитопрепаратам, отмечал, что население Америки применяло 1625 видов растений в качестве продуктов питания и 2564 вида – с лечебной целью [Klink B., 1997].

Среди европейцев Нового Мира использование лекарственных растений стало ответной реакцией против инвазивных, токсичных и малоэффективных лекарств медицинской практики 18 века. В 1887 году практические врачи Америки пользовались каталогом, который носил название «Гомеопатическая фармакопея Соединённых штатов» [Holmes O.W., 1861].

С 1950-х годов, с началом широкого потребления антибиотиков, применение лекарственных растений в качестве антимикробной терапии, в определённой степени, утратило свою актуальность. В то же время, из-за частого и бесконтрольного использования антимикробных препаратов стали возникать такие проблемы, как развитие аллергических реакций, токсических состояний, сопровождающихся нарушением колонизационной резистентности кишечника. Наряду с этим, отмечали появление в составе микросимбиотозов организма человека антибиотикорезистентных микроорганизмов, что сопровождалось отсутствием эффекта при лечении заболеваний грибковой этиологии, особенно – у иммунокомпрометированных лиц (возрастной фактор, онкопатология, химиотерапия, травма и т.д.), у которых летальность на 30% выше в сравнении с пациентами, страдающими бактериальными инфекциями [1-3].

Всё это послужило на современном этапе развития медицины толчком к возрастающему интересу к лекарственным растениям и появлению новой научной дисциплины, именуемой этноботаникой (или этнофармакологией), целью которой является сбор и анализ информации о продуктах растительного и животного происхождения, способствующих сохранению здоровья человека [Georges M., 1949; Van den Berghe D.A., 1986].

Актуальность проблемы фитотерапии в микробиологии, терапии и, в частности, при лечении заболеваний грибковой этиологии, обусловлена рядом причин.

В первую очередь – это недостаточная эффективность и токсичность традиционных антимикробных, в том числе – антимикотических препаратов, используемых для лечения микозов.

Во-вторых – это широкий спектр действия лекарственных растений, обладающих, наряду с антигрибковым действием, антибактериальной, противовирусной и антипротозойной активностями.

В-третьих – это пролонгированный лечебный эффект, обусловленный низкой скоростью распада растительных компонентов [Lewis W.H., 1995].

Важным преимуществом фитотерапии, в сравнении с использованием традиционных химиотерапевтических антимикробных препаратов, является благоприятное иммуномодулирующее действие лекарственных растений в отношении иммунной системы и положительное корректирующее действие на состояние микробиоценозов различных биотопов макроорганизма человека.

Биохимические компоненты растений, отвечающие за антифунгальный и другие антимикробные эффекты.

Большая часть растительных экстрактов богаты алкалоидами, фенолами, флавоноидами, полифенолами, танинами, стеролами и терпеноидами, ингибирующими рост микроорганизмов, с одной стороны, и проявляющими иммуномодулирующее действие на макроорганизм человека, с другой. В настоящее время активно изучают антимикробные компонен-

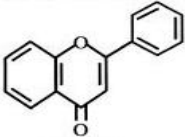
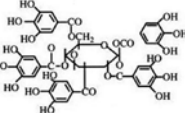
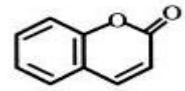
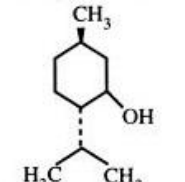
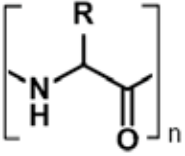
ты лекарственных растений (биологически активные вещества), оказывающие антибактериальный, противовирусный, антигрибковый, антипротозойный эффекты. В первую очередь, это эфирные масла растений, содержащие синтезируемые ароматические субстанции, представленные фенолами или их кислородсодержащими дериватами: фенольные кислоты, флавоноиды, танины, кумарины, хинины, терпеноиды и их оксигенированные компоненты [4].

Антифунгальный эффект, в соответствии с известными в настоящее время данными, проявляют терпены или терпеноиды, эфирные масла, фенолы и феноловые кислоты, флавоноиды, танины, кумарины, лектины и полипептиды [Geissman T.A., 1963; Toda M., 1989] (табл.1).

Флавоны, флавоноиды, флавонолы. Флавоны представляют собой фенольную структуру с одной углеводородной группой. Флавонолы имеют дополнительно гидроксильную группу. Флавоноиды – гидроксильные фенольные структуры, имеющие две углеводородные группы, связанные с ароматическим кольцом. Известно, что эти вещества синтезируются растениями в ответ на микробное инфицирование [Dixon R.A., 1983]. Их антимикробное действие связано со способностью связывать внеклеточные и растворимые протеины и встраиваться в клеточные стенки бактерий аналогично хинонам. Значительная часть липофильных флавоноидов способна также нарушать целостность микробных

Таблица 1.

Антимикробные компоненты растений

Классы соединений	Типичные соединения	Обобщенная структура	Прямой антимикробный эффект		Непрямой антимикробный эффект (иммуномодулирующий)	Источники
			Антигрибковый эффект	Антибактериальный, противовирусный эффект		
Флавоноиды	Катехины, кверцетин, кемпферол, хризин, нарингенин, галангин, цианитидин		<i>Candida</i> spp.	<i>Shigella</i> spp., <i>V. cholerae</i> O1, <i>Str. mutans</i> , Грам+ бактерии, <i>Coxsackievirus</i> , RSV; HIV	Противовоспалительный эффект (IL-6, IL-8, TNF-α)	Toda M., 1989; Borris R.P., 1996; Batista O.A., 1994; Vijaya K., 1995; Barnard D.L., 1993; Hunter M.D., 1993; Prabuseenivasan S., 2006
Танины	L-танин		Неспецифическая антигрибковая активность	Неспецифическая антибактериальная активность	Стимуляция фагоцитарных клеток	Haslam E., 1996; Ya C., 1988; Taylor R.S.L., 1996
Кумарины	Варфарин, фито-алексины		<i>Candida</i> spp.	Грамм+ бактерии HSV-1	Стимуляция фагоцитарных клеток	Bose P.K., 1958; Hoult J.R.S., 1996; Keating G.J., 1997; Yoshikawa, M., 1994
Терпеноиды и эфирные масла	Ментол, фарнезол, карвакрол, тимол, эвгенол, амиодарон, куркумин		<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>H. pylori</i> ,	Противовоспалительный эффект (IL-12, IL-6, TNF-α)	Cichewicz, R.H., 1996; Vishwakarma R.A., 1990; Taylor R.S.L., 1996; Suresh B., 1997; Jones N.L., 1997; Ayfor J.F., 1994; Hufford C.D., 1993.
Лектины и полипептиды	Маннозо-специфический агглютинин, фабатин		<i>Candida</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> и др., Грам-, <i>E. hirae</i> Грамм+ бактерии HIV		Meyer J.J., 1997; Zhang Y., 1997; Terras F.R.G., 1993; De Bolle M.F., 1996.

мембран [Tsuchiya H., 1996]. Улунг (сорт зелёного китайского чая) содержит флавоноиды – катехины, которые обладают антимикробной активностью, ингибируя, в частности, в условиях *in vitro* рост культур *Vibrio cholerae* O1, *Streptococcus mutans*, *Shigella* и других видов микроорганизмов. Катехины инактивировали холерный токсин и ингибировали изолированные бактериальные глюкозилтрансферазы *S. mutans* [Nakahara K., 1993; Borris R.P., 1996]. Эффективность катехинов была доказана в экспериментах *in vivo*: у 40% подопытных крыс, которых держали на диете, содержащей 0,1% катехинов чая, отмечали заживление полостей, вызванных кариесом (*S. mutans*). Флоретин, обнаруженный в некоторых сортах яблок, может проявлять активность против большого количества микроорганизмов [Hunter M.D., 1993]. Галангин, выделенный из пиренейских трав *Helichrysum aureonitens*, характеризуется высокой активностью против грибов [Afolayan A.J., 1997], широкого круга грампозитивных бактерий и вирусов, особенно – вируса простого герпеса первого типа (HSV-1) и вируса Коксаки типа В (Coxsackievirus) [Meyer J.J., 1997].

Танины – полимерные фенольные вещества, способствующие образованию желатина и содержащиеся во всех частях растений: листьях, корнях, плодах и семенах [Scalbert A., 1991]. На этой группе растительных веществ в последние годы сосредоточено особое внимание исследователей в связи с тем, что именно с танин-содержащими компонентами связывают в настоящее время способность зелёного чая и красного вина лечить и предупреждать большое количество заболеваний [Serafini M., 1994]. Многие важные физиологические эффекты, такие как стимуляция фагоцитарных клеток, антиопухолевая активность и широкий круг антиинфекционных воздействий принадлежат танинам [Haslam E., 1996]. Механизм их антимикробного действия аналогичен хинонам: инактивация микробной адгезии, энзимов, нарушение транспорта протеинов, образование комплексов с полисахаридами [Ya C., 1988]. Танины оказывают токсическое действие на **мицелий грибов** и на бактерии. Установлено, что танины повреждают клеточную стенку бактерий, предотвращают их рост и протеазную активность [Jones G.A., 1994].

Кумарины. Представляют собой фенольные субстанции, состоящие из растворимого бензола и кольца α -пирона [Colilla F.J., 1990]. Они обеспечивают наличие характерного запаха растений. На сегодняшний день идентифицировано около 1300 видов кумаринов [Hoult J.R., 1996]. Известность этих веществ обусловлена их антитромботическим, противовоспалительным и вазодилатирующим эффектами [Thastrup O., 1985]. Один из наиболее известных кумаринов – варфарин, широко используемый в качестве антикоагулянта в медицинской практике [Keating G.J., 1997]; Berkada B. (1978) выявили у него также антивирусный механизм действия. Экспериментами *in vitro* определили ингибирующее влияние кумаринов в отношении *Candida albicans*. R.D.

Thornes в своих трудах указывал на эффективность применения кумаринов для лечения вагинального кандидоза у беременных женщин [Thornes R.D., 1997]. Производные кумаринов – фитолексины, продуцируемые морковью, также характеризуются антигрибковой активностью [Hoult J.R., 1996]. Кроме «прямого» антимикробного действия, кумарины оказывают стимулирующее действие на макрофаги, что обуславливает синтез и выделение иммунокомпетентными клетками различных гидролитических ферментов, бактерицидных веществ и свободных радикалов [Casley-Smith J.R., 1997].

Лектины и полипептиды. Сообщение о пептидах, способствующих ингибированию роста микроорганизмов, появилось в 1942 году. Механизм их действия объясняли образованием ионных каналов в мембранах микробных клеток или конкурентным ингибированием адгезии протеинов микроорганизмов к полисахаридным рецепторам макроорганизма [Terras F.R., 1993]. Ингибирование роста бактерий и грибов макромолекулами пептидов и лектинов, выделенных из растения Амарантуса, известно давно. Тионины представляют собой пептиды, выделенные из ячменя и пшеницы и состоящие из 47 аминокислотных остатков. Они токсичны в отношении грибов, грамотрицательных и грамположительных бактерий [de Caley R.F., 1972]. Тионины AX1 и AX2 из сахарной свёклы активны против грибов, но не активны против бактерий [Kragh K.M., 1995].

Терпеноиды и эфирные масла. Запах растений обусловлен, в значительной степени, содержанием эфирных масел, которые являются вторичными метаболитами изопреновых веществ, называемых терпенами, их химическая формула – $C_{10}H_{16}$ и, в зависимости от количества углеводородных групп, различают дитерпены, тритерпены, тетратерпены и т. д. Когда в структуре терпенов появляются дополнительные элементы, обычно – кислород, их называют терпеноидами. Они синтезируются из уксусной кислоты и участвуют в метаболизме жирных кислот, от которых отличаются разветвлённым циклическим строением. Примерами терпеноидов являются метанол и камфорное масло (монотерпены), фарнезол и артемизин (сесквитерпеноиды). Артемизин используют в качестве антималярийного препарата [Vishwakarma R.A., 1990]. Терпены и терпеноиды характеризуются антибактериальной активностью [Tassou S.C., 1995; Taylor R.S., 1996], антигрибковым действием [Suresh B., 1997], антивирусным [Sun H.D. et al., 1996] и антипротозойным эффектами [Vishwakarma R.A., 1990]. В 1977 году было установлено, что 60% эфирных масел обладают способностью ингибировать рост грибов, а 30% масел – рост бактерий [Chaurasia S.C., Vyas K.K., 1977].

Эфирные масла семян аниса, аира, камфоры, кедрового дерева, корицы, гвоздики, эвкалипта, герани, лаванды, лимона, лимонграсса, лайма, мяты, мускатного ореха, апельсина, пальмового дерева, розмарина, базилика, ветивера традиционно применяли

в различных целях в разных частях света [4]. Масла корицы, гвоздики и розмарина характеризуются антибактериальным и антигрибковым действиями [Ouatarra V. et al., 1997]. Масло корицы имеет антидиабетический эффект [5]. Противовоспалительное действие выявили у базилика [Singh S., Majumdar D.K., 1999]. Масло лайма оказывает иммуномодулирующее действие [6]. Масла лимона и розмарина обладают антиоксидантной способностью [Aruoma O.I. et al., 1996; Calabrese V. et al., 1999]. Эфирные масла мяты перечной и апельсина оказывают противоопухолевое действие [7]. Масло цитронеллы ингибирует рост и размножение грибов [De Billerbeck V.G. et al., 2001]. Лавандовое масло, проявляющее антибактериальную и антигрибковую активности, успешно используют для лечения ожогов и укусов [Cavanagh H.M., 2002].

Антимикробные механизмы действия терпенов окончательно не установлены. Известна их способность включаться в липофильные компоненты клеточных мембран микроорганизмов, вызывая их разрыв [Mendoza L. et al., 1997].

Фенолы и полифенолы. Некоторые из простейших биоактивных фитопроизводных состоят из обычного замещённого фенольного кольца. Коричная и кофейная кислоты являются типичными представителями большой группы фенилпропан-производных компонентов, которые находятся в состоянии максимального окисления. Известные травы – полынь и тимьян, содержащие кофейную кислоту, эффективны против вирусов [Wild R., 1994], бактерий [Thomson W.A., 1978] и грибов [Duke J.A., 1985]. Катехол и пирогаллол являются гидроксильными фенолами, токсичными в отношении микроорганизмов. Катехол имеет одну гидроксильную группу, пирогаллол – три. Расположение и количество гидроксильных групп определяет уровень токсичности к микроорганизмам, очевидно, что рост окислительного потенциала ведёт к возрастанию антимикробной активности [Geissman T.A., 1963]. Ряд авторов определили, что в большей степени окисленные фенолы обладали высоким ингибирующим действием в отношении микроорганизмов [Fesen M.R. et al., 1993]. Механизмы, отвечающие за антимикробный эффект фенолов, включают ферментативное ингибирование окисленных производных, возможно, путём реакции с сульфгидрильными группами или через неспецифические взаимодействия с протеинами [Mason T.L., Wasserman B.P., 1987].

Производные фенолов, содержащие С3-группу в боковой цепи, с низким уровнем окисления и не содержащие кислород, классифицируют как эфирные масла и, по данным из научной литературы, также обладают антимикробным эффектом. Типичным представителем является эвгенол, выделенный из гвоздичного масла. Эвгенол оказывает статическое действие и на грибы, и на бактерии.

Примером терпеноидов являются фарнезол и артемизин. Фарнезол – одно из известных в насто-

ящее время веществ, оказывающих регулирующее и модифицирующее действия на факторы вирулентности (изменение цвета колоний, образование гиф, процесс биоплёнкообразования) *Candida* spp., что определяет способность к инфицированию макроорганизма с развитием локального или системного кандидоза [8]. Токсичность фарнезола в отношении определённых организмов обусловлена продукцией и аккумуляцией реактивных кислородных веществ (ROS) [9-11]. Образование ROS ведёт к ингибированию электронной транспортной цепи [Machida K. et al., 1998; Machida K., Tanaka T., 1999], что служит основой воздействия фарнезола на митохондрии. Несмотря на сообщения с утверждением об отсутствии токсического действия фарнезола на грибы [12], известно, что он способен стимулировать генерацию ROS и оказывать токсический эффект на *C. albicans* [14, 15] и *Aspergillus nidulans* [13].

Терпеноидные компоненты – капсацин, афрамидиал и петалостимул тормозят рост *C. albicans*. Терпеноидные фенолы, входящие в состав растительных масел с антифунгальным эффектом, содержат карвакрол, эвгенол, тимол, каждый из которых не только тормозит рост грибов, но также влияет на их биоплёнкообразование и множественную лекарственную резистентность [4]. Изучены механизмы действия карвакрола, входящего в состав орегано и тимьяна, эвгенола гвоздики, корицы, эфирные масла которых взаимодействуют с клеточными компонентами, разрушают клеточную стенку и приводят к разрыву цитоплазматической мембраны микроорганизмов, способствуют ингибированию роста бактерий и грибов [Lambert R.J. et al., 2001]. Антимикробный эффект фенольных компонентов заключается в повреждении протеинов клеточной мембраны, связанных с ферментативными нарушениями, приводящими к разрушению клеточных компонентов, коагуляции цитоплазмы, альтерации жирных кислот и фосфолипидов клеточных мембран, повреждению энзимных механизмов метаболизма, нарушениям процессов жизнеобеспечения и электронного транспорта, влияющих на синтез ДНК и РНК, трансляцию белка и функции митохондрий эукариот [Taniguchi M. et al., 1988; Nychas G.J., 1995].

Механизм антифунгального действия лекарственных растений. Многие мембраноактивные антифунгальные агенты представляют собой катионные амфифильные компоненты, имеющие структуру гидрофобного кольца с гидрофильной боковой ветвью в виде изменяющейся катионной группы – амина. Гидрофобная составляющая имеет высокий коэффициент участия в липидных мембранах, но гидрофильная часть играет важную роль в изменении структуры клеточной мембраны путём изменения ионного гомеостаза и транспорта Ca^{2+} через кальциевые каналы. Антифунгальная активность зависит от структуры и физико-химических свойств препаратов, в частности, от наличия терпеноидного фенольного ароматического кольца со свободными ги-

дроксильными группами, наиболее активными представителями которых являются карвакрол, тимол, эвгенол, амиодарон. Карвакрол вызывает деполяризацию бактериальных клеточных мембран, увеличивая их проницаемость [16]. Амиодарон увеличивает активность плазменной мембранной H^+ - АТФ-азы и наружных транспортных калиевых каналов. Мембраноактивные антифунгальные агенты, такие как амиодарон и карвакрол, вызывают дозозависимый «взрыв» цитозоли Ca^{2+} и следующий за ним Ca^{2+} -зависимый стрессовый ответ в виде гибели дрожжевых грибов. Амплитуда и продолжительность кальциевого «взрыва» коррелировали с токсичностью препарата. Такой же эффект оказывали структурные изомеры карвакрола и тимола, значительно меньший эффект отмечали у эвгенола в той же концентрации [17]. Наряду с этим, Ca^{2+} , освобождающийся при кальциевом «взрыве», является триггером митохондриальной фрагментации, способствует выделению свободных кислородных радикалов и гибели клеток, что лежит в основе антифунгального эффекта.

Несмотря на успехи в открытии новых терапевтических антимикотиков, развитие резистентности остаётся основной клинической проблемой в лечении микозов. В этой связи большой интерес представляют данные о наличии, наряду с прямым фунгицидным действием лекарственных растений на возбудителей микозов, способности фитопрепаратов препятствовать механизмам устойчивости грибковых патогенов в отношении противогрибковых средств. Это феномен так называемой хемосенсибилизации (ХС), который первоначально был известен как стратегия противодействия резистентности опухолевых клеток к противоопухолевым химиотерапевтическим агентам; т.е. использование химического вещества, которое делает раковые клетки более чувствительными к химиотерапевтическим агентам. Развитие устойчивости в раковых клетках связано с мутацией генов-мишеней, которые можно регулировать эфлюксными насосами, выработкой ферментов, репарацией ДНК, детоксицирующими препаратами [Shabbits J.A. et al., 2003]. Однако механизмы устойчивости к противораковым химиотерапевтическим агентам идентичны механизмам устойчивости грибковых патогенов в отношении противогрибковых средств, в связи с чем ХС особенно полезны для химиотерапии микозов человека [18]. Использование ХС могло бы способствовать повышению эффективности лечения противогрибковыми средствами без увеличения риска негативных побочных эффектов путём повышения чувствительность грибов к коммерческим антигрибковым препаратам. По противогрибковому эффекту ХС слабее традиционных антимикотических средств, которые обычно функционируют на микромолярном уровне или менее. В то же время, ХС действуют как синергисты, изменяя патоген таким образом, что он становится более чувствительным к воздействию антигрибковых химиотерапевтических агентов [19, 20].

ХС потенциально могут увеличить действенность противогрибковых средств, при этом эффективные уровни доз коммерческих препаратов могут быть значительно снижены (в 10 раз и более) на фоне их применения. В течение последнего десятилетия всё в большем числе работ авторы отмечают, что некоторые натуральные продукты и специи растительного происхождения, по причине относительной нетоксичности для человека, применяемые в кулинарии на протяжении веков, увеличивают противогрибковую активность антимикотических химиопрепаратов. Механизм их действия до конца не изучен и включает способность ХС приводить к нарушению целостности мембраны грибов, ингибированию эфлюкса насосов или к индукции окислительного стресса [18]. Сведения о некоторых наиболее изученных компонентах лекарственных растений, оказывающих синергидный антимикотический эффект в комбинации с традиционными антифунгальными препаратами, приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Синергидный эффект компонентов лекарственных растений и коммерческих антифунгальных препаратов в отношении возбудителей микозов [18]

Химосенсибилизаторы	Антифунгальные препараты	Таксоны	Эффект взаимодействия/механизм	Лит. источник
Эфирные масла				
Карвакрол	Азолы	<i>C. albicans</i>	Синергидный/изменение ионного гомеостаза	[17]
Эфирное масло мирты	Амфотерицин В	<i>C. albicans</i> <i>A. niger</i>	Синергидный	[21]
Эвгенол	Флуконазол	<i>C. albicans</i>	Синергидный	[22, 23]
Терпеноиды				
Фарнезол	Флуконазол	<i>Candida</i> spp.	Синергидный/био-плёнообразование, биосинтез эргостерола, окислительный стресс	[24, 25]
Retigeric acid В (ретигериевая кислота)	Кетоконазол Флуконазол,	<i>C. albicans</i>	Синергидный/эфлюкс-насос, биосинтез эргостерола, окислительный стресс	[26]
Катехины и полифенолы				
L-DOPA (допамин)	Амфотерицин В	<i>Candida</i> spp.	Синергидный	Andreas F.A., 1979
Экстракт косточек винограда (полифенолы)	Амфотерицин В	<i>Candida</i> spp.	Синергидный/метаболизм фолиевой кислоты	[27]
Куркумин	Амфотерицин В, вориконазол, итраконазол, кетоназол, миконазол, нистатин, флуконазол	<i>C. albicans</i>	Высокий синергидный эффект/окислительный стресс	[28]
Алкалоиды				
Берберин	Флуконазол	<i>C. albicans</i> <i>A. fumigatus</i>	Синергидный	[29]

Из таблицы видно, что наиболее активными компонентами растений, оказывающими хемосенсибилизирующий эффект в отношении *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. являются эфирные масла, терпеноиды, катехины и полифенолы, алкалоиды. По данным из научной литературы, их синергидное антигрибковое действие обусловлено изменением ионного гомео-

стаза, способностью к снижению биоплёнокообразования, нарушению биосинтеза эргостерола, индукции окислительного стресса и эфлюксных насосов, изменению метаболизма фолиевой кислоты. При этом в настоящее время изучены далеко не все антифунгальные механизмы. Полученные данные имеют не только теоретический, научный интерес, но и важное практическое, прикладное значение. Так, например, при лечении микозов, вызванных *Candida* spp., целесообразно назначение антимикотических азоловых препаратов (флуконазола, кетоконазола, итраконазола и др.) в сочетании с синергидными фитосредствами, содержащими карвакрол, эвгенол, фарнезол, куркумин, берберин. При лечении кандидоза или аспергиллёза амфотерицином В усилении эффективности антимикотической терапии можно добиться путём его сочетания с приёмом эфирного масла мирты, экстракта виноградных косточек, куркумина, входящего в состав куркумы, допамина – препарата, часто используемого в лечении почечной недостаточности и нарушений артериального давления.

Таким образом, в связи с наличием у лекарствен-

ных растений, наряду с «прямым» фунгицидным и фунгистатическим действиями, «непрямого» воздействия, способствующего ингибированию механизма резистентности грибов – патогенов к антифунгальным препаратам; широкого спектра антимикробной активности, включающего (помимо антигрибкового) антибактериальный, противовирусный и антипротозойный эффекты в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов; иммуномодулирующего и противовоспалительного действия относительно макроорганизма, целесообразны дальнейшие научные исследования в целях более широкого использования фитосредств в практической работе врачей первичного звена здравоохранения с целью профилактики и лечения микозов. Подтверждением многочисленных достоинств и преимуществ фитопрепаратов, по сравнению с классическими фармакологическими препаратами, является и тот факт, что появилась новая наука – этноботаника, изучающая лекарственные растения, полезные для здоровья человека и применяемые им в качестве источника питания и лечебного воздействия [Cowan M.M., 1999].

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Almirante B., et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of Candida bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003 // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 1829-1835.*
2. *Klevay M.J., et al. Therapy and outcome of Candida glabrata versus Candida albicans bloodstream infection // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 60. – P. 273-277.*
3. *Leroy O., et al. Epidemiology, management and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006) // Crit. Care Med. – 2009. – Vol. 37. – P. 1612-1618.*
4. *Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils // BMC Complem. and Altern. Med. – 2006. – Vol. 6, №39.*
5. *Babu S., Prabuseenivasan S., Ignacimuthu S. Cinnamaldehyde – a potential antidiabetic agent // Div. of Ethnopharm., Entomol. Research Institute, Loyola College. Science Direct. – 2006. – №14. – P. 15-22.*
6. *Arias B.A., Ramon-Laca L. Pharmacological properties of citrus and their ancient, and medieval uses in the Mediterranean region // Ethnopharmacol. – 2005. – Vol. 97. – P. 89-95.*
7. *Kumar A., et al. Anticancer and radioprotective potentials of Mentha piperita // Biofactors. – 2004. – Vol. 22. – P. 87-91.*
8. *Langford M.L., et al. Candida albicans Czf1 and Efg1 coordinate the response to farnesol during quorum sensing, white-opaque thermal dimorphism, and cell death // Eukaryotic. Cell. – 2013. – Vol. 12. – №9. – P. 1281-1292.*
9. *Liu P., et al. Farnesol induces apoptosis and oxidative stress in the fungal pathogen Penicillium exansum // Mycologia. – 2010. – Vol. 102. – P. 311-318.*
10. *Savoldi M., et al. Farnesol induces the transcriptional accumulation of the Aspergillus nidulans apoptosis-inducing factor (AIF)-like mitochondrial oxidoreductase // Mol. Microbiol. – 2008. – Vol. 70. – P. 44-59.*
11. *Semighini C., et al. Farnesol-induced apoptosis in Aspergillus nidulans reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi // Mol. Microbiol. – 2006. – Vol. 59. – P. 753-764.*
12. *Davis-Hanna A., et al. Farnesol and dodecanol effects on the Candida albicans Ras1-cAMP signaling pathway and the regulation of morphogenesis // Mol. Microbiol. – 2008. – Vol. 67. – P. 47-62.*
13. *Savoldi M., et al. Farnesol induces the transcriptional accumulation of the Aspergillus nidulans apoptosis-inducing factor (AIF)-like mitochondrial oxidoreductase // Mol. Microbiol. – 2008. – №70. – P. 44-59.*
14. *Langford M.L., et al. Activity and toxicity of farnesol towards Candida albicans are dependent on growth conditions // Antimicrob. Agents. Chemother. – 2010. – Vol. 54. – P. 940-942.*
15. *Shirliff M.E., et al. Farnesol-induced apoptosis in Candida albicans // Antimicrob. Agents. Chemother. – 2009. – Vol. 53. – P. 2392-2401.*
16. *Xu I., et al. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli // Lett. Appl. Microbiol. – 2008. – Vol. 47. – P. 174-179.*
17. *Rao A., et al. Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway // Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – Vol. 54. – P. 5062-5069.*
18. *Bruce C.C., Kathleen L.C., Jong H.K. Chemosensitization as a means to augment commercial antifungal agents // Front. Microbiol. – 2012. – Vol. 3, №79.*
19. *Hemaiswarya S., Krutiventi A.K., Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases // Phytomedicine. – 2008. – Vol. 15. – P. 639-652.*
20. *Wagner H.H., Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals // Phyto-medicine. – 2009. – Vol. 16. – P. 97-110.*
21. *Mahboubi M.M., Ghazian B.F. In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with Myrtus communis es-*

- sential oil against clinical isolates of *Candida albicans* // *Phytomedicine*. – 2010. – Vol. 17. – P. 771-774.
22. Zore G.B., et al. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle // *Phytomedicine*. – 2011. – Vol. 18. – P. 1181-1190.
23. Ahmad A., et al. In vitro synergy of eugenol and methyleugenol with fluconazole against clinical *Candida* isolates // *J. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 59. – P. 1178-1184.
24. Shirliff M.E., et al. Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans* // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2009. – Vol. 53. – P. 2392-2401.
25. Yu L.H., et al. Possible inhibitory molecular mechanism of farnesol on the development of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilm // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2012. – Vol. 56. – P. 770-775.
26. Chang W.Q., et al. Retigeric acid B exerts antifungal effect through enhanced reactive oxygen species and decreased cAMP // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – Vol. 1810. – P. 569-576.
27. Han Y. Synergic effect of grape seed extract with amphotericin B against disseminated candidiasis due to *Candida albicans* // *Phytomedicine*. – 2007. – Vol. 14. – P. 733-738.
28. Sharma M., et al. Synergistic anticandidal activity of pure polyphenol curcumin 1 in combination with azoles and polyenes generates reactive oxygen species leading to apoptosis // *FEMS Yeast Res.* – 2010. – Vol. 10. – P. 570-578.
29. Lei G., et al. Berberin and itraconazole are not synergistic in vivo against *Aspergillus fumigates* isolated from clinical patients // *Molecules*. – 2011. – Vol. 16. – P. 9218-9233.

Поступила в редакцию журнала 29.08.2014

Рецензенты: М.В. Николенко, И.Н. Чайникова



КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ АСПЕРГИЛЛЕЗА, ВЫЗВАННЫЕ *NEOSARTORYA* SPP., И НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭТИХ МИКРОМИЦЕТОВ (ОБЗОР)

Рябинин И.А. (аспирант)*

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра медицинской микробиологии), Санкт-Петербург, Россия

© Рябинин И.А., 2014

Представлен обзор литературы, включающий доступные описания клинических случаев инвазивных микозов, вызванных *Neosartorya* spp. Изложены результаты определения у данных грибов чувствительности к антимикотикам, полученные методом серийных разведений в питательной среде RPMI 1640. Рассмотрены сведения о выделении неосарториями биологически активных низкомолекулярных соединений, проявляющих токсические, цитостатические и антимикробные эффекты.

Ключевые слова: антимикотики, аспергиллез, микотоксины, *Neosartorya*

CLINICAL CASES OF ASPERGILLOSIS CAUSED BY *NEOSARTORYA* SPP. AND SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF THESE MICROMYCETES (REVIEW)

Ryabinin I.A. (postgraduate student)

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

© Ryabinin I.A., 2014

We presented a review, includes available descriptions of the clinical cases of invasive fungal infections caused by *Neosartorya* spp. The results of susceptibility testing for these fungi to antimycotics, obtained by serial dilution method in culture medium RPMI 1640 have been described. Data about the secretion of some low-molecular biologically active substances, that exhibits toxic, cytostatic and antimicrobial effects by *Neosartorya* spp. are examined.

Key words: antimycotics, aspergillosis, mycotoxins, *Neosartorya*

* Контактное лицо: Рябинин Игорь Андреевич, Тел.: (812) 303-51-40

ВВЕДЕНИЕ

Neosartorya spp. – представители рода *Aspergillus*, секции *Fumigati*, являющиеся, наряду с известными в этой секции *A. fumigatus* и *A. lentulus*, возбудителями аспергиллеза, у которых обнаружена телеоморфа; в настоящее время находят все больше половых стадий у представителей этой секции. Таким образом, использование особого родового имени *Neosartorya* можно рассматривать, по-существу, как условность. В предыдущей статье [1] приведены подходы к их видовой идентификации. В дополнение к морфологическому ключу, ранее опубликованному, на рисунке 1 показаны зарисовки с электрооптических снимков аскоспор условно-патогенных неосарторий.

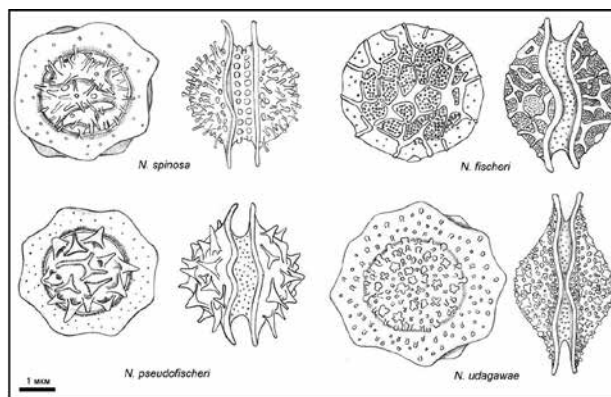


Рис. 1. Аскоспоры условно-патогенных представителей рода *Neosartorya*

Рельеф аскоспор – один из опорных признаков морфологической идентификации *Neosartorya* spp. Аскоспоры *N. hiratsukae* по строению напоминают таковые у *N. fischeri*, отличаются только более плотным смыканием экваториальных гребней, поэтому на рисунке они не показаны.

В данной статье приведены сведения о *Neosartorya* spp., представляющие интерес для клиницистов и лабораторных микологов.

Краткие описания клинических случаев микозов, вызванных *Neosartorya* spp., и данные о чувствительности неосарторий к антимикотикам

Микозы, вызванные *N. fischeri* и *N. fischeri* var. *spinosa* (*N. spinosa*).

I. Summerbell R.C. с соавторами (1992) описали случай эндокардита с поражением клапана легочного ствола у ребенка, оперированного по поводу тетрады Фалло в несколько этапов. Проведен курс комбинированной антимикробной терапии, включающей амфотерицин В (3,1 мг/кг массы), спустя 6 суток выполнено повторное оперативное вмешательство. Пациент скончался в результате остановки сердца вследствие массивной кровопотери. *N. fischeri* var. *spinosa* была выделена из вегетаций клапана. Отметим, что при перекрестном иммуноэлектрофорезе с сывороткой пациента были обнаружены антитела к *A. niger*, но не к родственному *A. fumigatus*.

II. Gerber J. и соавторы (1973) представили случай легочного аспергиллеза, вызванного *N. fischeri* var. *spinosa*. Гриб выделен в культуре при повторных посевах мокроты, показан положительный эффект лечения амфотерицином В. Проведена серодиагностика с применением реакции связывания комплемента, иммунодиффузии и иммуноэлектрофореза, показавшая высокую специфичность.

III. Случай посттравматического кератита у пациента 62 лет, вызванного *N. fischeri* var. *fischeri*. Поскольку терапия кетоконазолом была неэффективной, выполнили удаление тканей орбиты. Гриб выделен в культуре из тканей глаза (Coriglione G., et al., 1990).

IV. Пневмония смешанной этиологии, вызванная вирусом простого герпеса и *N. fischeri*, у пациентки 56 лет с миеломой, осложненной нейтропенией на фоне лечения. При микроскопии бронхоальвеолярного лаважа обнаружили эпителиоциты с картиной вирусного поражения и клеистоциты (!) возбудителя. Оба возбудителя были выделены в культуре. Применен курс амфотерицина В и ацикловира внутривенно, который оказался успешным (Chim C.S., et al., 1998).

V. Аспергиллез легких у 42-летнего мужчины, перенесшего ортотопическую (в естественное анатомическое положение) пересадку печени по поводу цирроза (хронический вирусный гепатит С). На 6-ой день после операции констатировали отсутствие функционирования трансплантата. Выполнена повторная пересадка, осложнившаяся острой почечной недостаточностью. На 2-ой день после операции в смыве из бронхов выявили септированный мицелий, в культуре выделен *N. fischeri*. Несмотря на проведенный курс терапии липосомальным амфотерицином В и фторцитозиним, пациент скончался. Очаги аспергиллеза отмечали в легких и головном мозге (Gori S., et al., 1998).

Микозы, вызванные *N. udagawae*.

I. Авторами [2] описан случай посттравматического кератита. Пациент проходил курс лечения кетоконазолом; после выделения из соскоба роговицы гриба, напоминающего *A. fumigatus*, был проведен пятимесячный курс терапии итраконазолом. Лечение оказалось неэффективным, развился микотический эндофтальмит, выполнили удаление тканей орбиты.

II. Инвазивный аспергиллез с образованием очагов в нижней доле левого легкого у 27-летнего пациента, больного X-сцепленным хроническим гранулематозным заболеванием. В анамнезе больной перенес 2 микоза легких. Начали лечением амфотерицином В и вориконазолом; затем амфотерицин был исключен, в результате чего состояние ухудшилось. После выделения из бронхиального аспириата *N. udagawae* терапия была изменена назначением вориконазола и каспофунгина. Спустя 2 недели, при отсутствии эффекта от терапии, применили позакон-

назол. Спустя еще 2 недели, наблюдали ухудшение рентгенологической картины, препарат заменили на амфотерицин В. Через 2 недели, при неоднозначной рентгенологической картине, к лечению добавили каспофунгин. Отмечали положительную динамику. Исход авторы не сообщают [3].

III. Инвазивный аспергиллез с поражением язычковой доли у 36-летней женщины с хроническим гранулематозным заболеванием. До микологической верификации использовали курс антибиотиков и итраконазола (400 мг/сут. внутривенно). Выявили ухудшение – появление лимфаденопатии средостения и утолщения медиастинальной плевры слева. Спустя 6 недель наблюдали улучшение общего состояния без изменения рентгенологической картины; пациентка была выписана с рекомендацией продолжить курс лечения итраконазолом в той же дозе per os. Спустя 2,5 месяца дозу итраконазола сократили вдвое из-за его плохой переносимости. Спустя еще 1 неделю общее состояние и рентгенологическая картина значительно ухудшились. Из биоптата легкого получили культуру *N. udagawae*. Начат курс лечения вориконазолом, но ввиду повышения уровня «печеночных» трансаминаз, он был заменен позаконазолом. По истечении 7 недель, отмечали тенденцию к выздоровлению. Исход терапии был успешным [3].

IV. Диссеминированный аспергиллез у больного (33 года) миелодиспластическим синдромом, связанным с моносомией 7. Пациент проходил лечение по поводу диссеминированного гистоплазмоза в сочетании с микобактериозом, вызванным *M. avium*-complex. Данная патология была устранена, но на фоне терапии позаконазолом вновь выявили ухудшение рентгенологической картины легких. Из биоптата легких выделена *N. udagawae*. Назначены вориконазол и каспофунгин. Спустя год пребывания в стационаре наблюдали прогрессирующее поражение легких, лимфаденопатию средостения, а также очаги в головном мозге и щитовидной железе. Возбудитель выделен из бронхоальвеолярного лаважа и церебрального биоптата. Начато лечение амфотерицином В, тербинафином и фторцитозиним, но спустя 5 суток пациент скончался. Септированные гифы с утолщениями обнаружены гистологически в легких, плевре, миокарде, обеих долях щитовидной железы и головном мозге [3].

V. Диссеминированный аспергиллез у пациента 29 лет с X-сцепленным хроническим гранулематозным заболеванием. У больного регистрировали повторные случаи поражения легких, вызванного *A. fumigatus*, по поводу которых его подвергали терапии антимикотиками и оперативным вмешательствам в возрасте 15, 17 лет и 21 года. Настоящий случай заболевания распознан в возрасте 23 лет как правосторонняя пневмония с поражением грудной стенки. Из биоптата легкого и бронхоальвеолярного лаважа выделена культура *A. fumigatus*. Начато лечение каспофунгином (амфотерицин В не использовали, поскольку у пациента предполагали связь нарушения

функции почек с этим препаратом). После временно-го улучшения, в течение последующих 3-х месяцев, наблюдали прогрессирующее поражение правого легкого с вовлечением в процесс паратрахеальных лимфоузлов и азигоэзофагеального синуса плевры, также появился инфильтрат в нижней доле левого легкого. Терапия вориконазолом и каспофунгином привела к некоторому улучшению. В возрасте 27 лет через переднюю грудную стенку дренировали абсцесс правого легкого; в 28 лет отмечали ухудшение дренирования и появление новых очагов в верхней доле левого легкого. Из биоптата и экссудата вновь выделена культура *A. fumigatus*. Спустя еще 3 месяца обнаружили новые инфильтраты в легких и абсцесс в печени. При более тщательной идентификации выделенную культуру идентифицировали как *N. udagawaae*. К лечению был добавлен AmB и тербинафин, но, несмотря на это, пациент скончался [3].

Микозы, вызванные *N. pseudofischeri*.

I. Несколько штаммов выделено из мокроты от трех больных пузырьным фиброзом вместе с *A. fumigatus*. Все изоляты проявили очень низкую чувствительность к вориконазолу (МИК₉₅=4 – 8 мкг/мл), но сохраняли *in vitro* чувствительность к итраконазолу (МИК₉₅=0,5 – 1 мкг/мл, кроме 1 штамма) и амфотерицину В (МИК₉₅=0,25 – 1 мкг/мл) [4].

II. Случай остеомиелита у 77-летнего мужчины, больного силикотуберкулезом. Обнаружены очаги распада в телах 2 и 3 поясничных позвонков, проведена открытая биопсия. При гистологическом исследовании выявили септированный мицелий и элементы гранулем, в культуре выделена *N. pseudofischeri*. Лечение и исход случая авторами не приведены (Padhye A.A., et al., 1994).

III. Случай микотического перитонита, развившегося у 8-летней девочки, проходившей перитонеальный диализ. Перитонеальный катетер удалили, провели терапию липосомальным амфотерицином В и вориконазолом, которая оказалась успешной (Matsumoto N., et al., 2002).

IV. Случай поражения уха (без уточнения локализации) у пациента с пересадкой костного мозга спустя 3 месяца после операции. Культура получена из биоптата. Применяли лечение липидным комплексом амфотерицина В в сочетании с вориконазолом и каспофунгином, которое оказалось успешным, но пациент скончался от прогрессирующей лейкемии [5].

V. 2 случая колонизации у больного с пузырьным фиброзом; культура анаморфы (*A. thermomutatus*) выделена из мокроты. Клинические данные не приведены [5].

VI. Инвазивный аспергиллез у 17-летнего больного лимфомой Ходжкина, подтвержденный позитивной гемокультурой, выделенной с помощью системы ВАСТЕС 9050 и обнаружением галактоманна в сыворотке. Проведен курс терапии амфотерицином В (0,86 мг/кг/сут) 16 дней, затем – итраконазолом (200 мг/сут) до 5 недель. Исход благоприятный [6].

VII. Диссеминированный аспергиллез у пациента 48-лет после перенесенной трансплантации костного мозга по поводу острой лимфобластной лейкемии L2. На 28-30 день после операции появились небольшие (0,3-1 см) язвенные очаги с центральным некрозом на руках и туловище. Из кожного биоптата выделена культура неидентифицированного гриба. Начата терапия амфотерицином В (1 мг/кг/день). На 33 день у больного появилась неврологическая симптоматика – дизлексия и правосторонний парциальный припадок. С помощью магнитно-резонансной томографии выявили отек левой височной доли без очагов. Во время лечения неоднократно предпринимали попытки снизить дозу метилпреднизолона, но это вызывало развитие феномена «трансплантат-против-хозяина» и прогрессивное ухудшение неврологической симптоматики. Доза амфотерицина В была увеличена до 1,5 мг/кг/сут., затем использовали липосомальный амфотерицин В в дозе 5 мг/кг/сут. Пациент скончался на 60-ый день после операции при терапии липосомальным AmB в общей дозе 7625 мг. На вскрытии обнаружили очаги микоза с абсцедированием в легких, сердце, селезенке, щитовидной железе, коже, печени и мозге (Lonial S., et al., 1997).

Помимо описанных случаев, Peterson S.W. (1992) упоминает в своей работе о двух штаммах *N. pseudofischeri*, выделенных от пациентов в 1929 и 1971 гг., однако клинические описания этих случаев не сохранились, а изоляты неосарторий идентифицировали ретроспективно.

Микозы, вызванные *N. hiratsukae*.

I. Описан случай микотического перитонита со смертельным исходом у больного, проходящего длительный амбулаторный курс перитонеального диализа. Перитонеальный катетер был удален, проведена антифунгальная терапия, которая оказалась неэффективной [7].

II. Случай аспергиллеза мозга. Пациентка 75-лет поступила с неврологической симптоматикой: нарушением памяти и моторной функции правой руки, а также клиникой, напоминающей паркинсонизм. При магнитно-резонансной томографии наблюдали субтенториальные и супратенториальные абсцессы мозга, которые были дренированы. Выяснили, что в анамнезе женщина перенесла хроническое заболевание легких, а на момент обследования обнаружили двусторонний экссудативный плеврит. Из отделяемого содержимого абсцессов выделили культуру *N. hiratsukae*. Проведен курс терапии амфотерицином В и итраконазолом, на фоне которого отмечали улучшение неврологической симптоматики. Пациентка скончалась от полиорганной недостаточности (Guarero J., et al., 2002).

Чувствительность клинических изолятов *Neosartorya* spp. к антимикотикам представлена в таблице 1.

Таблица 1

Чувствительность к антимикотикам *Neosartorya* spp. и их анаморф на среде RPM1 1640

Штамм	Протокол	МИК (мкг/мл)						МЭК (мкг/мл)		Ссылка
		AmB	ITZ	VRZ	PSZ	TRB	FC	CSP	MCF	
<i>N. pseudofischeri</i> FH274	CLSI M38-A	0,5	1	2	—	—	—	0,015	—	[5]
<i>A. thermomutatus</i> FH240	CLSI M38-A	2	1	4	—	—	—	0,03	—	[5]
<i>A. thermomutatus</i> FH242	CLSI M38-A	1	1	2	—	—	—	0,03	—	[5]
<i>N. udagawae</i> 1	CLSI M38-A2	1	1	2	0,25	0,25	—	1	≤0,015	[3]
<i>N. udagawae</i> 2	CLSI M38-A2	2	1	2	0,25	0,5	—	0,25	≤0,015	[3]
<i>N. udagawae</i> 3	CLSI M38-A2	2	4	>16	0,5	0,5	—	0,5	≤0,015	[3]
<i>N. udagawae</i> 4	CLSI M38-A2	0,5-1	1	1-4	0,5	0,5-1	—	0,25-0,5	≤0,015	[3]
<i>N. hiratsukae</i>	NCCLS M38-P	1	0,25	0,25	—	—	64	—	—	*

Сокращения: МИК – минимальная ингибирующая концентрация; МЭК – минимальная эффективная концентрация; AmB – амфотерицин В; ITZ – итраконазол; VRZ – вориконазол; PSZ – позаконазол; TRB – тербинафин; FC – флуконазол; CSP – каспофунгин; MCF – микафунгин. * – данные по Guarro J., et al., 2002

Биологически активные соединения, вырабатываемые *Neosartorya* spp.

Сравнение профиля биологически активных метаболитов, синтезируемых условно-патогенными *Neosartorya* spp., *A. fumigatus* и *A. lentulus*, представлено ниже в тексте [8, 9].

<i>N. fischeri</i>	α-сарцин, фумитреморгин А, фумитреморгин С, триптоквивалин А, веррукулоген, трипацидин, TR-2, азоналенин, фишерин, неосарторин, фискалины, гельволовая кислота, неофипиперазины, ардеемины
<i>N. pseudo-fischeri</i>	Глиотоксин, асперфуран, пирипиропены, цитохалазин-подобное соединение, фискалин-подобное соединение
<i>N. spinosa</i>	Азоналенины, 2-пировойламинобензамид, псеуротин
<i>N. hiratsukae</i>	Авенациолид
<i>N. udagawae</i>	Фумигатин, фумигиллин, триптоквивалин, триптоквивалон
<i>A. fumigatus</i>	Глиотоксин, фумигиллин, фумигаглавин С, фумитреморгин С, фумиквиназолины, трипацидин, метилсулохин, TR-2, веррукулоген, гельвелловая кислота, пирипиропены
<i>A. lentulus</i>	Циклопизоновая кислота, терреин, неосарторин, аурантин, пирипиропены А, Е и О

Далее приведены описания эффектов «малых» метаболитов условно-патогенных неосарторий, действие которых изучено.

Авенациолид. У *N. hiratsukae* обнаружена продукция авенациолида – водонерастворимого антибиотика, не используемого в лечебных целях. Это соединение впервые выделено у *Aspergillus avenaceus* в 1967 г. Korzybski с соавторами. Авенациолид блокирует транспорт глутамата в митохондриях, а также вызывает высвобождение из них сукцината и некоторых двухвалентных катионов металлов (Ca^{+2} , Mg^{+2} и Mn^{+2}). В высоких концентрациях (200 нмоль/мг белка) авенациолид вызывает набухание митохондрий и разобщение дыхательной цепи. Этот антибиотик, наряду с близкими по структуре бис-γ-лактонами (изоавенациолидом и этиолидом), обладает фунгистатическим действием – подавляет прорастание конидий фитопатогенного гриба *Colletotrichum gloeosporioides* [10].

Ардеемины – группа индольных алкалоидов, которые, подобно фумитреморгену С (см. ниже) и его аналогам, способны ингибировать работу АТФаз-насосов, обеспечивающих множественную лекарственную устойчивость клеток злокачественных новообразований [11]. Но, в отличие от производных фумитреморгена С, сообщают о более широком диапазоне линий полирезистентных злокачественных клеток,

культуры которых становятся чувствительными в присутствии природных и синтетических ардееминнов к традиционными цитостатикам: мелкоклеточный и немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома толстой кишки, лимфобластный лейкоз (Chou T.-C., et al., 1998; Mendez-Vidal C., Quesada A.R., 1998).

Азоналенины. Первое соединение этого семейства было выделено из культуры *Aspergillus zonatus* в 1982 г. Kimura Y. и соавторами. Азоналенины проявляют нейротропное действие – служат ингибиторами субстанции Р (пептидный нейромедиатор).

Асперфуран – перспективный низкомолекулярный метаболит, обладающий антифунгальной активностью, в том числе – в отношении некоторых зигомизетов (*Lichtheimia* spp., *Thamnidium* spp., *Mucor miehei*). Механизм действия асперфурана связан с блокадой хитин-синтазы (Pfefferle W., et al., 1990).

α-сарцин является белковым токсином – рибонуклеазой (150 аминокислот), мишень которого – 28S рибосомальная РНК. Впервые он был найден у *A. giganteus* (секция Clavati). Благодаря блокаде биосинтеза белка на рибосомах α-сарцин опосредовано вызывает апоптоз клетки (Olmo N., et al., 2001).

Гельволовая кислота (прежнее название – фумигацин) – антибиотик из группы фузиданов, по химической структуре – стероид. Rementeria A. и соавторы сообщают, что данный токсин угнетает активность макрофагов и повреждает ресничный эпителий, вызывает цилиостаз [12]. Механизм действия гельволовой кислоты до конца не выяснен, однако известно, что у археи *Sulfolobus solfataricus* гельволовая кислота блокирует фактор элонгации полипептидной цепи 2 (de Vendittis E., et al., 2002). У архей, в отличие от эубактерий, рибосомы более сходны с эукариотическими, например, они восприимчивы к дифтерийному токсину. Поэтому, возможно, гельволовая кислота проявляет такой же эффект у человека. Не следует путать этот метаболит с гельвелловой кислотой – гипотетическим микотоксином, синтез которого приписывали строчкам.

Глиотоксин – один из наиболее хорошо изученных микотоксинов, для которого достоверно доказана роль в патогенезе аспергиллеза у человека. Его эффекты многообразны и связаны с взаимодействием дисульфидной группы с тиоловыми группами в молекулах белков. На заре исследования глиотокси-

на был выявлен широкий спектр антибактериальной и антифунгальной активностей этого соединения, но высокая токсичность и отсутствие стабильности при хранении не позволили использовать его в терапевтических целях. В настоящий момент глиотоксин можно рассматривать в качестве перспективного биомаркера в комплексной диагностике аспергиллеза физико-химическими методами (сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография или жидкостная хроматография/масс-спектрометрия), однако еще не установили, может ли этот метаболит аспергиллов достигать существенной для ошибки анализа концентрации в биологических жидкостях за счет употребления контаминированных продуктов питания. Важнейший эффект глиотоксина – индукция апоптоза многих типов клеток иммунной системы. Также этому соединению присуща нефротоксичность (Елинов Н.П., 2002).

Неосарторин – желтый пигмент, обладающий свойством антибиотика: он активен против грамположительных бактерий, включая стафилококки, энтерококки, стрептококки и *Bacillus subtilis* (минимальные ингибирующие концентрации находятся в пределах 4-32 мкг/мл). Неосарторин также выделили из культуры *Aspergillus fumigati* [13].

Пирипиropены – блокаторы ацил-коэнзим А:холестерин ацилтрансферазы препятствуют образованию эфиров холестерина [14]. Возможно, эти соединения и их аналоги в будущем найдут применение в лечении дислипидемических болезней.

Псеуротин А, обнаруженный ранее у *A. fumigatus*, подавляет продукцию IgE [15].

Сартролактон и 7-метилсартролактон. Впервые эти соединения были получены путем переработки авенацдиолида, а позднее – выделены из бульонной культуры *Neosartorya* sp. Эти γ -лактоны снижают выработку монооксида азота (NO) при стимуляции макрофагов мыши липополисахаридом [16].

Треморогенные микотоксины – это группа нейротропных ядов, которые у неосарторий представлены широко встречающимся у разных видов аскомицетов веррукулогеном (и его предшественником TR-2), триптоквивалином А и триптоквивалоном, а также фумитреморгенами А и С, более специфичными для этой группы грибов. Последние также останавливают клеточный цикл на стадии интерфазы G2 (Loevezij A.V., et al., 2001). Способность веррукулогена вызывать тремор связывают с эффектом снижения концентрации в центральной нервной системе тормозного медиатора – γ -аминомасляной кислоты (Hotujac L., et al., 1976). Механизм аналогичного действия у фумитреморгенов пока не объяснен, эти соединения привлекают интерес по другой причине. Показано, что фумитреморген С является ингибитором белка резистентности рака молочной железы (BCRP – Breast Cancer Resistance Protein). BCRP принадлежит к числу АТФаз-мембранных переносчиков, его активность связана с потерей эффективности терапии рака молочной железы химиотерапевтическими

агентами, такими как митоксантрон, доксорубин, даунорубин, топотекан. Синтезированы сходные с фумитреморгеном малотоксичные аналоги для лечения злокачественных неоплазий (Loevezij A.V., et al., 2001).

Фискалины А, Б и С – нейротропные соединения, являющиеся антагонистами пептидного нейромедиатора – субстанции Р, играющего важную роль в рецепции боли и опосредующего ряд нейрогенных реакций при развитии воспаления (Wong S.-M., et al., 1993).

Фишерин – микотоксин из культуры *Neosartorya fischeri* var. *fischeri*, вызывающий у мышей перитонит со смертельным исходом при внутрибрюшном введении (Fujimoto H., et al., 1993). Механизм токсического действия фишерина еще не установлен.

Фумагиллин – ингибитор метионин-аминопептидазы-2 – фермента, участвующего в посттрансляционной модификации белков. Его блокада связана с нарушением некоторых клеточных сигнальных систем. Благодаря такому действию фумагиллин и его дериваты активны против многих простейших (*Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma brucei*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania donovani*, *Encephalitozoon* spp. и др.), а также подавляют ангиогенез в новообразованиях [17]. Применение данного препарата у человека невозможно из-за высокой токсичности. В настоящее время фумагиллин используют для лечения нозематоза пчел (инвазивный микоз, вызываемый *Nosema apis*, паразитическим грибом из отдела Microsporidia).

Фумигатин – метаболит, выделенный на заре эры антибиотиков Anslow W.K. и Raistrick H. из культуральной жидкости *A. fumigatus* в 1938 г. Как указывают Waksman S.A. с соавторами (1943 г.), этот антибиотик активен против грамположительных бактерий, но спектр чувствительных к нему грамотрицательных видов узок (*Salmonella* spp. и некоторые другие энтеробактерии). Аналогичные субстанции приблизительно в то же время выделили из культур *Penicillium spinulosum* и некоторых базидиомицетов.

Помимо вышеназванных веществ, показано, что *N. fischeri* способна к синтезу ряда соединений, блокирующих репликацию вируса табачной мозаики [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленных данных видно, что условно-патогенные неосартории не только занимают нишу среди возбудителей аспергиллеза, представляя серьезную проблему для клиницистов и лабораторных микологов, но и являются продуцентами биологически активных метаболитов, которые могут быть началом сериям новейших терапевтических средств, в том числе – для лечения бактериальных и микотических инфекций, а также злокачественных новообразований. С позиции медицинской микологии, слабо разработанной остается проблема чувствительности неосарторий к антимикотикам: сведения малочис-

ленны и многие получены по устаревшим протоколам; не объяснен парадоксальный эффект превосходства действия итраконазола над вориконазолом *in vitro*. Для разрешения этой проблемы необходимо создание большой выборки «криптических» видов

Aspergillus spp., включая неосартории, и исследование ее по действующим протоколам определения чувствительности.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Рябинин И.А. Видовая идентификация возбудителей аспергиллеза из рода *Neosartorya* Malloch & Cain (обзор литературы)// Проблемы медицинской микологии. – 2014. – Т. 16, №2. – с. 9-14.
2. Posteraro B., et al. Uncommon *Neosartorya udagawae* fungus as a causative agent of severe corneal infection// J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49, Is.6. – P. 2357-2360.
3. Vinh D.C., et al. Invasive aspergillosis due to *Neosartorya udagawae*// Clin. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 49, Is.1. – P. 102-111.
4. Symoens F., et al. Unusual *Aspergillus* species in patients with cystic fibrosis// Med. Mycol. – 2010. – Vol. 48, Suppl. 1. – P. 10-16.
5. Balajee S.A., et al. Mistaken identity: *Neosartorya pseudofischeri* and its anamorph masquerading as *Aspergillus fumigatus*// J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43, Is.12. – P. 5996-5999.
6. Jarv H., et al. Isolation of *Neosartorya pseudofischeri* from blood: first hint of pulmonary aspergillosis// J. Clin. Microbiol. – 2004. – Vol. 42, Is.2. – P. 925-928.
7. Koutrotsos K., et al. *Neosartorya hiratsukae* peritonitis through continuous ambulatory peritoneal dialysis// J. Med. Microbiology. – 2010. – № 59, Pt.7. – P. 862-865.
8. Samson R.A., et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*// Studies in Mycology. – 2007. – № 59. – P. 147-203.
9. Larsen T.O., et al. Production of mycotoxins by *Aspergillus lentulus* and other medically important and closely related species in section *Fumigati*// Medical Mycology. – 2007. – Vol. 45, №3. – P. 225-232.
10. Magaton A.S., et al. Synthesis and antifungal activity of new bis- γ -lactones analogous to avenaciolide// J. of the Brazil. Chem. Society. – 2007. – Vol. 18, №2. – P. 284-290.
11. Zheng X., et al. Reversal of multidrug resistance in vitro and in vivo by 5-N-formylardeemin, a new ardeemin derivate// Apoptosis. – 2014. – Vol. 19, Is.8. – P. 1293-1300.
12. Rementeria A., et al. Genes and molecules involved in *Aspergillus fumigatus* virulence// Rev. Iberoam Micol. – 2005. – Vol. 22, Is. 1. – P. 1-23.
13. Ola A.R.B., et al. Absolute configuration and antibiotic activity of neosartorin from the endophytic fungus *Aspergillus fumigati*affinis// Tetrahedron Letters. – 2014. – Vol. 55, Is.5. – P. 1020-1023.
14. Frisvad J.C., et al. Metabolomics of *Aspergillus fumigatus*// Med. Mycol. – 2009. – Vol. 47, Suppl.1. – P. 53-71.
15. Ishikawa M., et al. Pseurotin A and its analogues as inhibitors of immunoglobuline E production// Bioorganic & Medical Chemistry Letters. – 2009. – Vol. 19, Is.5. – P. 1457-1460.
16. Yang S.S., et al. Bioactive γ -lactones from the fermented broth of *Neosartorya* sp.// Plant. Med. – 2010. – Vol. 76, Is.15. – P. 1701-1705.
17. Arico-Muendel C., et al. Antiparasitic activities of novel, orally available fumagillin analogs// Bioorganic & Medical Chemistry Letters. – 2009. – Vol. 19, Is.17. – P. 5128-5131.
18. Tan Q.W., Ouyang M.A., Shen S., Li W. Bioactive metabolites from marine-derived strain of the fungus *Neosartorya fischeri*// Nat. Prod. Res. – 2012. – Vol. 26, Is.15. – P. 1402-1407.

Поступила в редакцию журнала 10.09.2014

Рецензент: О.Д. Васильев



УДК 616.594.171.2:616.381-002

СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ КАНДИДОЗНОГО ПЕРИТОНИТА (ВОЗБУДИТЕЛЬ – *CANDIDA ALBICANS*) У ПАЦИЕНТКИ С ОСТРЫМ ПАНКРЕОНЕКРОЗОМ

¹ Хостелиди С.Н. (доцент кафедры)*,
¹ Шагдилеева Е.В. (аспирант), ¹ Сорокина
М.М. (клинический ординатор),
¹ Мелехина Ю.Э. (ассистент кафедры),
² Сатурнов А.В. (зав. ХОРИТ), ² Такуев Е.К.
(хирург), ² Ямов Л.В. (хирург), ¹ Рауш Е.Р.
(аспирант), ¹ Богомолова Т.С. (зав. лаб.),
¹ Выборнова И.В. (н.с.), ¹ Мирзабалаева
А.К. (профессор кафедры), ¹ Климко Н.Н.
(зав. кафедрой)

¹ Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской
микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра клинической
микологии, аллергологии и иммунологии);
² Ленинградская областная клиническая больница,
Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

Представлен случай успешного лечения микотического перитонита у пациентки с острым панкреонекрозом. Пациентов с таким диагнозом и повторными оперативными вмешательствами на органах брюшной полости относят к группе высокого риска развития микотического перитонита, в связи с чем, при пребывании их в отделениях хирургической реанимации и интенсивной терапии (ХОРИТ) более 3-х дней, необходима антимикотическая профилактика. Для успешного лечения кандидозного перитонита и снижения риска летального исхода у данной группы пациентов требуется своевременное назначение адекватной антимикотической терапии в сочетании с хирургическими вмешательствами.

Ключевые слова: антимикотическая профилактика, инвазивные микозы, *Candida albicans*, кандидозный перитонит, острый панкреонекроз

CASE OF SUCCESSFUL TREATMENT OF CANDIDA PERITONITIS (PATHOGEN – *CANDIDA ALBICANS*) AT PATIENTS WITH ACUTE PANCREONECROSIS

¹ Khostelidi S.N. (associate professor of the chair), ¹ Shagdileeva E.V. (postgraduate student), ¹ Sorokina M.M. (clinical physician), ¹ Melekhina Yu.E. (assistant of the chair), ² Saturnov A.V. (head of the department), ² Takuev E.K. (surgeon), ² Yamov L.V. (surgeon), ¹ Raus E.R. (postgraduate student), ¹ Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹ Vybornova I.V. (scientific collaborator), ¹ Mirzabalaeva A.K. (professor of the chair), ¹ Klimko N.N. (head of the chair)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Chair of Clinical Mycology, Allergology and Immunology); ²Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2014

Case of successful treatment of mycotic peritonitis in a patient with acute pancreatic necrosis has been presented. Patients with such diagnosis and repeated interventions on the abdominal organs belong to the high risk group of mycotic peritonitis development, so therefore, when their stay in departments of surgical intensive care (HORIT) more than 3 days required antimycotic prophylaxis. For the successful treatment of Candida peritonitis and reduce the risk of fatal outcome in this group of patients requires the timely use of adequate antifungal therapy in combination with surgical intervention.

Key words: acute pancreatic necrosis, antifungal prophylaxis, *Candida albicans*, *Candida* peritonitis, invasive fungal infections

* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна,
Тел.: (812) 303-51-46

Кандидозный перитонит составляет 10-15% от всех случаев инвазивного кандидоза, характеризуется тяжелым течением, высокой частотой гематогенной диссеминации с поражением различных органов и систем, а также высокой летальностью (10-47%) [1].

Обычно кандидозный перитонит развивается у больных в отделениях хирургической реанимации и интенсивной терапии (ХОРИТ) или как осложнение перитонеального диализа. Основные факторы риска – перфорация желудка или кишечника, абдоминальная хирургическая патология и перитонеальный диализ.

Распространённость микотической инфекции у пациентов с острым панкреатитом составляет до 37% [De Waele J., et al. // Clin Infect Dis. – 2003. – Vol.37, №2]. Длительное пребывание в ОРИТ, применение антибиотиков широкого спектра действия, многочисленные оперативные вмешательства, использование парентерального питания и искусственной вентиляции легких (ИВЛ) являются дополнительными факторами, увеличивающими риск развития микотической инфекции.

Количество публикаций, посвященных данной проблеме, ограничено.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлен случай успешного лечения кандидозного перитонита, развившегося на фоне острого панкреонекроза, осложнившегося абдоминальным сепсисом и синдромом полиорганной недостаточности (СПОН). Повторные оперативные вмешательства, интенсивные реанимационные мероприятия, своевременная диагностика и адекватная антимикотическая терапия способствовали спасению жизни женщины и клиническому выздоровлению. Для постановки диагноза инвазивного кандидоза (ИК) применяли клинические и лабораторные критерии, предлагаемые *EORTC/MSG*, 2008 [2, 3]. Также авторы провели анализ данных из научной литературы в базах PubMed (на май 2014 г.), ClinicalKey (на май 2014 г.) и eLibrary (на май 2014 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова: *candidosis, candidiasis, peritonitis, acute pancreonecrosis*.

Описание клинического случая

Больная Р., 40 лет, 24.01.2014 г. поступила в крайне тяжелом состоянии в ХОРИТ Ленинградской областной клинической больницы (ЛОКБ). Пациентка предъявляла жалобы на разлитые боли во всех отделах живота, наиболее интенсивные в эпигастральной области, диспепсические явления (тошноту, многократную рвоту), повышение температуры тела до 38,5 °С.

При объективном осмотре: состояние тяжелое, стабильное; температура тела фебрильная; сознание ясное, адекватное. Кожные покровы бледные, чистые, нормальной влажности. Дыхание самостоятельное. Над лёгочными полями дыхание жёсткое, проводится во все отделы, ослаблено в нижних отделах со всех сторон, больше слева, хрипов нет, ча-

стота дыхательных движений (ЧДД) – 22 в минуту. Гемодинамика стабильная. Тоны сердца приглушены, ритмичные, шумов нет. Артериальное давление (АД) – 125/80 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений (ЧСС) – 101 в минуту. Живот при пальпации мягкий, умеренно вздут, болезненный в верхних отделах, перистальтические шумы отсутствуют. Печень выступает из-под края рёберной дуги на 2 см. Тяжесть соматического состояния по шкале APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) – 3 балла.

Анамнез заболевания: 12.01.14 г. появились интенсивные боли в животе опоясывающего характера, вздутие живота, тошнота. 13.01.14 г. женщина была госпитализирована в центральную районную больницу с диагнозом «острый панкреатит». Проводили антибактериальную и спазмолитическую терапию, без отчётливого клинического эффекта. Состояние больной ухудшилось, температура тела повысилась до 39 °С, нарастали боли в животе опоясывающего характера. 24.01.14 г. пациентка в тяжёлом состоянии была переведена в ЛОКБ.

Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II ст., риск 3 ст.; ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз, хроническая сердечная недостаточность 0; диффузный узловатый нетоксический зоб; варикозное расширение вен нижних конечностей, дегенеративно-дистрофическое заболевание позвоночника.

При поступлении в клиническом анализе крови выявили лейкоцитоз ($15,7 \cdot 10^9/\text{л}$), выраженный палочкоядерный сдвиг влево, анемию (эритроциты $2,47 \cdot 10^9/\text{л}$, гемоглобин – 70 г/л), умеренный тромбоцитоз ($362 \cdot 10^9/\text{л}$). В биохимическом анализе крови – повышение уровня АЛТ (98 Е/л) и АСТ (166 Е/л), гипопропротеинемия (57,9 г/л). Альфа-амилаза крови – 33,12 Е/л. Прокальцитонинный тест – 1,55 нг/мл (норма – 0-0,5).

Результаты ультразвукового исследования (УЗИ) органов брюшной полости: размеры поджелудочной железы увеличены, контур неровный, чёткий, структура диффузно-неоднородная, эхогенность выше печеночной; позади поджелудочной железы (на уровне головки и тела) – отграниченная жидкостная структура 4,5*1,5 см; лоцируется свободная жидкость: в плевральных полостях – справа толщина анэхогенного слоя 3,5 см, слева – 4 см, в малом тазу – умеренно, по флангам – осумкованная. Заключение: картина отёчного панкреатита, асцита.

На компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза – картина отёчного панкреатита, парапанкреатита, гепатоспленомегалия, конкремент желчного пузыря, выраженный асцит.

С учётом ухудшения состояния больной (нарастание клинических и лабораторных признаков интоксикации, повышение уровня амилазы крови до 108,26 Е/л, APACHE II – 18 баллов), принято решение об экстренном оперативном вмешательстве.

25.01.14 г. была выполнена лапаротомия, некрсек-

вентрэктомия, санация и дренирование брюшной полости и забрюшинного пространства.

Проводили антибактериальную (ванкомицин 1 г в сутки), инфузионную, анальгетическую и спазмолитическую терапию.

Через 3-е суток состояние больной ухудшилось – нарастали явления перитонита, в связи с чем была выполнена релапаротомия, некрсеквестрэктомия, колонэктомия, холецистостомия, еюностомия, санация и дренирование парапанкреатических абсцессов, забрюшинного пространства и брюшной полости. Послеоперационный диагноз: панкреонекроз в фазе гнойных осложнений; некроз толстой кишки с перфорацией, формирование наружного дуоденального свища; парапанкреатические абсцессы; тотальная флегмона забрюшинной клетчатки; паранефральная флегмона с обеих сторон; сепсис.

При посеве отделяемого из дренажей выделили *Candida albicans* (культура была чувствительна к флуконазолу *in vitro*).

На основании клинических данных и результатов проведённого обследования был диагностирован кандидозный перитонит (возбудитель – *C. albicans*). Начато лечение флуконазолом в дозе 8 мг/кг/сутки, заменены центральный венозный катетер (ЦВК) и дренажи. Для выявления очагов диссеминации микотической инфекции провели дополнительное обследование (КТ легких и органов брюшной полости, офтальмоскопию, повторные посевы крови, мочи из отделяемого из дренажей).

31.01.14 г. была выполнена повторная релапаротомия (третье оперативное вмешательство), с целью ушивания дуоденоэюнального свища. На фоне проводимого лечения состояние пациентки оставалось стабильно тяжёлым, сохранялась лихорадка (до 38,9 °С). В клиническом анализе крови: лейкоцитоз (14,8·10⁹/л), прокальцитонинный тест – 4,12 нг/мл. К терапии был добавлен имипенем в дозе 2 г/сутки.

03.02.14 г. при посеве отделяемого из дренажей 3х-кратно (от 30.01., 31.01. и 01.02.14 г.) был получен рост *C. albicans*. В динамике, на фоне проводимого лечения, с 10.02.14 г. температура тела снизилась до субфебрильных цифр. По данным лабораторных анализов, наблюдали снижение количества лейкоцитов, прокальцитонинный тест – 0,10 нг/мл. На КТ органов брюшной полости от 10.02.14 г.: состояние после секвестрэктомии и дренирования парапанкреатической клетчатки, КТ – картина отёчного панкреатита, парапанкреатита, гепатоспленомегалия, конкремент желчного пузыря.

Для оценки эффективности антифунгальной терапии проведена вновь серия посевов отделяемого из дренажей (12-14.02.14 г.). Повторно была выделена культура *C. albicans*, чувствительная к флуконазолу *in vitro*, в связи с чем лечение было продолжено. Эрадикацию возбудителя из брюшной полости отмечали на 20-е сутки от начала применения флуконазола (19.02.14 г.).

После стабилизации состояния, улучшения лабо-

раторных показателей, пациентка была переведена на хирургическое отделение, где продолжила получать антимикотическую, антибактериальную и симптоматическую терапию.

На КТ органов брюшной полости от 25.02.14 г.: свободной жидкости и отграниченных жидкостных образований в брюшной полости и забрюшинном пространстве не обнаружено.

14.03.14 г. больная выписана на амбулаторное лечение под наблюдение хирурга и гастроэнтеролога по месту жительства. На момент выписки из стационара: состояние пациентки удовлетворительное, жалоб активно не предъявляла. Не лихорадит. Гемодинамика стабильная. ЧДД – 17 в минуту. Дыхание самостоятельное, проводится во все отделы, хрипов нет. При пальпации живот мягкий, не вздут, безболезненный. Клинические и биохимические показатели крови в пределах условной нормы. Общая длительность пребывания в стационаре – 49 койко-дней. Общая продолжительность лечения кандидозного перитонита (возбудитель – *C. albicans*) – 35 дней.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате поиска специальной литературы мы обнаружили 95 публикаций, посвященных кандидозному перитониту у пациентов в ОРИТ. В отечественной литературе были единичные публикации, посвященные этой проблеме.

Кандидозный перитонит – один из вариантов инвазивного кандидоза [1, 3-5]. В описанных клинических случаях это заболевание так же, как и в нашем случае, наиболее часто имело место у женщин. Возраст пациентов составляет от 18 до 90 лет [6-8; Montravers P., et al. // Clin. Infect. Dis. – 1996. – № 23; Dupont H., et al. // Arch. Surg. – 2002. – №137; Sandven P., et al. // Crit Care Med. – 2002. – №30; Eggimann P., et al. // Crit Care Med. – 1999. – №27].

Согласно опубликованным материалам, *Candida spp.* служат возбудителями вторичного перитонита после оперативного вмешательства на органах брюшной полости у 19,9% больных [9, 10].

Фоновыми заболеваниями развития перитонита, обусловленного *Candida spp.*, в основном, являются операции на органах ЖКТ, на втором месте – перитонеальный диализ, затем – цирроз печени [1, 8, 11, 12]. В описанном нами случае пациентке было выполнено два оперативных вмешательства до постановки диагноза кандидозного перитонита: лапаротомия, некрсеквестрэктомия, санация и дренирование брюшной полости и забрюшинного пространства и через 3 суток – релапаротомия, некрсеквестрэктомия, колонэктомия, холецистостомия, еюностомия, санация и дренирование парапанкреатических абсцессов, забрюшинного пространства и брюшной полости.

Возбудителем кандидозного перитонита у нашей пациентки была *C. albicans*. Согласно данным Европейских исследований, проведенных в ОРИТ за последние годы, она преобладает над другими видами

Candida и составляет 58-83% от всех возбудителей кандидозного перитонита. При этом частота *albicans* видов значительно возросла с 1996 по 2011 гг. [6, 7; Montravers P., et al. // Clin. Infect. Dis. – 1996. – № 23; Dupont H., et al. // Arch. Surg. – 2002. – №137; Sandven P., et al. // Crit Care Med. – 2002. – №30].

В описанных клинических случаях основным используемым препаратом для лечения кандидозного перитонита остается флуконазол (77%), реже применяют эхинокандины (13%), вориконазол (4%), амфотерицин В (4%) и различные комбинации данных препаратов (2%) [6, 8]. По данным из научной литературы, нет четкой связи благоприятного исхода, связанного с применением какого-то определенного антимикотического препарата [6, 7; Montravers P., et al. // Clin. Infect. Dis. – 1996. – № 23; Dupont H., et al. // Arch. Surg. – 2002. – №137; Sandven P., et al. // Crit Care Med. – 2002. – №30], а есть отдельные описания успешных случаев лечения кандидозного перитонита. Mora-Duarte et al. [N. Engl. J. Med. – 2002. – №347] сообщили о 16 случаях кандидозного перитонита: амфотерицин В был эффективен в 87,5% случаев, а каспифунгин – в 100%. Kuse et al. [13] наблюдали 28 пациентов, у которых липосомальный амфотерицин В был эффективен в 72,7% случаев, а микафунгин – в 82,4%, в то время как Pappas et al. [14] у 18 пациентов отметили успешность лечения при применении каспифунгина лишь в 40% случаев, микафунгина (100 мг/сут) – в 66,7% и микафунгина (150 мг/сут.) – в 57,1%. Летальность при кандидозном перитоните в отделениях реанимации и интенсивной терапии колеблется от 25% до 60% [6, 7; Montravers P., et al. // Clin. Infect. Dis. – 1996. – № 23; Dupont H., et al. // Arch. Surg. – 2002. – №137; Sandven P., et al. // Crit Care Med. – 2002. – №30; Eggimann P., et al. // Crit Care Med. – 1999. – №27].

Больные перитонитом нуждаются в динамическом наблюдении и при наличии показаний в антимикотической профилактике. Следует помнить, что более 10% всех случаев инфекций в ОРИТ обусловлено *Candida* spp., поэтому принципиальное значение имеет тщательное обследование перед назначением антимикотиков [10, 15].

Согласно национальным рекомендациям, опубликованным в 2010 году, антифунгальная профилактика целесообразна только в группах больных с частотой развития инвазивного кандидоза (более 10%), например, у пациентов с повторной перфорацией ЖКТ. Кроме того, для определения больных с риском инвазивного кандидоза более 10% используют представленные ниже комбинации факторов риска [1].

Препаратом выбора для антифунгальной профилактики в ХОРИТ является флуконазол в дозе 400 мг в сутки, который применяют до стабилизации состояния больного и исчезновения факторов риска развития инвазивного кандидоза.

Использование малых доз флуконазола, а также других азолов (кетокконазола, итраконазола) или по-

лиенов (нистатина и пр.) неэффективно и приводит к селекции резистентных к антимикотикам *Candida* spp.

Показаниями к проведению профилактики являются:

- повторная перфорация ЖКТ;
- инфицированный панкреонекроз;
- наличие двух и более факторов риска инвазивного кандидоза (в/в катетер, применение антибиотиков широкого спектра действия, острый панкреонекроз, гемодиализ, парентеральное питание, применение системных стероидов в течение трех дней до ХОРИТ, использование иммуносупрессоров в течение семи дней до ХОРИТ) в сочетании с распространенной (два и более несвязанных локусов) поверхностной колонизацией *Candida* spp.;
- пребывание в ХОРИТ более трех дней, наличие трех факторов риска инвазивного кандидоза (в/в катетер, проведение ИВЛ, применение антибиотиков широкого спектра действия более трех дней) в сочетании с одним из следующих факторов риска: абдоминальная хирургия, парентеральное питание, гемодиализ, панкреатит, использование системных стероидов в течение трех дней до ХОРИТ, применение иммуносупрессоров в течение семи дней до ХОРИТ.

Отметим, что с учетом развития острого панкреонекроза, длительности пребывания в ОРИТ, клинических проявлений системной воспалительной реакции, наличием ЦВК и отсутствием эффекта от проводимого антибактериального лечения, пациентка нуждалась в проведении антимикотической профилактики [1].

В представленном клиническом случае одним из ведущих факторов тяжелого состояния и микотических осложнений следует считать наличие острого панкреонекроза. Прогрессирующее течение данного заболевания обусловлено патологическим воздействием систем активированных панкреатических ферментов на ткань железы первоначально из интерстициального лимфатического русла, а позднее – через общий кровоток [16]. Наиболее частыми причинами острого панкреонекроза являются: рефлюкс ферментов железы в панкреатические протоки при желчнокаменной болезни, злоупотребление алкоголем, острой и жирной пищей, переизбыток. Реже панкреонекроз возникает вследствие повреждения протоков поджелудочной железы при ретроградной панкреатографии, нарушениях микроциркуляции в железе при шоке, синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. В 10-15% случаев этиологию заболевания выявить не удается [16, 17]. Любое повреждение панкреатического ацинуса (одноструктурная единица железы) или же его секреторная гиперактивация с последующим выходом активированных ферментов поджелудочной железы в интерстициальную ткань ведет к развитию острого панкреонекроза, что, собственно, мы наблюдали в представленном клиническом случае.

Гнойные осложнения обычно развиваются на 14-

30 день с момента возникновения острого панкреатита. Основным признаком начинающихся гнойных осложнений панкреонекроза является лихорадка, которая вначале носит перемежающийся, затем – гектический характер [17, 18]. Гипертермия сопровождается ознобом, потливостью, тахикардией, что имело место в представленном клиническом случае. Висцеральные осложнения в постнекротическом периоде разнообразны: свищи, кровотечения, сдавления и тромбозы селезеночной и воротной вен. Лечебный комплекс направлен на купирование болевого синдрома, снятие спазма сфинктера Одди, уменьшение секреторной активности поджелудочной железы, инактивацию протеаз, детоксикацию [18, 19], что было выполнено в реанимационном и хирургических отделениях.

Кроме применения антифунгальных препаратов, важным условием снижения частоты инвазивного кандидоза в ОРИТ является также применение эмпирической антифунгальной терапии (т.е. у больных с высоким риском развития инвазивных микозов и предполагаемыми клиническими признаками до получения лабораторного подтверждения диагноза) [2].

Основанием для эмпирического применения антимикотиков служат высокая летальность при инвазивных микозах, а также относительно низкая эффективность и значительная продолжительность диагностики. Установлено, что при возникновении кандидемии вероятность летального исхода больных во время госпитализации увеличивается в 1,8-2,5 раза. У взрослых общая летальность в течение 30 суток после определения кандидемии и острого диссеминированного кандидоза составляет 30-70%, атрибутивная летальность – 10-49%. При этом примерно половина больных умирает в первые 14 суток после выявления кандидемии. Показано, что общая и атрибутивная летальность достоверно снижается при раннем адекватном антифунгальном лечении, а также при удалении (замене) центральных венозных катетеров. Прогностически неблагоприятные факторы: показатель АРАСНЕ II более 15, злокачественное новообразование, использование мочевого и артериального катетеров, применение ГКС [1, 2, 10, 20].

Если при обследовании не было обнаружено признаков инвазивного микоза, то длительность эмпирической терапии должна составлять не менее семи дней после нормализации температуры тела и завершения периода нейтропении (увеличение количества нейтрофильных гранулоцитов более $1,0 \cdot 10^9/\text{л}$) [1].

Выбор антимикотиков – как при лечении инвазивного кандидоза. Если состояние больного тяжелое или средней тяжести – назначают эхинокандины. Если состояние стабильное и азольные антимикотики не назначали профилактически, применяют флуконазол. Амфотерицин В используют при непереносимости или недоступности препаратов выбора. При выборе антимикотика следует учитывать локальную эпидемиологическую ситуацию. В России 73-76% изолятов *Candida* spp., выделенных в хирургических

отделениях и ХОРИТ, чувствительны к флуконазолу, а 81-83% – к вориконазолу. Кроме того, при выборе препарата необходимо учитывать вид возбудителя, выделенного из нестерильных субстратов, и состояние больного. Длительность лечения составляет не менее 14 суток после нормализации температуры тела и исчезновения других возможных признаков инвазивного кандидоза [1, 17, 21, 22].

Показания к эмпирической терапии

А) Сочетание следующих признаков:

1) лихорадка неясной этиологии продолжительностью более 4-6 суток, резистентная к адекватной терапии антибактериальными препаратами широкого спектра действия;

2) распространенная (от двух локализаций) колонизация *Candida* spp.;

3) наличие двух и более факторов риска развития инвазивного кандидоза (в/в катетер, хирургическое вмешательство на органах брюшной полости, выраженный мукозит, полное парентеральное питание, применение ГКС или иммуносупрессантов).

В) Сочетание следующих признаков:

1) лечение в ОРИТ более четырех дней;

2) наличие трех факторов риска:

- $t > 38^\circ\text{C}$ или $< 36^\circ\text{C}$, или гипотензия, или лейкоцитоз;

- отсутствие или лечение других инфекций;

- ЦВК, ИВЛ и применение антибиотиков в 1-3-й день в ОРИТ.

С) В сочетании с одним из факторов:

1) хирургическое вмешательство в течение недели до ОРИТ;

2) острый панкреонекроз в течение недели до госпитализации в ОРИТ;

3) глюкокортикостероиды или иммуносупрессоры в течение недели до госпитализации ОРИТ;

4) полное парентеральное питание в 1-3-й день пребывания в ОРИТ;

5) гемодиализ в 1-3-й день пребывания в ОРИТ.

Выбор антимикотического препарата для лечения кандидозного перитонита зависит от вида возбудителя, его чувствительности к противогрибковым препаратам, клинического состояния и возраста больного. Флуконазол активен против *C. albicans*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*. В то же время, *C. glabrata* обладают дозозависимой чувствительностью, а *C. krusei* резистентны к флуконазолу [17, 19].

Согласно национальным рекомендациям, препаратом выбора для лечения инвазивного кандидоза являются эхинокандины (А), альтернативные препараты: вориконазол и флуконазол, если азолы не применяли профилактически (В); амфотерицин В (В); липидный комплекс амфотерицина В (С) [1].

Антимикотическую терапию целесообразно сочетать с дополнительными методами диагностики для исключения диссеминации инвазивного кандидоза (КТ органов брюшной полости, легких, офтальмоскопия). Кроме того, необходима замена ЦВК, мочевого катетера, дренажей не менее 1 раза в 7-10 дней [1].

В представленном клиническом случае удалось своевременно диагностировать кандидозный перитонит, обусловленный *C. albicans*, и назначить антимикотическое лечение флуконазолом (пациентка не получала антимикотическую профилактику азолами). Были проведены дополнительные диагностические тесты для исключения диссеминации инвазивного микоза, а также выполнена замена ЦВК и дренажей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для успешного лечения кандидозного перитонита у пациентов с острым панкреонекрозом, повторными хирургическими вмешательствами на органах брюшной полости (трижды выполненная лапаротомия), назначение адекватной антимикотической терапии в сочетании с хирургическими вмешательствами необходимо для снижения риска летального исхода.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации/* Под ред. Н.Н. Клишко. – М.: Боргес, 2010. – 92 с.
2. *Ubeda A.I., Vázquez A.L., Gil C.L. Candida peritonitis//* Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. – 2010. – №28, Suppl. 2. – P. 42-48.
3. *Клишко Н.Н.* Микозы: диагностика и лечение. – М.: Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
4. *Hasibeder W., Halabi M. Candida peritonitis//* Minerva Anesthesiol. – 2014. – №80(4). – P. 470-81.
5. *Hwang S.Y., Yu S.J., Lee J.H., et al. Spontaneous fungal peritonitis: a severe complication in patients with advanced liver cirrhosis//* Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2014. – №33(2). – P. 259-264.
6. *Montravers P., Mira J.-P., Gangneux J.-P., et al. A multicentre study of antifungal strategies and outcome of Candida spp. peritonitis in intensive-care units//* Clin. Microbiol. and Infect. – 2011. – Vol. 17, Issue 7. – P. 1061-1067.
7. *Montravers P., Dupont H., Gauzit R., et al. Candida as a risk factor for mortality in peritonitis//* Crit. Care Med. – 2006. – №34. – P. 646-652.
8. *Wójtowicz A., Tissot F., Lamoth F., et al. Polymorphisms in tumor necrosis factor- α increase susceptibility to intra-abdominal Candida infection in high-risk surgical ICU patients //* Crit. Care Med. – 2014. – Vol. 42, Issue 4. – Online Brief Reports.
9. *Segal B.H., Herbrecht R., Stevens D.A., et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: mycoses study group and European organization for research and treatment of cancer consensus criteria //* CID. – 2008. – Vol. 47. – P. 674-683.
10. *Ruiter J., Weel J., Manusama E., et al. The epidemiology of intra-abdominal flora in critically ill patients with secondary and tertiary abdominal sepsis //* Infection. – 2009. – Vol. 37, №6. – P. 522-527.
11. *Nalini Gupta. A rare cause of gastric perforation - Candida infection: a case report and review of the literature//* J. Clin. Diagn. Res. – 2012. – Vol. 6, №9. – P. 1564-1565. doi: 10.7860/JCDR/2012/4632.2563.
12. *Elham A.H., Abeer S.A., Sahar M.H., et al. Fungal infection in patients with end-stage liver disease: low frequency or low index of suspicion//* Int. J. of Infect. Dis. – 2014. – Vol. 23. – P. 69-74.
13. *Kuse E.R., Chetchotisakd P., da Cunha C.A., et al. Micafungin versus liposomal amphotericin B for candidemia and invasive candidosis: a phase III randomised double-blind trial//* Lancet. – 2007. – №369. – P. 1519-1527.
14. *Pappas P.G., Rotstein C.M., Betts R.F., et al. Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis//* Clin. Infect. Dis. – 2007. – №45. – P. 883-893.
15. *Веселов А.В.* Ведение пациентов с кандидозом: обзор новых рекомендаций IDSA// *Клин. микробиол. и антимикроб. терапия.* – 2004. – Т. 6, №2. – С. 168-185.
16. *Pezzilli R., Zerbi A., Di Carlo V., et al. Practical guidelines for acute pancreatitis //* Pancreatology. – 2010. – №10. – P. 523-535.
17. *Cameron J.L. and Cameron A.M.* Current Surgical Therapy, 11th Ed. – 2014. – P. 431-439.
18. *Banks P.A., Freeman M.L.* Practice guidelines in acute pancreatitis// *Am. J. Gastroenterol.* – 2006. – №101(10). – P. 2379-2400.
19. *Van Santvoort H.C., Bakker O.J., Bollen T.L., et al. A conservative and minimally invasive approach to necrotizing pancreatitis improves outcome//* Gastroenterology. – 2011. – №141(4). – P. 1254-1263.
20. *Kett D.H., Shorr A.F., Reboli A.C., et al. Anidulafungin compared with fluconazole in severely ill patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: support for the 2009 IDSA treatment guidelines for candidiasis //* Crit. Care. – 2011. – Vol. 15. – P. 253-253.
21. *Cornely O.A., Bassetti M., Calandra T., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients//* Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol. 18, Suppl 7. –P. 19-37.
22. *Raush E.R., Vasilyeva N.V., Shagdileeva E., Klimko N.N.* Susceptibility testing of invasive candidosis pathogens to fluconazole by CLSI M27-A3 method// *Mycoses.* – 2013. – Vol. 56, Sup. 3. – P. 109.

Поступила в редакцию журнала 18.06.2014

Рецензент: М.А. Шевяков



СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕДКОГО МИКОЗА ЛЁГКИХ, ВЫЗВАННОГО *ACREMONIUM* SPP., У ПАЦИЕНТА С ОСТРЫМ МИЕЛОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (М4ЭО)

¹ Хостелиди С.Н. (доцент кафедры)*, ¹ Мелехина Ю.Э. (ассистент кафедры), ² Горностаев Д.А. (гематолог), ² Семелев В.Н. (начальник отделения), ¹ Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ² Тыренко В.В. (начальник кафедры), ¹ Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии); ² Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

Микозы легких, вызываемые Acremonium spp., относят к редким микозам. Тем не менее, в последнее время все чаще выявляют данные осложнения у гематологических больных. В статье представлен случай успешного лечения микоза легких у больного острым миелобластным лейкозом на фоне проведения цитостатической полихимиотерапии.

Ключевые слова: *Acremonium* spp., вориконазол, микотическая пневмония, острый миелобластный лейкоз

CASE OF SUCCESSFUL TREATMENT OF MYCOTIC PNEUMONIA CAUSED BY *ACREMONIUM* SPP. AT PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

¹ Khostelidi S.N. (associate professor of the chair), ¹ Melekhina Y.E. (assistant of the chair), ² Gornostaev D.A. (hematologist), ² Semelev V.N. (head of the department), ¹ Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ² Tirenko V.V. (head of the chair), ¹ Klimko N.N. (head of the chair)

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Chair of Clinical Mycology, Allergology and Immunology); ² S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2014

Mycosis of lungs caused by Acremonium spp. are concerned to rare fungal infections. However, in recent years increasingly identify these complications in hematological patients. Case report of successful treatment of lung mycosis at patient with acute myeloblastic leukemia in the background of cytotoxic chemotherapy has been presented in the article.

Key words: *Acremonium* spp., acute myeloid leukemia, mycotic pneumonia, voriconazole

В настоящее время отмечают рост частоты инвазивных микозов у иммунокомпрометированных больных. Основные возбудители заболевания – *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. Однако в последние годы и более редкие возбудители становятся причинами тяжелых оппортунистических инфекций. Количество публикаций, посвященных проблеме редких микозов, ограничено.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлен клинический случай успешного лечения микоза лёгких, вызванного *Acremonium* spp., у пациента с острым миелобластным лейкозом (М4ЭО). Для постановки диагноза инвазивного микоза использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые EORTC/MSG, 2008 [1]. Авторы провели также анализ данных из научной литературы в базах PubMed (на май 2014 г.), Wiley Interscience (на май 2014 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова *mycotic pneumonia*, *lungs mycosis*, *Acremonium* spp., *acute myeloid leukemia*, *voriconazole*, *leukemia*.

Описание клинического случая.

Больной А., 78 лет, 11.02.13 г. был госпитализирован в клинику Военно-Медицинской академии им.

* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна, Тел.: (812) 303-51-46

С.М. Кирова с жалобами на снижение массы тела на 12 кг за 6 месяцев, повышение температуры тела до 38,5 °С. Также отмечал появление боли в горле в течение трех недель. За медицинской помощью не обращался, самостоятельно принимал антибактериальные препараты с незначительным улучшением самочувствия.

При поступлении: состояние тяжелое, в сознании, температура тела – 37,5 °С. Выраженная общая слабость. Одышка при небольшой физической нагрузке. Кожа бледная. Небные миндалины увеличены, бугристые, гиперемированы. Над легочными полями везикулярное дыхание, ослабленное в нижних отделах с обеих сторон. ЧДД – 20 в 1 минуту. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. Артериальное давление – 110/70 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений – до 90 в минуту. Живот при пальпации безболезненный. Печень и селезенка не увеличены. Вес при поступлении – 74 кг.

При обследовании в анализе крови: эр. – $2,32 \cdot 10^{12}/л$, Нб – 75 г/л, рц. – 4%, тр. – $91 \cdot 10^9/л$, л. – $45,7 \cdot 10^9/л$, бласты – 37,5%, мц. – 0,5% с/я – 1%, лимф. – 17,5%, мон. – 43%, СОЭ – 60 мм/ч. Биохимический анализ крови без клинически значимых изменений.

С учетом полученных данных по периферической крови (лейкоцитоз, бластемия, анемия, тромбоцитопения), провели цитологическое исследование костного мозга от 15.02.13 г., по результатам которого выявлены цитоморфологические признаки миелоидного лейкоза, вариант М4 ЭО. При иммунофенотипировании клеток костного мозга от 19.03.13 г. обнаружили клон клеток с признаками дифференцировки в направлении моноцитопоза и гранулоцитопоза с коэкспрессией антигена CD 2, на основании чего был поставлен диагноз «острый миелобластный лейкоз», который по своим фенотипическим особенностям соответствовал варианту ОМЛ-М4 согласно FAB-классификации. В этот же период (14.03.13 г.) выполнено цитологическое исследование спинномозговой жидкости – данных за нейролейкоз не получено. При компьютерной томографии (КТ) органов грудной и брюшной полости выявили лимфоаденопатию средостения.

На основании данных анамнеза, клинической симптоматики и проведенного обследования, был диагностирован острый миеломонобластный лейкоз с эозинофилией (FAB - М4ЭО), первая атака.

Пациенту назначили циторедуктивную терапию (гидроксикарбамид по схеме), на фоне которой отмечали снижение уровня лейкоцитов до $7 \cdot 10^9/л$. В дальнейшем, в связи с прогрессированием лейкоза в виде нарастающей тромбоцитопении, агранулоцитоза, пацитопении, лечение было продолжено «малыми дозами цитозара».

На фоне применения цитозара состояние пациента ухудшилось – вновь появились эпизоды повышения температуры тела до 38,7 °С, стали беспокоить кашель, выраженная общая слабость и одышка при незначительной физической нагрузке.

Выполнена КТ органов грудной полости (18.02.13 г.): в S6, S10 и в S7 правого легкого визуализируются два инфильтрата, прилежащие к медиастинальной и междолевой плевре, по периферии которых отчетливо визуализируются просветы сегментарных и субсегментарных бронхов; контуры инфильтратов нечеткие и не ровные, структура неоднородная за счет наличия в центральных отделах воздушных полостей (распад), по периферии инфильтратов визуализируются участки перибронхиальной мелкоочаговой инфильтрации, в S1 правого легкого визуализируются единичные парасептальные буллы размерами 14x10 мм; в левом легком свежие очаговые и инфильтративные изменения не визуализируются. Заключение: очагово-инфильтративные изменения в нижней доле правого легкого с признаками абсцедирования; буллезные изменения в S1 правого легкого; умеренная лимфоаденопатия средостения.

Таким образом, была диагностирована абсцедирующая плевропневмония нижней доли правого легкого (S4,6,7,10) неуточненного генеза тяжелой степени; ДН-1 ст.

Пациенту назначена антибактериальная терапия – цефтриаксон (6 г/сут.) и амикацин (1,5 г/сут.). В связи с неэффективностью проводимого лечения, в течение трех суток провели замену антибиотиков на имепенем (2,0 г/сут.) и линезолид (1,2 г/сут.) Лихорадка была купирована, кашель и одышка при физической нагрузке сохранялись.

Через две недели от начала терапии антибиотиками была выполнена КТ органов грудной полости (01.03.13 г.): признаки двухсторонней полисегментарной пневмонии с абсцедированием справа; в сравнении с данными предыдущего исследования – отрицательная динамика в виде увеличения объема инфильтративных изменений; эмфизема в верхушке правого легкого; умеренная лимфоаденопатия средостения (Рис. 1).

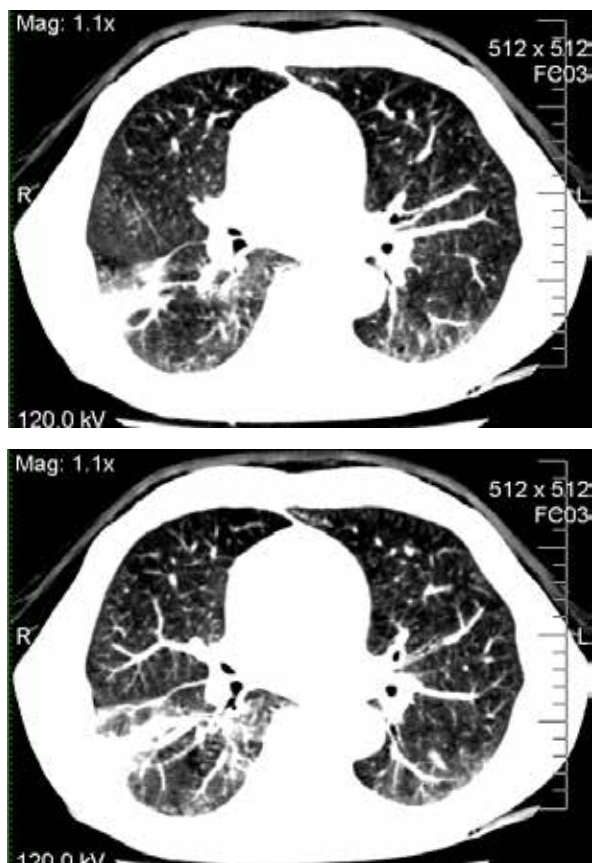


Рис. 1. КТ-картина двухсторонней полисегментарной пневмонии с признаками абсцедирования в нижней доле правого легкого

В связи с прогрессированием инфекционного процесса на фоне антибиотикотерапии пациенту эмпирически начато лечение каспоfungином в дозе 50 мг/сутки.

Проведены фибробронхоскопия (25.02.13 г.) и биопсия (трансбронхиальная) пораженного легкого (05.03.13 г.). При цитологическом исследовании наблюдали единичные нейтрофилы и клетки бронхиального эпителия. Микобактерии туберкулеза не найдены.

При микроскопии бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) были выявлены нити септированного мицелия. При посеве – рост *Acremonium* spp. (результат получен 07.03.13 г.). В гистологических препаратах ткани легкого отмечали субэпителиальный пневмофиброз с выраженной васкуляризацией по типу формирования грануляционной ткани, участками неравномерного отека, в зонах которого обнаружены нитеподобные структуры мицелия.

На основании полученных результатов обследования был выставлен диагноз «микотическая пневмония» (возбудитель – *Acremonium* spp.), в связи с чем каспоfungин был заменен на вориконазол в дозе 400 мг/сутки. Вместе с тем, пациент стал получать стимуляторы лейкопоеза. 15.04.13 г. установлено восстановление уровня нейтрофилов. Общий период агранулоцитоза составил 48 дней.

На фоне проведенного лечения отмечали клиническое улучшение состояния больного и поло-

жительную динамику изменений в легких. При КТ исследовании органов грудной полости в динамике, через 7 дней от начала терапии вориконазолом, наблюдали регресс инфильтративных изменений в обоих легких. Через 3 месяца антимикотической терапии на КТ легких выявили полное разрешение инфекционного процесса (выраженная положительная динамика в сравнении с данными предыдущих исследований; в нижней доле правого легкого на месте ранее определяемых инфильтративных изменений визуализируется фиброзная деформация легочного рисунка; свежих очаговых и инфильтративных изменений в легких нет) (Рис. 2).

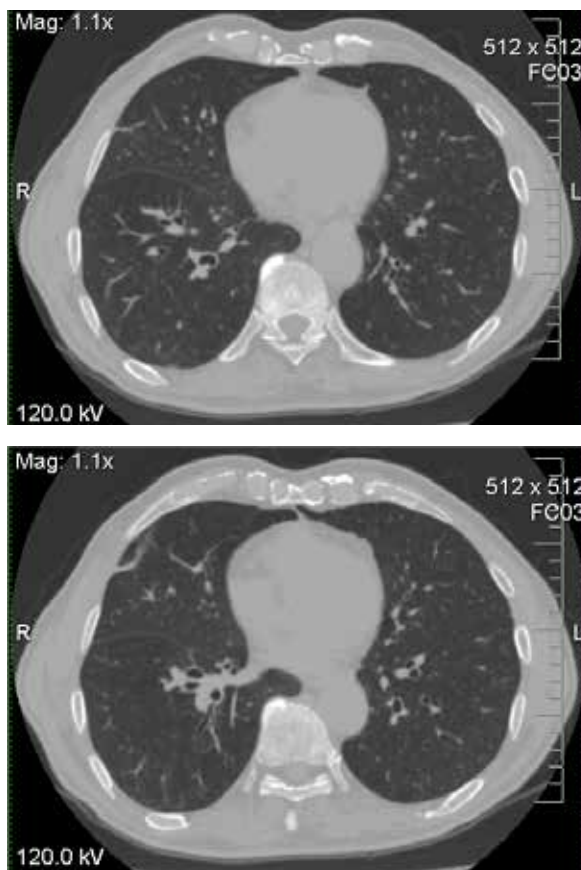


Рис. 2. КТ легких в динамике после отмены антимикотической терапии

Таким образом, была зафиксирована полная ремиссия микоза легких, вызванного *Acremonium* spp. В этот же период была диагностирована ремиссия основного заболевания. Общая продолжительность антимикотического лечения составила 130 дней. В последующем, на фоне проведения цитостатической терапии, пациент получал вторичную антимикотическую профилактику вориконазолом.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Грибы рода *Acremonium* являются гиалогифомцетами, принадлежат к порядку *Hypocreales*, отделу *Ascomycota*, распространены повсеместно. Наиболее часто их обнаруживают в почве и на растениях. В на-

стоящее время известно более 150 видов *Acremonium* spp., большинство из которых – сапрофиты и патогены растений. Около десяти видов описаны как условно-патогенные микромицеты для человека и животных: *Acremonium alabamensis*, *Acremonium kiliense* (ранее – *Sarocladium kiliense*), *Acremonium roseogriseum* (ранее – *Gliomastix roseogrisea*), *Acremonium strictum* (ранее – *Sarocladium strictum*), *Acremonium potronii* и *Acremonium recifei*. В то же время, в большинстве опубликованных клинических случаев определить возбудителя до вида не удавалось, что, вероятно, расширяет перечень возможных патогенов среди представителей рода *Acremonium* [1-3].

Acremonium spp. преимущественно проникают в макроорганизм через поврежденные кожные покровы или слизистые оболочки, обычно вызывая формирование мицетомы или кератитов [4; Fincher R.M.E., et al. // *Medicine*. – 1991. – Vol. 70; Weissgold D.J., et al. // *Ophthalmology*. – 1998. – Vol. 105].

У иммунокомпрометированных больных микромицеты способны проникать в макроорганизм не только через поврежденные кожные покровы (в результате травм или мацераций кожи в местах фиксации катетеров), но и ингаляционным путем, вызывая поражение придаточных пазух носа и легких, с дальнейшим распространением инфекционного процесса. В научной литературе описаны обусловленные *Acremonium* spp. артриты, остеомиелит, перитонит, эндокардит, пневмонии, энцефалит и септические состояния [5-10; Fincher R.M.E., et al. // *Medicine*. – 1991. – Vol. 70; Warris A., et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 32; Strabelli T.M., et al. // *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* – 1990. – Vol. 23; Miro O., et al. // *Med. Clin. (Barc)*. – 1994. – Vol. 102; Lopes J.O., et al. // *Mycopathologia*. – 1995. – Vol. 131].

У иммунокомпрометированных больных поражения легких, вызванные *Acremonium* spp., наблюдали в единичных случаях [11, 12; Herbrecht R., et al. // *Eur. J. of Clin. Microbiol. & Infec. Dis.* – 2002. – Vol. 21].

Основными факторами риска инвазивных микозов у скомпрометированных больных были: онкогематологические заболевания, состояния после трансплантации кроветворных стволовых клеток и органов, первичные иммунодефициты, длительное пребывание в ОРИТ, перитонеальный диализ и т.д. [13-15; Kremery V. Jr., et al. // *Care Cancer*. – 1996. – Vol. 4, №1; Schell W.A. and Perfect J.R. // *J. of Clin. Microbiol.* – 1996. – Vol. 34, №5].

По данным Kremery V.Jr. и соавторов (1996), до 10% онкогематологических больных с инвазивными микозами страдали заболеваниями, вызываемыми *Acremonium* spp. [Kremery V. Jr., et al. // *Care Cancer*. – 1996. – Vol. 4, №1].

Отметим, что клиника заболевания у иммунодефицитных пациентов сходна с таковой при других инвазивных микозах. В то же время, установлено, что при сохранении факторов риска инвазивных микозов, при поражении внутренних органов *Acremonium* spp., быстро развивается фунгемиа, что отражено в

публикациях [15-17; Kremery V. Jr., et al. // *Care Cancer*. – 1996. – Vol. 4, №1; Schell W.A. and Perfect J.R. // *J. of Clin. Microbiol.* – 1996. – Vol. 34, №5].

Для определения распространенности патологического процесса проводят компьютерную томографию в режиме высокого разрешения легких, придаточных пазух носа, органов брюшной полости. При этом КТ признаки поражения органов, в частности легких, сходны с таковыми при других инвазивных микозах. Серологические методы диагностики не разработаны [1-3; Warris A., et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 32].

Основными методами, позволяющими диагностировать инвазивные микозы, вызванные *Acremonium* spp., являются микологические: выявление возбудителя при микроскопии патологического материала, в культуре и гистологическое исследование. Поскольку представители рода *Acremonium* растут медленно, то чашки Петри необходимо просматривать не менее 14 суток. Другим методом диагностики является патоморфологическое исследование, но идентификация *Acremonium* spp. может быть затруднена, т.к. гифы гриба по своему строению и ветвлению в тканях напоминают *Aspergillus* spp. [1, 2; Guarro J., et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 25]. В проанализированных публикациях более чем у 50% больных идентифицировать возбудителя до вида не удалось. Среди установленных возбудителей наиболее частыми были *Acremonium kiliense* и *Acremonium strictum* (18% и 18% соответственно) [2, 18].

Таким образом, основными критериями диагностики инвазивных микозов, вызванных *Acremonium* spp. у иммунодефицитных больных, является выявление грибов этого рода при микологическом обследовании пациента в сочетании с наличием факторов риска, клинической симптоматикой, данными инструментального обследования.

Acremonium spp. устойчивы ко многим противогрибковым препаратам *in vitro*. По данным некоторых исследователей, определенные виды этого гриба могут быть чувствительными к амфотерицину В и некоторым азолам [18, 19; Guarro J., et al. // *Clin. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 25]. Флуконазол, флуцитозин и эхинокандины не активны в отношении *Acremonium* spp. [18, 20]. В первых описанных случаях заболевания сообщают о применении амфотерицина В, кетоконазола, флуконазола, итраконазола в качестве антимикотической терапии. При дальнейшем ретроспективном анализе выживаемости показано, что перспективным было использование липосомального амфотерицина В и применение хирургических методов лечения [18].

Новые триазоловые антимикотики (вориконазол, позаконазол и равуконазол) обладают разной степенью активности в отношении *Acremonium* spp. [19, 20; McGinnis M.R., et al. // *Med. Mycol.* – 1998. – Vol. 36]. Согласно новым международным рекомендациям по лечению микозов, вызванных *Acremonium* spp. у иммунокомпрометированных больных с инвазив-

ным процессом, препаратом выбора является вориконазол (АII). Успешно также применение хирургического вмешательства (удаление очага инфекции) и удаление/замена центрального венозного катетера (СIII). Использование амфотерицина В возможно при отсутствии препаратов первой линии (СII). У больных с поражением кожи и мягких тканей также возможно применение амфотерицина В (ВII) и его липидных фракций [18].

Прогноз заболевания у иммунокомпрометированных больных зависит от клинической формы и тяжести основного заболевания. Так, при локальных формах (поражение кожи, мягких тканей, костей, суставов) у иммунодефицитных больных выживаемость составляет до 100%, при инвазивном поражении внутренних органов – до 75%, при остром диссеминированном процессе – около 50% на фоне своевременного применения антимикотической терапии [18; Guarro J., et al. // Clin. Infect. Dis. – 1997. – Vol. 25].

В описываемом нами клиническом случае у пациента на фоне острого миелолейкоза своевременно удалось диагностировать инвазивный микоз легких, вызванный *Acremonium* spp., в связи с чем эмпирическая терапия эхинокандинами была заменена на вориконазол в стандартных дозах, в то же время, удалось достигнуть восстановления уровня гранулоцитов. Адекватное антимикотическое лечение и стабилизация основного заболевания позволили сохранить жизнь пациенту.

ВЫВОД

Острый миелоидный лейкоз, цитостатическая полихимиотерапия и длительная нейтропения являются факторами риска развития инвазивного микоза, вызванного *Acremonium* spp. Для успешного лечения таких микозов необходимо сочетание адекватной антимикотической терапии и коррекции факторов риска.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. – М.: Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
2. Das S., Saha R., Dar S.A., Ramachandran V.G. *Acremonium* species: a review of the etiological agents of emerging hyalohyphomycosis // Mycopathologia. – 2010. – Vol. 170, №6. – P. 361-375.
3. Perdomo H., Sutton D.A., Garcia D., et al. Spectrum of clinically relevant *Acremonium* species in the United States // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49, №1. – P. 243-256.
4. Sharma A., Hazarika N.K., Barua P., et al. *Acremonium strictum*: report of a rare emerging agent of cutaneous hyalohyphomycosis with review of literatures // Mycopathologia. – 2013.
5. Durbec M., Bienvenu A.L., Picot S., et al. Maxillary sinus fungal infection by *Acremonium* // Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis. – 2011. – Vol. 128, №1. – P. 41-43.
6. Beaudreuil S., Buchler M., Al Najjar A., et al. Acute septic arthritis after kidney transplantation due to *Acremonium* // Nephrol. Dial. Transplant. – 2003. – Vol. 18. – P. 850-851.
7. Pânzaru C., Dan M., Balasarian M.O., et al. Subacute fungal endocarditis due to *Acremonium* spp: a case study and review of the literature // Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2014. – Vol. 118, №1. – P. 182-185.
8. Geyer A.S., Fox L.P., Husain S., et al. *Acremonium* mycetoma in a heart transplant recipient // J. Am. Acad. Dermatol. – 2006. – Vol. 55. – P. 1095-1100.
9. Khan Z., Al-Obaid K., Ahmad S., et al. *Acremonium kiliense*: reappraisal of its clinical significance // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – P. 2342-2347.
10. Mehmet Yalaz, Suleyha Hilmioglu, Dilek Metin, et al. Fatal disseminated *Acremonium strictum* infection in a preterm newborn: a very rare cause of neonatal septicaemia // J. of Med. Microbiol. – 2003. – Vol. 52. – P. 835-837.
11. López-Ruiz A., Queipo De Llano M.P., Arana C., Palacios R. *Acremonium* spp. pneumonia in a patient with acute myelogenous leukemia // Rev. Clin. Esp. – 2012. – Vol. 212, №6. – P. 326-327.
12. Khan Z., Ahmad S., Al-Ghimlas F., et al. Purpureocillium lilacinum as a cause of cavitary pulmonary disease: a new clinical presentation and observations on atypical morphologic characteristics of the isolate // J. Clin. Microbiol. – 2012. – Vol. 50, №5. – P. 1800-1804.
13. Ioakimidou A., Vyzantiadis T.A., Sakellari I., et al. An unusual cluster of *Acremonium kiliense* fungaemias in a haematopoietic cell transplantation unit // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. – 2013. – Vol. 75, №3. – P. 313-316.
14. Tuon F.F., Pozzi C., Penteado-Filho S.R., et al. Recurrent *Acremonium* infection in a kidney transplant patient treated with voriconazole: a case report // Rev. Soc. Bras. Med. Trop. – 2010. – Vol. 43, №4. – P. 467-468.
15. Summerbell R.C., Gueidan C., Schroers H.J., et al. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Scarocladium* and *Trichothecium* // Persoonia. – 2011. – Vol. 68. – P. 139-162.
16. Калинина И.И., Петрова У.Н., Горонкова О.В. и др. Инфекции, вызванные редкими плесневыми грибами, в гематологии // Онкогематология. – 2012. – №4. – С. 35-39.
17. Miyakis S., Velegaki A., Delikou S., et al. Invasive *Acremonium strictum* infection in a bone marrow transplant recipient // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2006. – Vol. 25. – P. 273-275.
18. Tortorano A.M., Richardson M., Roilides E., et al. ESCMID and ECOMM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others // Clin. Microbiol. Infect. – 2014. – Vol. 20, Suppl 3. – P. 27-46.
19. Sabatelli F., Patel R., Mann P.A., et al. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts // Antimicrob. Agents Chemother. – 2006. – Vol. 50. – P. 2009-2015.
20. Mattei D., Mordini N., Lo Nigro C., et al. Successful treatment of *Acremonium* fungemia with voriconazole // Mycoses. – 2003. – Vol. 46. – P. 511-514.

Поступила в редакцию журнала 18.08.2014

Рецензент: А.К. Мирзабалаева

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫМ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ

¹ Фролова Е.В. (зав. лаб.)*, ¹ Шадривова О.В. (аспирант), ¹ Филиппова Л.В. (н.с.), ¹ Учеваткина А.Е. (с.н.с.), ² Волкова А.Г. (пульмонолог), ² Попова М.О. (врач-гематолог), ² Зубаровская Л.С. (зав. отд.), ³ Зюзгин И.С. (зав. отд.), ³ Ружинская О.С. (врач-гематолог), ¹ Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹ Васильева Н.В. (директор НИИ), ² Афанасьев Б.В. (директор), ¹ Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии);

² Институт детской гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачёвой СПбГМУ им. И.П. Павлова;

³ Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

Инвазивный аспергиллез – тяжелая микотическая инфекция, возникающая преимущественно у гематологических больных. Впервые мы представляем результаты исследования иммунологических показателей у гематологических больных инвазивным аспергиллезом, получающих цитостатическую полихимиотерапию, в зависимости от исхода заболевания. Установлено, что особенностью состояния иммунной системы у больных с неблагоприятным исходом инвазивного аспергиллеза было снижение абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов, естественных киллеров и угнетение продукции провоспалительных цитокинов ИФН-γ, ФНО-α, ИЛ-17 и ИЛ-6. Способность клеток крови к продукции ФНО-α является диагностически значимым маркером, позволяющим с высокой вероятностью прогнозировать неблагоприятный исход инвазивного аспергиллеза.

Ключевые слова: антифунгальная терапия, гемобластоз, иммунный ответ, инвазивный аспергиллез, цитостатическая полихимиотерапия

PROGNOSTIC VALUE OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN HEMATOLOGICAL PATIENTS WITH INVASIVE ASPERGILLOSIS

¹ Frolova E.V. (head of the laboratory), ¹ Shadrivova O.V. (postgraduate student), ¹ Filippova L.V. (scientific collaborator), ² Uchevatkina A.E. (senior scientific collaborator), ² Volkova A.G. (pulmonologist), ² Popova M.O. (hematologist), ² Zubarovskaya L.S. (head of the department), ³ Zjuzgin I.S. (head of the department), ³ Ruzhinskaya O.S. (hematologist), ¹ Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹ Vasilyeva N.V. (director of the institute), ² Afanasyev B.V. (director), ¹ Klimko N.N. (head of the chair)

¹ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Chair of Clinical Mycology, Allegology and Immunology); ² R.M. Gorbacheva Institute of Children's Hematology and Transplantology of I.P. Pavlov State Medical University; ³ Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2014

Invasive aspergillosis is a severe mycotic infection occurs mainly in hematological patients. For the first time we present the study results of immunological parameters in haematological patients with invasive aspergillosis receiving cytotoxic therapy, depending on the outcome of the disease. It was found that the immune system peculiarities in patients with a poor outcome of invasive aspergillosis were the reduction in the absolute number of cytotoxic T-lymphocytes, natural killer cells and inhibition of the production of proinflammatory cytokines IFN-γ, TNF-α, IL-17 and IL-6. The ability of blood cells to TNF-α is diagnostically significant marker, allowing a high probability to predict poor outcome of invasive aspergillosis.

Key words: antifungal therapy, cytotoxic therapy, hematological malignancies, immune response, invasive aspergillosis

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивные микозы у гематологических пациентов, в том числе заболевания, вызванные грибами рода *Aspergillus*, в настоящее время остаются актуальной клинической проблемой. В связи с применением высокодозной цитостатической полихимиотерапии (ПХТ) и современных методов лечения бактериальных инфекций возросло число иммунокомпрометированных пациентов с высоким риском развития инвазивного микоза.

Частота развития инвазивных микозов у гематологических пациентов составляет 19-20%. Инва-

* Контактное лицо: Фролова Екатерина Васильевна, тел.: (812) 303-51-40

живный аспергиллез (ИА) является наиболее частой микотической инфекцией и составляет от 60% до 82% от всех инвазивных микозов [1, 2]. Наибольшему риску возникновения этого тяжелого осложнения подвержены пациенты с острым лейкозом во время цитостатической терапии (риск возникновения составляет $\approx 10\%$), из них в 60% случаев ИА развивается на фоне нейтропении после первой линии химиотерапии (индукции ремиссии). У лиц после трансплантации аллогенных стволовых клеточных клеток (алло-ТГСК) риск возникновения ИА – от 5% до 26% [3,4]. Среди больных ИА в Санкт-Петербурге пациенты с гемобластомами составляют 86-90%. Несмотря на раннюю диагностику и антифунгальную терапию, летальность остается высокой и при различных клинических вариантах ИА варьирует от 48% у пациентов с нейтропенией до 92% – у реципиентов алло-ТГСК [3].

Считают, что прогноз течения инфекционного заболевания зависит от ранней диагностики, своевременного и эффективного лечения. В настоящее время диагностика ИА основывается на оценке факторов риска и клинических признаков развития заболевания, результатов микологических, радиологических и цитологических и/или гистологических исследований [5]. Однако нет надежных критериев прогнозирования течения заболевания и определения сроков окончания антифунгальной терапии. На сегодняшний день известно, что у гематологических больных, получающих длительную цитостатическую или иммуносупрессивную терапию, имеют место нарушения в иммунной системе, являющиеся предрасполагающими факторами возникновения ИА [6, 7]. Также представлены немногочисленные данные изучения цитокинового профиля у гематологических больных ИА [8, 9]. Таким образом, изучение иммунологических особенностей ИА и определение их влияния на течение и прогноз заболевания необходимы для дальнейшей разработки перспективных стратегий лечения аспергиллезной инфекции.

Цель исследования – определить прогностическое значение иммунологических показателей у гематологических больных инвазивным аспергиллезом, получающих цитостатическую ПХТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Иммунологическое исследование было проведено 48 гематологическим больным, у которых ИА развился после цитостатической ПХТ, (28 женщин и 20 мужчин) в возрасте от 18 до 78 лет (медиана – 46). С учетом исхода заболевания, пациенты были отнесены к двум группам: в группу I включили больных с неблагоприятным исходом (n=12), II группу составили пациенты, у которых была достигнута ремиссия в течение 12-месячного периода наблюдения и отменена антимикотическая терапия (n=36). В контрольной группе – 32 практически здоровых человека (медиана возраста – 29 лет).

Основанием для включения пациентов в исследова-

ние была постановка диагноза ИА на основании критериев EORTC/MSG, 2008 [10]. Обследование больных проводили в соответствии с рекомендациями EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation), включавшее микологическое и инструментальное исследование. Всем пациентам выполняли фибробронхоскопию с отбором бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Лабораторная диагностика ИА заключалась в микроскопическом и культуральном исследовании. Из образцов биосубстратов (мокрота, БАЛ) готовили препараты в просветляющей жидкости (10% раствор КОН в 10% водном растворе глицерина) с добавлением флуоресцирующего маркера (калькофлуора белого). Окрашенный препарат просматривали в люминесцентном микроскопе, отмечали наличие септированных нитей мицелия, ветвящихся под углом 45°. Из операционного материала готовили гистологические препараты, окрашивая срезы гематоксилином-эозином, проводили PAS-реакцию и окраску по методу Гомори-Грокотта для выявления элементов гриба. Галактоманнан (ГМ) определяли в сыворотке крови и БАЛ иммуноферментным методом с использованием специфической диагностической тест-системы PLATELIA® *Aspergillus* (BIO-RAD Laboratories, США). Наличие ГМ оценивали путем сравнения оптической плотности исследуемого материала и контрольного образца, содержащего 1 нг/мл ГМ. Диагностически значимым считали индекс выше «0,5» в сыворотке крови и выше «1,0» – в БАЛ. Инструментальные методы диагностики: обязательно проводили компьютерную томографию легких в режиме высокого разрешения, а также (по показаниям) магнитную резонансную томографию, ультразвуковое исследование органов брюшной полости.

Иммунологическое исследование выполняли гематологическим больным на ранней стадии заболевания – через 1-4 недели от постановки диагноза ИА (медиана – 14 суток). Состояние иммунореактивности оценивали по показателям клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа, а также факторов врожденной резистентности организма. Субпопуляционный состав лимфоцитов устанавливали иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител «ДАКО». Киллерную активность нейтрофилов оценивали с применением референтного штамма *Candida albicans*. Продукцию ИФН- γ , ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17, ФНО- α , Г-КСФ определяли с помощью коммерческих иммуноферментных тест-систем («Цитокин», «Вектор-Бест», Россия) в супернатантах клеток крови после 24-часовой индукции фитогемагглютинином. Уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови оценивали нефелометрическим методом на анализаторе белков «Turbox plus».

Полученные в процессе исследования медико-биологические данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 6.0. Оценку различий между независимыми выборками осуществляли непараметрическим критерием Манна-Уитни.

Степень зависимости между различными параметрами внутри исследуемых групп определяли с помощью ранговой корреляции Спирмана. Для оценки диагностической значимости иммунологических показателей в прогнозировании течения ИА использовали ROC-анализ (receiver-operator characteristic) с расчетом площади под кривой. Построение ROC-кривой заключается в расположении на осях X и Y частоты истинно положительных результатов (чувствительность) и ложноположительных результатов (специфичность) для каждой точки разделения. Количественную оценку характеристической кривой выполняли, рассчитав площадь под ней (Area Under Curve, AUC). В соответствии с классификацией, площадь под ROC-кривой от 0,5 до 0,7 указывает на невысокую точность теста; тест с площадью под кривой ROC от 0,7 до 0,9 может быть использован в практике, и площадь под ROC кривой выше 0,9 характеризует тест, обладающий высокой точностью. На основе полученных зависимостей определяли пороговые значения наиболее значимых факторов (иммунологических показателей, достоверно связанных с исходом заболевания). Пороговое значение выбирали с учетом наибольших показателей чувствительности и специфичности теста при условии значимого отличия ($p < 0,05$) площади построенной ROC-кривой от критического значения 0,5. Анализ выживаемости проводили по методу Каплана-Мейера, для оценки

достоверности применяли логарифмический ранговый тест – «log-rank test».

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании критериев (EORTC/MSG 2008) вероятный ИА был диагностирован у 96% пациентов, доказанный – у 4%. Диагноз подтвержден микологически (положительные результаты микроскопии/посева БАЛ) – у 28% обследованных. Основные возбудители: *A. fumigatus* – 65%, *A. niger* – 26%, *A. flavus* – 9%. Больные получали ПХТ по различным протоколам (Hyper-CVAD+R, COALL-92, ALL 2009, NAD, 7+3, FLAG). Интервал после последнего курса ПХТ до обследования – от 5 до 50 дней (медиана дней – 30). При анализе фоновых заболеваний выявили, что ИА наиболее часто развивается у пациентов с острым миелоидным или острым лимфобластным лейкозом. Среди фоновых заболеваний острый лейкоз составил 52%. Другими фоновыми состояниями были хронический лейкоз, лимфомы, реже – миелодиспластический синдром и апластическая анемия.

Среди клинических вариантов ИА наиболее часто развивалось поражение легких – 97%. Экстрапульмональный аспергиллез с вовлечением центральной нервной системы (ЦНС) наблюдали в 3% случаев, изолированное поражение кишечника – у одного пациента. В единичных случаях диагностировали сочетанное поражение легких и ЦНС. У абсолютно-

Таблица 1.

Сравнительная характеристика иммунологических показателей гематологических больных ИА

Показатели	Пациенты, получающие ПХТ I группа (n=12)	Пациенты, получающие ПХТ II группа (n=36)	Контрольная группа (n=32)
	Медиана (25%÷75%)		
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	1,40 (0,65÷4,65)*	4,45 (2,44÷6,05)*	5,90 (5,25÷6,45)
Лимфоциты абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,52 (0,22÷0,89)***	1,14 (0,71÷2,17)*	2,19 (1,94÷2,47)
Нейтрофилы абс ($\times 10^9/\text{л}$)	1,13 (0,25÷4,05)*	1,78 (0,94÷2,85)*	3,06 (2,54÷3,48)
CD3+ (%)	72,00 (66,00÷85,00)	71,00 (56,00÷84,00)*	68,00 (65,00÷70,50)
CD3+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,51 (0,30÷0,62)***	0,99 (0,58÷1,83)	1,47 (1,27÷1,67)
CD4+ (%)	35,00 (18,00÷50,00)	34,00 (23,00÷36,00)	41,00 (39,00÷43,00)
CD4+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,26 (0,07÷0,47)*	0,44 (0,26÷0,74)*	0,87 (0,72÷1,00)
CD8+ (%)	43,00 (36,00÷51,00)*	38,00 (30,00÷49,00)*	26,50 (24,50÷29,00)
CD8+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,25 (0,20÷0,48)***	0,50 (0,30÷0,93)	0,58 (0,52÷0,67)
CD20+ (%)	6,00 (4,00÷10,0)*	8,00 (5,00÷10,00)*	15,00 (14,00÷17,00)
CD20+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,05 (0,02÷0,07)***	0,15 (0,05÷0,20)*	0,33 (0,28÷0,38)
CD25+ (%)	9,00 (4,00÷12,00)	9,00 (6,00÷11,00)*	12,00 (11,00÷14,00)
CD25+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,05 (0,02÷0,10)*	0,13 (0,04÷0,23)*	0,26 (0,22÷0,10)
CD16+ (%)	11,00 (7,00÷13,00)	11,00 (8,00÷14,00)	11,00 (10,00÷13,00)
CD16+ абс ($\times 10^9/\text{л}$)	0,06 (0,03÷0,10)***	0,15 (0,09÷0,26)*	0,22 (0,19÷0,28)
ИРИ CD4+/CD8+	0,98 (0,44÷1,05)*	0,85 (0,60÷1,33)	1,56 (1,39÷1,69)
КК (%)	8,0 (6,0÷14,0)*	10,00 (7,50÷17,50)*	24,00 (22,00÷26,50)
IgA (г/л)	1,21 (0,72÷2,04)*	1,16 (0,45÷2,78)*	1,80 (1,78÷2,02)
IgM (г/л)	0,61 (0,30÷1,01)*	0,65 (0,34÷0,92)*	1,16 (1,06÷1,17)
IgG (г/л)	10,65 (5,80÷16,50)*	10,30 (5,50÷16,70)*	13,50 (12,95÷14,70)
ИФН- γ индуц (пг/мл)	94,00 (62,5÷228,5)***	590,0 (239,5÷865,5)*	768,0 (577,0÷1258,0)
ФНО- α (пг/мл)	104,00 (7,00÷177,00)***	387,5 (253,0÷463,0)*	468,0 (391,0÷550,0)
ИЛ-6 (пг/мл)	54,00 (14,00÷360,50)***	476,0 (98,0÷619,0)	430,0 (354,0÷602,0)
ИЛ-10 (пг/мл)	12,00 (0,50÷184,50)*	87,5 (37,0÷223,0)*	403,5 (280,0÷490,0)
ИЛ-17 (пг/мл)	16,50 (4,50÷37,00)***	65,5 (23,0÷170,0)*	166,0 (156,0÷191,0)
Г-КСФ (пг/мл)	27,50 (5,00÷74,0)*	122,0 (37,0÷284,0)*	299,0 (145,0÷281,0)

Примечание: представлены медианные значения с интерквартильным размахом (25% ÷ 75%); * - достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); ** - достоверность различий показателей между группами ($p < 0,05$)

го большинства больных отмечали нейтропению и лимфоцитопению в период, предшествовавший развитию ИА. Основными клиническими проявлениями ИА были лихорадка, рефрактерная к антибиотикам широкого спектра действия, и кашель, в редких случаях – кровохарканье.

Все пациенты с момента постановки диагноза ИА получали антимикотическое лечение: вориконазол, амфотерицин В, итраконазол, каспофунгин и позаконазол.

Общая выживаемость в течение 3-х месяцев у больных составила 91%, в течение 12 месяцев – 75%.

При сравнении показателей иммунного статуса гематологических пациентов на ранней стадии ИА с данными контрольной группы обнаружили сходные изменения параметров, характеризующих состояние разных звеньев иммунного ответа, в обеих группах (табл. 1). Снижение количества лейкоцитов и абсолютного числа лимфоцитов установили у гематологических больных I и II групп. Соответственно, отмечали снижение абсолютного числа всех исследованных субпопуляций лимфоцитов, за исключением цитотоксических Т-лимфоцитов, у больных II группы. Однако обнаружили повышение процентного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов, что является показателем изменения способности предшественников лимфоцитов к дифференцировке, и это подтверждается достоверными различиями в значениях иммунорегуляторных индексов (ИРИ). Также установлено снижение количества лимфоцитов с активационными маркерами – рецепторами к интерлейкину-2. Из полученных результатов следует, что имели место сдвиги показателей клеточного иммунитета, которые проявлялись снижением абсолютного числа Т-хелперов и уменьшением экспрессии на них активационных маркеров, что согласуется с данными литературы [6].

При оценке состояния нейтрофильного компонента системы фагоцитирующих клеток и гуморального иммунного ответа наблюдали снижение абсолютного числа нейтрофилов, их киллерной активности, количества В-лимфоцитов и их способности к продукции иммуноглобулинов всех исследованных классов в обеих группах гематологических больных ИА.

При изучении функциональной активности лейкоцитов периферической крови у гематологических больных ИА обеих групп отмечали снижение способности лейкоцитов к продукции как провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17, Г-КСФ, так и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Снижение способности лейкоцитов к продукции ИЛ-6 выявили только у больных с неблагоприятным исходом.

На следующем этапе сравнивали иммунологические показатели у гематологических больных в зависимости от исхода ИА (табл.1). Анализ иммунофенотипического спектра лимфоцитов установил, что у пациентов с благоприятным течением инфек-

ционного процесса было достоверно выше абсолютное число Т-лимфоцитов за счет цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и естественных киллеров, по сравнению с больными с неблагоприятным исходом заболевания. Не обнаружили отличий между группами по показателям, характеризующим количественное содержание и киллерную активность нейтрофилов, уровням иммуноглобулинов. При исследовании цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов у больных I группы наблюдали снижение выработки провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-17, привлекающих в очаг инфекционного процесса фагоцитирующие клетки и обеспечивающих их антифунгальную активность. Таким образом, исследованные группы больных различались как по количественным показателям лимфоцитов, так и их функциональной активности, что подтверждено данными корреляционного анализа. Установили положительную корреляционную связь абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров с их способностью к продукции ИФН- γ и ИЛ-17 ($r=0,61$, $r=0,54$ и $r=0,59$, $r=0,58$ при $p < 0,05$ соответственно) и абсолютного числа естественных киллеров с ФНО- α ($r=0,55$; $p < 0,05$).

При построении ROC-кривых выявили достаточно высокую информативность определения способности клеток крови к продукции ФНО- α и ИФН- γ . При оценке прогностического значения способности клеток крови к продукции ФНО- α и ИФН- γ , площадь под ROC-кривой составила 0,795 ($p = 0,001$) и 0,810 ($p=0,0001$), что является показателем высокой точности теста в соответствии с классификацией площади под ROC-кривой. На основании ROC-кривых для показателей ФНО- α и ИФН- γ , представленных на рисунках 1 и 2, были подсчитаны чувствительность и специфичность для различных точек разделения.

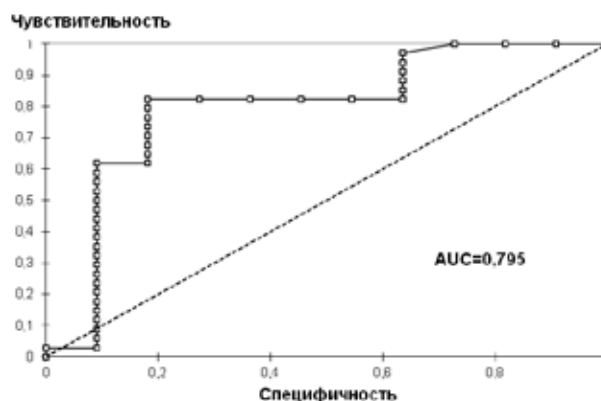


Рис. 1. ROC-анализ прогностического значения способности клеток крови гематологических больных ИА к продукции ФНО- α

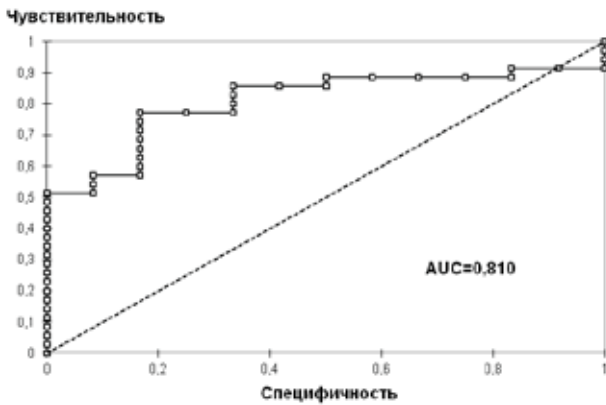


Рис. 2. ROC-анализ прогностического значения способности клеток крови гематологических больных ИА к продукции ИФН-γ

Точки разделения, указывающие на максимальные значения чувствительности и специфичности, соответствовали уровню ФНО-α – 215 пг/мл, ИФН-γ – 302 пг/мл (табл. 2).

Таблица 2.

Координаты ROC-кривой для прогноза 12-недельной выживаемости у гематологических больных ИА

ФНО-α пг/мл	чувствительность	специфичность	ИФН-γ пг/мл	чувствительность	специфичность
123	0,824	0,545	177	0,800	0,667
164	0,824	0,636	219	0,771	0,667
190	0,824	0,727	238	0,771	0,750
215	0,824	0,818	302	0,771	0,833
229	0,794	0,818	346	0,743	0,833
253	0,765	0,818	350	0,714	0,833
256	0,735	0,818	358	0,686	0,833

Анализ общей выживаемости методом Каплана-Мейера в группах гематологических больных ИА, в зависимости от порогового показателя способности клеток крови к продукции ФНО-α (менее 215 пг/мл), доказано его значение как отрицательного прогностического фактора ($p=0,03$) (Рис. 3) в отличие от ИФН-γ ($p=0,06$). Таким образом, значения продукции ФНО-α менее 215 пг/мл служат основой прогноза неблагоприятного исхода ИА в течение 12 недель со специфичностью 81,8% и чувствительностью 82,5%. Следовательно, нашими результатами подтверждено, что у гематологических больных, получающих цитостатическую ПХТ, определение способности клеток крови к продукции ФНО-α на ранней стадии ИА можно эффективно использовать для оценки прогноза заболевания.

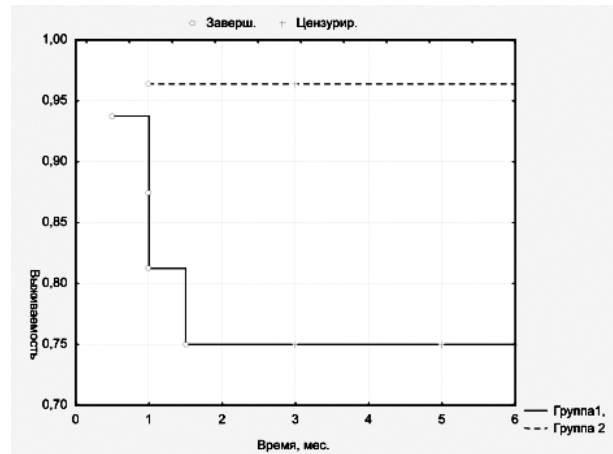


Рис. 3. Анализ общей выживаемости методом Каплана-Мейера в группах гематологических больных ИА в зависимости от порогового показателя способности клеток крови к продукции ФНО-α

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые мы представляем результаты исследования иммунологических показателей у гематологических больных ИА, получающих цитостатическую ПХТ, в зависимости от течения инфекционного процесса. У всех обследованных пациентов выявили отклонения в количестве и функциональной активности клеток иммунной системы, отражающие особенности течения микотического процесса на ранней стадии заболевания. Обнаружили изменение способности предшественников лимфоцитов к дифференцировке в различные субпопуляции: снижение абсолютного числа Т-хелперов, естественных киллеров и повышение относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов по отношению к показателям контрольной группы. Эти результаты согласуются с данными о том, что именно субпопуляция Т-хелперов наиболее чувствительна к действию препаратов, используемых при цитотоксической ПХТ, которые позволяют значительно увеличить частоту достижения полной ремиссии при лечении гемобластозов [11]. Снижение числа нейтрофилов и нарушение их функциональной активности считают наиболее существенными факторами риска развития ИА у больных на фоне цитотоксической ПХТ [6]. В нашем исследовании у гематологических пациентов обеих групп выявили снижение абсолютного числа нейтрофилов и их киллерной активности. Это может являться признаком нарушения механизмов микробицидности фагоцитирующих клеток, активность которых во многом контролируется балансом про- и противовоспалительных цитокинов [12]. Благодаря изучению особенностей цитокинового профиля на ранней стадии ИА смогли установить снижение способности лейкоцитов к продукции как провоспалительных цитокинов ИФН-γ, ФНО-α, ИЛ-17, Г-КСФ, так и противовоспалительного цитокина ИЛ-10.

При сравнении иммунологических показателей у гематологических больных, в зависимости от течения ИА, не наблюдали отличий между группами по

числу и функциональной активности нейтрофилов и уровням иммуноглобулинов. Эти данные согласуются с мнением о том, что нейтропения предрасполагает к возникновению ИА, в то время как состояние лимфоидного звена иммунного ответа определяет развитие заболевания [6]. Установлено, что у пациентов с неблагоприятным течением инфекционного процесса достоверно ниже абсолютное число цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, по сравнению с показателями у пациентов с благоприятным исходом заболевания. Роль цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров в течении ИА до конца не изучена. Авторы немногочисленных исследований отмечают, что естественные киллеры способны как непосредственно повреждать гифы *A. fumigatus*, так и продуцировать ИФН- γ на ранней стадии иммунного ответа [13]. Templeton S.P. и соавторы обнаружили возрастание числа цитотоксических Т-лимфоцитов, вырабатывающих ИФН- γ , в БАЛ мышей, неоднократно зараженных конидиями *A. fumigatus*, и предположили, что эти клетки содержат прорастание грибов и препятствуют развитию инфекционного процесса [14]. Таким образом, полученные нами данные подтверждают, что цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры играют важную роль в обеспечении клеточного иммунного ответа при ИА.

Известно, что для оценки состояния иммунного ответа необходимо оценить не только субпопуляционный состав лимфоцитов, но и их функциональную активность. С этой целью проведено изучение способности клеток крови к продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Оценка широкого спектра цитокинов необходима в связи с тем, что медиаторы иммунного ответа являются короткоживущими и во многом дублируют функции друг друга. Наиболее выраженные различия между двумя группами обнаружены при оценке резервной способности лейкоцитов к продукции провоспалительных цитокинов. У пациентов с неблагоприятным исходом ИА установлено достоверное снижение выработки ИФН- γ , определяющего напряженность клеточного иммунного ответа. Ранее Nebart H. и соавторы обнаружили снижение выработки ИФН- γ мононуклеарными клетками гематологических больных с неблагоприятным течением ИА, но, в отличие от наших данных, в этом исследовании выявлена повышенная продукция ИЛ-10 [15]. Проведенный нами анализ способности клеток крови к продукции других провоспалительных цитокинов показал, что выработка ФНО- α , ИЛ-17 и ИЛ-6 существенно снижена у гематологических больных с неблагоприятным исходом по сравнению с показателями пациентов с благоприятным течением ИА. Данные цитокины секретируются не только лимфоцитами, но и клетками миелоидного происхождения, в том числе альвеолярными макрофагами, дендритными клетками, моноцитами/макрофагами, нейтрофилами, и наряду с ИФН- γ , играют важную

роль в поддержании противогрибковой активности фагоцитирующих клеток [16]. Корреляционным анализом установлена положительная связь абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов со способностью клеток крови к выработке ИФН- γ и ИЛ-17 и абсолютного числа естественных киллеров с продукцией ФНО- α .

Количество клинических исследований по изучению диагностического значения цитокинов в прогнозировании течения ИА у гематологических пациентов немногочисленно. Roilides E. и соавт. сообщили, что повышенное содержание ИЛ-10 в сыворотке крови больных ИА коррелирует с плохим прогнозом у гематологических больных без нейтропении, и ИЛ-10 может выступать в качестве маркера для выявления пациентов с риском возникновения ИА [8]. Другие исследователи установили, что высокие уровни в сыворотке крови таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-6 и ИЛ-8, могли быть ранними предсказателями неблагоприятного исхода ИА, а высокое содержание ИЛ-10 в течение недели лечения антифунгальными препаратами было связано с благоприятным исходом [9]. Было высказано предположение о том, что ИЛ-10 контролирует развитие инфекционного процесса, так как он может быть ключевым регулятором воспалительного ответа [6].

Противоречивость полученных данных может быть связана с тем, что в представленных работах изучено ограниченное число цитокинов, и оценку их уровней проводили в сыворотке крови. Известно, что цитокины являются короткоживущими белковыми молекулами и могут изменять свою активность при связи с белками сыворотки крови. Кроме того, определяемые концентрации цитокинов часто незначительно отличаются от пороговых значений, которые возможно оценить в тест-системах. Следовательно, изучение способности лейкоцитов к продукции цитокинов предпочтительнее, так как мы определяем резервные способности клеток к выработке широкого спектра различных медиаторов. При оценке диагностической значимости показателей цитокинов в прогнозе течения ИА с применением ROC-анализа подтвердили, что измерение этих маркеров может быть использовано для мониторинга иммунного ответа и прогнозирования клинических исходов.

ВЫВОДЫ

1. Выявили характерные изменения иммунологических показателей на ранней стадии ИА у гематологических больных, получающих цитостатическую ПХТ: снижение абсолютного числа Т-хелперов, естественных киллеров и усиление способности Т-лимфоцитов к дифференцировке в цитотоксическую субпопуляцию; уменьшение числа В-лимфоцитов и уровней иммуноглобулинов всех классов (IgG, IgM и IgA); угнетение киллерной активности нейтрофилов и снижение продукции ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17, Г-КСФ и ИЛ-10.
2. Особенностью состояния иммунной системы

у больных с неблагоприятным исходом ИА было снижение абсолютного числа цитотоксических Т-лимфоцитов, естественных киллеров и угнетение продукции провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17 и ИЛ-6.

3. Способность клеток крови к продукции ФНО- α является диагностически значимым маркером, определяющим с высокой вероятностью прогноз неблагоприятного исхода инвазивного аспергиллеза.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Kousha M., Tadi R., Soubani A.O. Pulmonary aspergillosis: a clinical review // Eur. Respir. Rev. – 2011. – Vol. 20, №21. – P. 156-172.
2. Попова М.О., Зубаровская Л.С., Клишко Н.Н., Афанасьев Б.В. Инвазивные микозы при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Тер. архив. – 2012. – №7. – P. 50-57.
3. Zmeili O., Soubani A. Pulmonary aspergillosis: a clinical update // Oxford Journals – 2007. – Vol. 100. – P. 317-334.
4. Herbrecht R., Bories P., Moulin J.C., Ledoux M.P. Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients // Ann. of the New York Academy of Sci. – 2012. – Vol. 1272. – P. 23-30
5. Васильева Н.В., Клишко Н.Н., Цинзерлинг В.А. Диагностика и лечение инвазивных микозов: современные рекомендации // Вестник СПбМАПО. – 2010. – Т. 2, №4. – С. 5-18.
6. Chai L.Y., Vonk A.G., Kullberg B-J., Netea M.G. Immune response to *Aspergillus fumigatus* in compromised hosts: from bedside to bench // Future Microbiol. – 2011. – Vol. 6, №1. – P. 73-83.
7. Camargo J.F., Husain S. Immune correlates and protection in human invasive aspergillosis // Eur. Respir. Rev. – 2014. – Vol. 20, №21. – P.156-172.
8. Roilides E., Sein T., Roden M., et al. Elevated serum concentrations of interleukin-10 in non-neutropenic patients with invasive aspergillosis // J. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 183. – P. 518-520.
9. Chai L.Y.A., Netea M.G., Teerenstra S., et al. Early proinflammatory cytokines and C-reactive protein trends as predictors of outcome in invasive aspergillosis // J. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 202, №9. – P. 1454-1462.
10. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group // Clin. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 46, №12. – P. 1813-21.
11. Zitvogel L., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G. Immunological aspects of cancer chemotherapy // Immunology. – 2008. – Vol. 8. – P. 59-73.
12. van de Veerdonk F.L., Netea M.G. T-cell subsets and antifungal host defenses // Curr. Fung. Infect. Reports. – 2010. – Vol. 4, №4. – P. 238-243.
13. Bouzani M., Ok M., McCormick A., et al. Human NK cells display important antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*, which is directly mediated by IFN- γ release // J. of Immun. – 2011. – Vol. 187, №3. – P. 1369-1376.
14. Templeton S.P., Buskirk A.D., Law B., et al. Role of germination in Murine airway CD8+T-cell responses to *Aspergillus conidia* // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6, №4 (article e18777)
15. Hebart H., Bollinger C., Fisch P., et al. Analysis of T-cell responses to *Aspergillus fumigatus* antigens in healthy individuals and patients with hematologic malignancies // Blood. – 2002. – Vol. 100, №13. – P. 4521-4528.
16. Park S.J. and Mehrad B. Innate immunity to *Aspergillus* species // Clin. Microbiol. Rev. – 2009. – Vol. 22, №4. – P. 535-551.

Поступила в редакцию журнала 09.09.2014

Рецензент: Н.В. Шабашова



АКТИНОМИКОЗ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ И МАЛОГО ТАЗА

**Козлова О.П. (аспирант)*, Мирзабалаева
А.К. (профессор кафедры), Климко Н.Н.
(зав. кафедрой)**

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии), Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

В статье представлены данные обследования 146 пациентов с различными клиническими формами актиномикоза. У 64 больных (44%) диагностировали актиномикоз органов брюшной полости и малого таза. Представлены клинико-диагностические аспекты заболевания. Изучена прогностическая ценность различных факторов риска. При рациональном сочетании хирургического лечения с длительной антибактериальной терапией препаратами пенициллиновой группы эффективность составила 92%. Представлен обзор научной литературы по данному заболеванию за последние 5 лет.

Ключевые слова: актиномикоз, актиномицеты, анаэробная инфекция, препараты пенициллиновой группы

ACTINOMYCOSIS OF ABDOMINAL CAVITY AND SMALL PELVIS

**Kozlova O.P. (postgraduate student),
Mirzabalaeva A.K. (professor of the chair),
Klimko N.N. (head of the chair)**

North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Chair of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, St. Petersburg, Russia)

© Collective of authors, 2014

Data of investigation of 146 patients with different clinical forms of actinomycosis has been presented in the article. In 64 patients (44%) actinomycosis of abdominal cavity and small pelvis was diagnosed. Clinical and diagnostic aspects of the disease are presented. Prognostic value of various risk factors has been studied. In rational combination of surgical treatment with prolonged antibiotic therapy by drugs of the penicillin group the treatment efficiency was 92%. The authors present a review of the scientific literature on this disease for the last 5 years.

Key words: actinomycetes, actinomycosis, anaerobic infection, drugs of the penicillin group

ВВЕДЕНИЕ

Актиномикоз – медленно прогрессирующая бактериальная инфекция, возбудителями которой являются грамположительные бактерии из семейства *Actinomycetaceae*. В последние годы отмечают возрастание частоты данного заболевания, особенно – его висцеральных форм. Хотя поражение органов брюшной полости и малого таза составляет 10-20% от числа всех случаев актиномикоза, публикаций в научной литературе о данном варианте актиномикотического процесса недостаточно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно проанализировали случаи абдоминального актиномикоза у пациентов, находившихся на лечении в микологической клинике НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина (НИИ ММ). Диагностика актиномикоза была основана на выявлении в материале из очагов поражения возбудителя или его характерных тканевых форм – друз (гранул), состоящих из сплетений фрагментов актиномицетов, в материале из очагов поражения. Возбудитель идентифицировали с помощью микроскопии и бактериологического исследования материала из очагов поражения (отделяемое свищей, содержимое гнойных полостей, соскобы из полости матки и пр.). Для выявления возбудителей актиномикоза выполнена длительная инкубация посевов в анаэробных условиях (посев патологического материала проводили многократно). Инкубацию посевов и идентификацию чистых культур осуществляли автоматизированным методом (ПЦР- ПДРФ-анализ**) на приборе iEMS Reader MF (микроспектрофотометр) с использованием тест-систем «Анаеро-23» [1,2]. Применяли гистологический метод исследования биопсийного материала или удаленных органов, который является достоверным и информативным, а также методы окраски по Романовскому–Гимзе, по Граму-Вейгерту, PAS-реакцию с дополнительной окраской гематоксилином. Для уточнения распространенности инфекционного процесса использовали методы лучевой диагностики: ультразвуковое исследование (УЗИ), компьютерную томографию (КТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) органов брюшной полости и малого таза.

Контрольную группу составили пациенты с неспецифическим воспалительным процессом органов брюшной полости и малого таза по 20 человек соответственно.

Выполнена статистическая обработка полученных данных. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента. Различия средних величин считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для оценки значимости или прогностической ценности факторов риска использовали методы определения чувствительности и специфич-

* Контактное лицо: Козлова Ольга Петровна, тел.: (812) 303-51-46

** способ исследования геномной ДНК (полиморфизм длин рестриционных фрагментов)

ности в процентном выражении [Флетчер Р. и др. Клиническая эпидемиология. – 1998. – 103 с.].

Авторы провели анализ данных из научной литературы в базах PubMed, ClinicalKey (Elsevier), Wiley online library, Cochrane Library. При поиске информации использовали ключевые слова: abdominal actinomycosis, *Actinomyces* spp., antibiotic therapy, histologic examination, penicillini-natrii.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В период с января 2005 г. по декабрь 2013 г. в клинике НИИ ММ находились на лечении 146 пациентов с различными формами актиномикоза, из них 64 человека (44%) с актиномикозом органов брюшной полости (АОБП) и малого таза (АОМТ). Женщин – 88% (n=56), мужчин – 12% (n=8) в возрасте от 27 до 81 года (медиана – 47±3,8).

Период от появления жалоб до обращения к врачу (хирургу, гинекологу, онкологу) варьировал от нескольких недель до двух лет (медиана – 27±2,6 дней). В ряде случаев пациенты предпринимали попытки самостоятельного лечения – применение обезболивающих препаратов, антибактериальных препаратов широкого спектра действия короткими курсами. В большинстве случаев (69%) обращение за первичной помощью было отсрочено, в среднем, до 4-6 недель. Трое пациентов были госпитализированы в экстренном порядке на хирургическое отделение с диагнозом «разлитой перитонит».

В 67% случаев инфекция имела распространенный характер. В воспалительный процесс были вовлечены органы брюшной полости и малого таза с формированием плотных «деревянистых» инфильтратов за счет вовлечения жировой клетчатки и близлежащих органов. Процесс также характеризовался образованием гнойных полостей и множественных свищей. Изолированное поражение органов брюшной полости выявили у 12% от общего числа заболевших лиц, органов малого таза – у 21%.

АОМТ может быть первичным и вторичным. Для первичного актиномикоза женских половых органов характерно распространение инфекции интраканаликулярно – восходящий путь через канал шейки матки в эндометрий, на маточные трубы и яичники (выявили в исследуемой группе у 21% больных). К вторичному АОМТ относят поражение, при котором происходит проникновение возбудителя из инфицированных органов брюшной полости, преимущественно – слепой кишки и червеобразного отростка (43% в исследуемой группе пациентов). Также при вторичном актиномикозе возможно проникновение возбудителя через систему региональных лимфатических и кровеносных сосудов из отдаленных экстрагенитальных очагов актиномикотической инфекции (одонтогенные очаги и инфекция ЛОР-органов). В ряде случаев трудно определить первичность или вторичность поражения актиномицетами органов малого таза.

С помощью анамнестических данных установили

следующие возможные факторы риска для развития АОБП: проведенные ранее операции на органах брюшной полости (33% случаев), из них аппендэктомия – в 27% случаев от числа проведенных операций, холецистэктомия – в 8%, резекция желудка – в 2%. Отметим, что 35% пациентов страдали желчекаменной болезнью, 27% – гастроэзофагеальной рефлексной болезнью. Длительное течение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки имело место у 5% больных.

У женщин с АОМТ отмечали ряд особенностей гинекологического анамнеза: репродуктивная функция сохранена у 60% пациенток, существенных нарушений менструальной функции не выявили, хронические воспалительные заболевания матки и ее придатков были у 11%. Осложненное течение беременности и родов отмечали у 45% женщин (оперативное родоразрешение, повторный кюретаж матки после искусственного прерывания беременности и др.). С целью планирования рождаемости 73% больных использовали внутриматочную контрацепцию (ВМК), в среднем, 7,6±2,4 лет (от 6 до 12).

Изучили прогностическую ценность факторов риска. По данным Флетчер Р. и соавторов, за прогностически значимую ценность фактора риска был взят параметр 65% [Флетчер Р. и др. Клиническая эпидемиология. – 1998. – 103 с.].

В таблице 1 представлены факторы риска АОБП. Наиболее значимый прогностический фактор – аппендэктомия с осложненным течением послеоперационного периода (периаппендикулярный инфильтрат, заживление послеоперационных швов вторичным натяжением).

Таблица 1

Прогностическая ценность факторов риска при актиномикозе органов брюшной полости (n=51)

Факторы риска	Наличие признака в основной группе (n = 51)		Отсутствие признака (контрольная группа) (n = 20)		Положительная прогностическая ценность факторов риска
	абс.	%	абс.	%	
Аппендэктомия с осложненным течением послеоперационного периода	14	27	18	90	73
Другие операции на органах брюшной полости	13	25	17	85	62
Желчекаменная болезнь	18	35	9	45	39
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	14	27	11	55	38
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	3	6	16	80	23
Одонтогенные очаги инфекции	25	49	15	75	62

Фактором риска АОМТ, обладающим наибольшей прогностической ценностью, был длительно находящийся в полости матки ВМК (табл. 2).

Таблица 2

Прогностическая ценность факторов риска при актиномикозе органов малого таза (n=56)

Факторы риска	Наличие признака в основной группе (n = 56)		Отсутствие признака (контрольная группа) (n = 20)		Положительная прогностическая ценность факторов риска
	абс.	%	абс.	%	
Внутриматочная контрацепция	41	73	15	75	74
Операции на органах малого таза	35	63	12	60	61
Хронические воспалительные заболевания матки и придатков	6	11	9	45	17
Осложненное течение беременности и родов	25	45	10	50	48
Одонтогенные очаги инфекции	23	41	15	75	62

Одонтогенные заболевания выявили у 59% пациентов (наличие кариозных зубов, зубных гранулем и абсцессов, периодонтиты и пародонтиты, травмы ротовой полости и костей лицевого скелета) – очаги хронической инфекции, которые могут быть источником гематогенной диссеминации процесса.

Основной жалобой, ставшей причиной обращения к врачам, была абдоминальная боль – у 94% (n=60). С одинаковой частотой, соответственно, 33% и 32% пациентов отмечали разлитой характер боли без четкой локализации или боль в нижних отделах живота, 28% – в эпигастральной области, 7% – в правом подреберье. У 80% больных выявили признаки интоксикации (повышение температуры до 38 °С и более, общую слабость, головные боли), нарушение функции соседних органов (расстройство стула – у 19%, нарушение мочеиспускания – у 5%), гнойные или кровянистые выделения из влагалища – у 16% женщин. Потерю массы тела в течение всего периода заболевания от 4 до 26 кг (медиана – 8,4±2,6 кг) наблюдали у 25 пациентов (39%), анорексию – у 6%. Формирование свищей установили у 7 человек (11%), при этом у 4 (6%) – свищевой ход открывался на переднюю брюшную стенку, у одной пациентки имел место пузырно-вагинальный свищ, в двух случаях свищевой ход функционировал в мягких тканях аногенитальной области.

Локализация АОБП и АОМТ представлена в таблице 3.

Таблица 3

Локализация актиномикоза органов брюшной полости и малого таза (n=64)

Локализация процесса	абс	%
Брюшная полость:		
червеобразный отросток	27	42
сигмовидная кишка	16	25
купол слепой кишки	14	22
большой сальник	16	25
печень	6	9
поджелудочная железа	2	3
желчный пузырь	1	2
передняя брюшная стенка	14	22
Малый таз:		
яичники	28	43
матка	10	16
маточные трубы	8	12
параметрий	12	19
мочевой пузырь	5	8

Наиболее частой локализацией АОБП был червеобразный отросток (42%). При АОМТ чаще всего выявляли поражение яичников – 43%. Перитонит диагностировали у 33% больных из общего числа обследуемых.

При изучении показателей клинического анализа крови обнаружили некоторые особенности. Статистически достоверно был снижен средний уровень гемоглобина – 110,38±2,32 г/л vs 121,86±1,47 г/л, по сравнению с контрольной группой (p<0,05). Лейкоцитоз отметили у 56% пациентов, среднее число лейкоцитов – от 22,25±0,58·10⁹/л vs 4,0±0,25, p<0,05. Изменение показателя скорости оседания эритроцитов (СОЭ) наблюдали у всех пациентов – 57,20±2,70 vs 16,65±1,90 (p<0,05), что значительно превышало параметры данного показателя у лиц из контрольной группы. У большинства больных (91%) выявили появление С-реактивного белка, увеличение содержания сиаловых кислот, гиперфибриногемию, что не отличалось от аналогичных показателей при неспецифическом воспалительном процессе.

Первоначально, у 37 пациентов (58%) была заподозрена онкопатология органов малого таза и/или брюшной полости, у 25 (39%) – диагностировали воспалительный инфильтрат брюшной полости и/или малого таза, у 2 (3%) – подозревали туберкулезную этиологию кишечника. В связи с этим, 63 больным (98%) провели хирургическое лечение, включая симультанные операции. Варианты оперативного вмешательства представлены в таблице 4.

Таблица 4

Варианты хирургических вмешательств на органах брюшной полости и малого таза (n=63)

	абс.	%
Аппендэктомия	27	42
Резекция сигмовидной кишки	9	14
Ушивание дефекта стенки прямой кишки	1	2
Операция Гартмана	4	6
Экстирпация большого сальника	3	5
Резекция большого сальника	6	10
Вскрытие и дренирование абсцесса печени	1	2
Вскрытие абсцесса на передней брюшной стенке	6	10
Резекция дна мочевого пузыря	2	3
Овариоэктомия	4	6
Тубэктомия	7	11
Аднекэктомия	28	44
Субтотальная гистерэктомия	5	8
Тотальная гистерэктомия	3	5

В подавляющем большинстве случаев (91%) актиномикотическую этиологию заболевания установили или заподозрили на этапе гистологического исследования материала удаленных органов и тканей. Во всех случаях диагноз актиномикоза был верифицирован при повторном изучении гистологических препаратов специалистами микологической клиники НИИ ММ. Гистологическая картина была представлена лейкоцитарной инфильтрацией с очагами гнойного расплавления, разделенными соединительной тканью. В центре фокусов гнойного воспаления располагались гранулы (друзы), состоящие из сплетений актиномицетов, окруженных распадающимися нейтрофильными лейкоцитами. На рисунке 1 показан гистологический препарат пациентки с

распространенным АОБП и АОМТ (поражение сигмовидной кишки, червеобразного отростка и слепой кишки, матки и ее придатков).

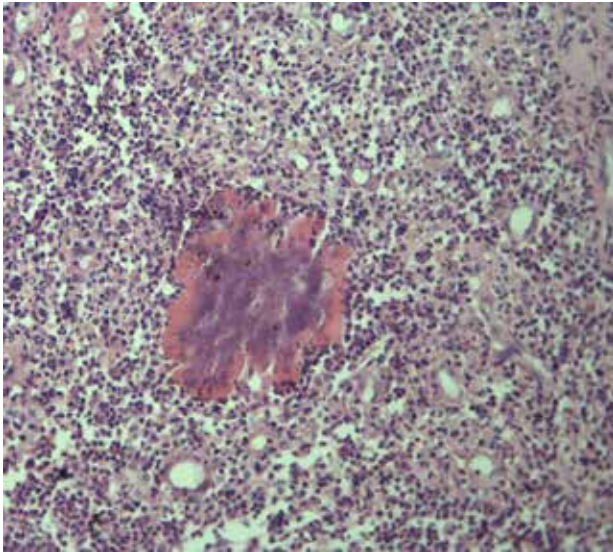


Рис. 1. Actinomикотическая друза, окруженная воспалительным валом из клеток фагоцитарного ряда. Препарат из тканей сигмовидной кишки

Только у 9% больных актиномицеты обнаружили при микроскопии или бактериологическом исследовании соскобов эндометрия, материала с поверхности ВМК и содержимого свищей. Основным возбудителем – *A. israelii* был выделен в 75%, *A. naeslundii* – в 25%.

В большинстве случаев (91%), даже при установленном диагнозе актиномикоза, специфическую антибактериальную терапию не назначали. Во время пребывания в стационаре (7-14 дней) больные получали только традиционное антибактериальное лечение.

В микологической клинике для специфического лечения актиномикоза 62 пациента (97%) применяли натриевую соль бензилпенициллина в дозе от 12 до 24 млн. ЕД в сутки парентерально в течение 2-4 недель (медиана – $16 \pm 3,5$ дня). После достижения клинического эффекта, терапию продолжали пероральным приемом амоксициллина (1,5-2 г/сутки) сроком 6-12 месяцев (медиана – $9 \pm 2,2$ месяца). Только в 3% случаев использовали другие группы антибактериальных препаратов (макролиды) вследствие доказанной аллергической реакции на препараты пенициллинового ряда.

Для решения вопроса об отмене антибактериальной терапии рассматривали такие критерии, как отсутствие клинических признаков, анатомических изменений в пораженных органах при КТ, МРТ исследованиях. Эффективность хирургического лечения в сочетании с длительной антибактериальной терапией составила 92%. Пять пациентов продолжают получать антибактериальную терапию и находятся под наблюдением клинического миколога в НИИ ММ.

ОБСУЖДЕНИЕ

В 1846 году W. Bradshaw впервые описал случай абдоминального актиномикоза. Первое подробное описание актиномикоза у человека было опубликовано немецким хирургом D. Izrael в 1878 году. Микроорганизму, вызывающему заболевание у человека, было дано название *Actinomyces hominis* («лучистый грибок человека»). С тех пор представление о микотической природе заболевания можно встретить и в наши дни, хотя актиномикоз является бактериальной инфекцией [3-5].

Актиномицеты относят к классу *Bacteria*, семейству *Actinomycetaceae*, роду *Actinomyces*. Это грамположительные микроорганизмы, но окраска по Граму может изменяться с возрастом культуры. Актиномицеты обычно являются анаэробами, но также могут быть факультативными ана- и аэробами. Известно около 20 видов актиномицетов; наиболее частые возбудители АОБП и АОМТ – *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*, *A. meyeri* [2, 3, 6, 7]. В представленной группе больных при посеве материала из очагов поражения были выделены два возбудителя актиномикоза – *A. israelii* (75% случаев) и *A. naeslundii* (25%), что, в целом, соответствует данным из мировой научной литературы.

Актиномикоз распространен повсеместно, для него не существует географических, этнических и половых отличий. Как правило, выявляют у иммунокомпетентных пациентов [4, 6]. Висцеральный актиномикоз обнаруживают не часто. Ежегодно в Великобритании диагностируют 20-40 случаев данного заболевания [8]. Эпидемиологические исследования в нашей стране не достаточны, в ряде случаев, при хроническом неспецифическом гнойном воспалительном процессе детальную диагностику возбудителя не проводят. Актиномикоз ОМТ и ОБП чаще распространен у женщин, что, вероятно, связано с ростом случаев заболевания при длительном использовании ВМК [9-11].

Актиномицеты – представители нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), преимущественно, слепой кишки и червеобразного отростка, цервикального канала и влагалища у женщин. Поэтому актиномикоз чаще возникает как осложнение аппендицита, аппендэктомии, перфорации, травм кишечника, длительного нахождения ВМК в полости матки, реже – вследствие диссеминации из других органов [3, 4, 6].

Клинические проявления абдоминального актиномикоза неспецифичны. Для АОБП и АОМТ в клиническом анализе крови характерны анемия легкой степени, лейкоцитоз, значительное увеличение СОЭ, воспалительные изменения биохимических показателей крови. Вместе с тем, выявленные особенности клинической картины и клинико-лабораторные показатели не имели существенных отличий от таковых при гнойных заболеваниях органов брюшной полости и малого таза неспецифической этиологии

[1, 6, 7, 9].

Для АОБП фактором риска с наибольшей прогностической значимостью является аппендэктомия с осложненным течением послеоперационного периода (прогностическая ценность – 73%).

Наиболее частая локализация – илеоцекальный угол [12, 13], когда развивается клиническая картина аппендицита. При длительно текущем патологическом процессе возможно образование свищей на передней поверхности брюшной стенки [3, 7, 8, 14].

Поражение толстой кишки в сочетании с актиномикозом органов малого таза составляет 15% [2, 15]. Клинико-рентгенологические особенности неотличимы от злокачественного новообразования данной локализации. За последние 10 лет представлено около 50 публикаций об актиномикозе толстой кишки [12].

Актиномикоз печени составляет 5-15% от общего числа актиномикоза органов брюшной полости и, как правило, проявляется наличием абсцессов; чаще регистрируют у мужчин [14]. Клиническая картина неотличима от таковой при злокачественных новообразованиях печени [2, 4, 13, 14]. На рисунке 2 представлена КТ больной с подтвержденной актиномикотической этиологией воспалительного поражения печени.

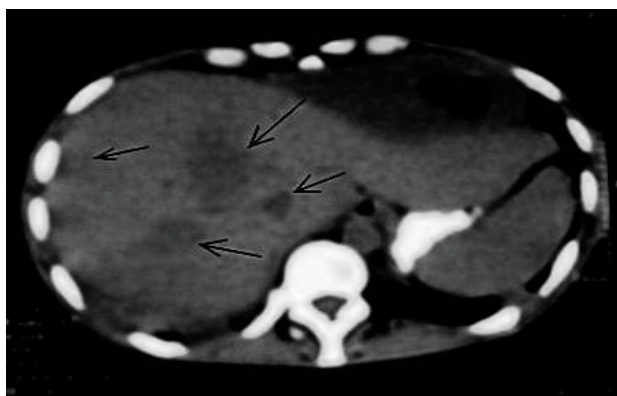


Рис. 2. На КТ органов брюшной полости стрелками показаны множественные инфильтраты в печени

Значительно реже диагностируют актиномикоз желудка, поджелудочной железы, тонкого кишечника. Авторы [13] сообщают лишь о 5 случаях актиномикоза поджелудочной железы, причем 2 из которых были ассоциированы с *A. meyeri*.

Для АОМТ фактором риска с наибольшей прогностической значимостью является длительно находящийся в полости матки ВМК (прогностическая ценность – 74%).

Эти данные также подтверждены в многочисленных исследованиях зарубежных авторов [4, 9-11]. Вероятно, ВМК способствует нарушению отторжения эндометрия, подавлению фагоцитоза, появлению микроэрозий и перифокальной воспалительной реакции, нарушению микроциркуляции, формированию локального ДВС синдрома. Эти нарушения фокусируют актиномикотическую инфекцию во внутренних половых органах женщин, и поэтому дли-

тельное нахождение ВМК в полости матки является фактором риска развития актиномикоза [10, 11].

Для актиномикоза органов малого таза (матка, маточные трубы, яичники, мочевого пузыря и др.), выявляемого у 8-10% больных с воспалительными гнойными процессами, характерно длительное прогрессирующее и рецидивирующее течение, полиорганные осложнения и инвалидизация женщин [4, 15]. На рисунке 3 представлены результаты КТ больной с клиническим диагнозом: абдоминальный актиномикоз – поражение матки, яичников, маточных труб, стенки мочевого пузыря, большого сальника.

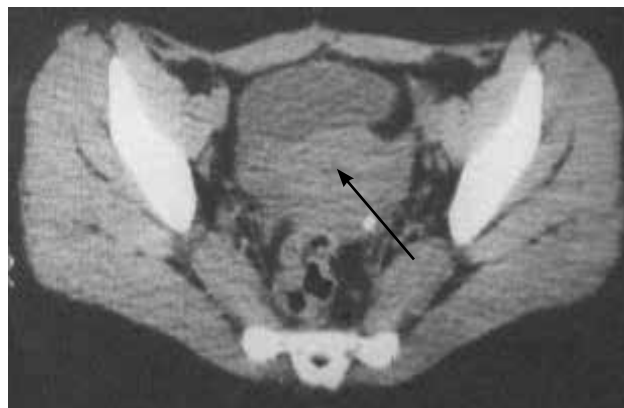


Рис. 3. На КТ определяется многокамерное образование правого яичника

Следует отметить, что актиномицеты являются представителями нормобиоты полости рта, но при наличии одонтогенных заболеваний (кариес, зубные гранулемы и абсцессы полости рта, периодонтиты и пародонтиты, недостаточная гигиена полости рта, травмы ротовой полости и костей лицевого скелета) количество колоний актиномицетов возрастает, что может привести к развитию актиномикотического процесса, вследствие гематогенной или лимфогенной диссеминации [3, 4, 6]. Наличие кариозных зубов, вероятно, следует рассматривать как фактор риска в связи с высокой частотой одонтогенных инфекций, нарушенным состоянием местного иммунитета слизистых оболочек полости рта, что облегчает инфицирование актиномицетами, поддерживающими постоянный очаг хронической инфекции [3, 6]. По данным нашего исследования, у 59% пациентов были выявлены одонтогенные заболевания, что можно рассматривать как хронический источник актиномицетов.

Диагностика АОБП и АОМТ основана на выявлении возбудителя в материале из очагов поражения. Эффективными методами ранней диагностики актиномикоза являются микроскопия и посев материала из очага поражения в анаэробных условиях, что возможно при доступности получения материала и проведения этого вида исследований (9% случаев). В подавляющем большинстве (91% случаев) актиномикотическая этиология заболевания была подтверждена при гистологическом исследовании биопсийного материала или удаленных органов после хирургического лечения. Необходимо применение

специальных методов окраски (по Граму, Граму-Вейгерту, PAS-реакция с дополнительной окраской гематоксилином), что увеличивает вероятность выявления тканевой формы друзы [1-3]. Диагноз АОБП и АОМТ, как правило, устанавливают после хирургического лечения [3, 13, 17], что имело место у обследованных больных.

Методы лучевой диагностики помогают определить объем поражения: визуализировать массивный плотный очаг повреждения, оценить связь гнойного очага с окружающими тканями, выявить распространенность очага поражения за пределы одного органа или системы [7, 12]. При наличии факторов риска необходимо выполнение пункции воспалительных образований, диагностической лапаротомии, лапароскопии. При своевременной постановке диагноза можно избежать оперативного лечения.

Актиномицеты чувствительны ко многим антибактериальным препаратам. Доказательные международные клинические исследования по эффективности лечения каким-либо антибактериальным препаратом не были проведены [17]. Все патогенные для человека виды актиномицетов чувствительны к пенициллинам, большинство авторов научных публикаций считают пенициллины препаратами выбора [3, 4, 9, 17].

Лечение обычно начинают с применения натриевой соли бензилпенициллина по 12-24 млн. Ед/сут. в течение 2-4 недель. После достижения клинического эффекта и стабилизации состояния больного, назначают пероральные полусинтетические пенициллины. При непереносимости препаратов пенициллинового ряда используют препараты резерва: тетрациклины, макролиды, линкозамиды, которые назначают от среднетерапевтических доз до максимальных, непрерывными курсами, длительно [3, 5, 7, 13].

Антибактериальное лечение следует проводить до достижения стойкой положительной динамики состояния пациента и исчезновения основных симптомов инфекции. Критерии отмены терапии:

отсутствие клинических проявлений заболевания, нормализация клинико-лабораторных показателей, отсутствие патологических изменений на КТ, МРТ, УЗИ пораженных органов [5, 13, 17]. Даже при распространении процесса, летальность при данном заболевании мало вероятна. В представленном исследовании все рекомендации по лечению АОБП и АОМТ были выполнены, что позволило добиться высокой эффективности.

ВЫВОДЫ

Анализируя результаты собственных наблюдений, можно сделать следующие выводы:

1. Частота актиномикоза органов брюшной полости и малого таза составила 44% среди различных клинических форм данного заболевания; в 67% случаев поражение носило распространенный характер, изолированное поражение органов малого таза выявили в 21% случаев, органов брюшной полости – в 12%.

2. Наиболее значимыми факторами риска развития актиномикоза органов брюшной полости была аппендэктомия с осложненным течением послеоперационного периода (прогностическая ценность – 73%), для актиномикоза органов малого таза – длительное использование ВМК от 6 до 12 лет (прогностическая ценность – 74%).

3. Клинические проявления актиномикоза неспецифичны. Ранняя диагностика заболевания возможна в случае выявления возбудителя инфекционного процесса при посеве патологического материала с использованием специальных питательных сред и инкубацией в анаэробных условиях. Тем не менее, в 91% случаев диагноз актиномикоза был подтвержден на основании гистологического исследования удаленных органов и тканей.

4. Рациональное сочетание хирургического лечения и длительной антибактериальной терапии обеспечило эффективность в 92% случаев.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Acquaro H., Tagliabue E, Confalonieri G., Faccioli P. Abdominal wall actinomycosis simulating a malignant neoplasm: Case report and review of the literature // *World J. Gastrointest Surg.* – 2010. – Vol. 2, №7. – P. 247-250/
2. Мирзабалаева А.К., Козлова О.П., Климко Н.Н. Висцеральный актиномикоз. Учебное пособие. – СПб.: СЗГМУ им. И.И.Мечникова, 2013. – 48 с.
3. Das K., Karateke E, Ozyazici S., et al. Unusual presentations of actinomycosis; anterior abdominal wall and appendix: report of three cases// *Balkan Med. J.* 2013. – Vol. 30, №3. – P. 315-317.
4. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. – СПб., 2008. – 335 с.
5. Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Черномятова Р.М. и др. Случай успешного лечения распространенной формы абдоминального актиномикоза // *Инфектология.* – 2009. – Т. 1, №2/3. – С. 81-86.
6. Choi M.M, Baek J.H., Lee J.N., et al. Clinical features of abdominopelvic actinomycosis: report of twenty cases and literature review // *Yonsei Med. J.* – 2009. – Vol. 50, №4. – P. 555-559.
7. Hefny A.E, Joshi S., Saadeldin Y.A., et al. Primary anterior abdominal wall actinomycosis// *Singapore Med. J.* – 2006. – Vol. 47. – P. 419-421.
8. Privitera A., Milkhu C.S., Datta V., et al. Actinomycosis of the sigmoid colon: A case report // *World J. Gastrointest. Surg.* – 2009. – Vol. 30, №1. – P. 62-64.
9. Triantopoulou C., der Molen A.V., Es A.C., Giannila M. Abdominopelvic actinomycosis: spectrum of imaging findings and common mimickers//*Acta. Radiol. Short. Rep.* – 2014. – Vol. 3, №2. – P. 48-51.
10. Tholozan A.S., Terzibachian J.J., Bourtembourg A., et al. Secondary psoas actinomycosis: a complication of an intrauterine contraceptive device // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2013. – Vol. 41, №3. – P. 190-192.

11. *Yilmaz M., Akbulut S., Samdanci E.T., Yilmaz S.* Abdominopelvic actinomycosis associated with an intrauterine device and presenting with a rectal mass and hydronephrosis: a troublesome condition for the clinician//Int. Surg. – 2012. – Vol. 97, №3. – P. 254-259.
12. *Valko P., Busolini E., Donati N., et al.* Severe large bowel obstruction secondary to infection with *Actinomyces israelii* // Scand. J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 38, №3. – P. 231-234.
13. *Garner J.P., Macdonald M., Kumar P.K.* Abdominal actinomycosis //Int. J. of Surg. – 2007. – Vol. 5, №6. – P. 441-448.
14. *Yu C.Y., Chang W.C., Gao H.W., et al.* Metastatic hepatic actinomycosis//Am. J. Med. – 2010. –Vol. 123. – P. 9-11.
15. *Vanoeteren X., Devreese K., De Munter P.* Abdominal actinomycosis: a rare complication after cholecystectomy// Acta. Clin. Belgica. – 2014. – 69, №2. – P. 152-156.
16. *Petrie B.A., Schwartz S.I., Saltmarsh G.F.* Intra-abdominal actinomycosis in association with sigmoid diverticulitis//Am. Surg. – 2014. – Vol. 80, №6. – P.157-159.
17. *Trutnovsky G., Tamussino K., Reich O.* Short-term antibiotic treatment of pelvic actinomycosis // Int. J. of Gynecol. and Obstetrics. – 2008. – Vol. 101, №2. – P. 203-204.

Поступила в редакцию журнала 16.09.2014

Рецензент: Ю.В. Долго-Сабурова



КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ДЕРМАТОМИКОЗОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Иванова Ю.А. (доцент кафедры)*, Емельянова И.В. (врач-микробиолог)

Алтайский государственный медицинский университет (кафедра дерматовенерологии); Алтайская краевая клиническая больница, г. Барнаул, Россия

© Иванова Ю.А., Емельянова И.В., 2014

В статье описаны эпидемиологические особенности дерматомикозов на фоне сахарного диабета, проанализированы социально-значимые характеристики у данной категории больных, изложены результаты и проанализирована эффективность различных методов лечения онихомикоза стоп у больных сахарным диабетом первого и второго типов.

Ключевые слова: микроскопическое и культуральное исследование, эпидемиология и этиология дерматомикозов, эффективность терапии онихомикоза

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL PECULIARITIES AND EFFECTIVENESS OF DERMATOMYCOSES TREATMENT IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

Ivanova Y.A. (associate professor of the chair), Emelyanova I.V. (doctor-microbiologist)

Altai State Medical University (chair of dermatovenereology); Altai Region Clinical Hospital, Barnaul, Russia

© Ivanova Y.A., Emelyanova I.V., 2014

Epidemiological peculiarities of dermatomycoses during diabetes mellitus, analyzes the socio-relevant characteristics in these patients and the effectiveness of various methods of feet onychomycosis treatment in patients with diabetes mellitus types I and II have been described in this article.

Key words: effectiveness of treatment of onychomycosis, epidemiology and etiology of dermatomycoses, microscopic and cultural studies

* Контактное лицо: Иванова Юлия Александровна, Тел.: (3852) 62-40-11

ВВЕДЕНИЕ

Подавляющее большинство патогенных и условно-патогенных грибов вызывают заболевание только при наличии факторов, снижающих нормальную физиологическую защитную функцию кожи и нарушающих резистентность организма к инфекции, особенно – при иммунодефицитных состояниях [1]. Возрастание заболеваемости сахарным диабетом (СД), сосудистыми и аутоиммунными болезнями, а также стареющее население вносят дополнительные факторы риска в развитие дерматомикозов в социально и экономически развитых странах [2, 3].

Большинство авторов расценивают сахарный диабет как заболевание, способствующее развитию микотической инфекции, и говорят о высокой частоте микозов при сахарном диабете – от 40 до 60% [4, 5]. Winston J.A., Miller J.L. [6] отмечают, что онихомикоз достоверно чаще выявляют у больных СД, чем без него. Важно помнить – это гораздо больше, чем косметическая проблема, и поэтому данная категория пациентов имеет повышенный риск серьезных осложнений, в том числе – ампутации конечностей. Другие исследователи считают, что дерматомикозы не характерны для данного заболевания, в то время как поверхностный кандидоз может быть ранним признаком этой эндокринопатии. Обычно кандидоз развивается у пожилых людей при плохом контроле уровня гликемии. Классическими его проявлениями являются ангулярный стоматит, поражения крупных и мелких складок, паронихии. При кетоацидозе больные СД предрасположены к микозам, обусловленным *Miscor* spp., так как этот возбудитель хорошо растет в кислой среде, богатой глюкозой, и использует для питания кетоновые тела [7].

При анализе частоты патологии кожи у больных сахарным диабетом в Пакистане учеными получены следующие данные: грибковые инфекции кожи по частоте встречаемости находятся на втором месте после бактериальных и составляют 8,9% от всех дерматологических заболеваний. При этом у больных с инсулин-зависимым типом диабета дерматомикозы регистрировали значительно реже (0,3%), чем у лиц, страдающих инсулин-независимым типом (8,6%) [8]. Foss N.T. и соавт. [9] при проведении аналогичного исследования в Бразилии опровергают низкую частоту дерматомикозов у диабетических пациентов. По их сведениям, дерматомикозами страдают 82,6% обследованных лиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2010-2013 гг. в эндокринологическом отделении Алтайской краевой клинической больницы обследовали 148 больных в возрасте от 18 до 70 лет с сахарным диабетом и дерматомикозами. Всех пациентов подразделили на две группы в зависимости от типа сахарного диабета: с СД 1 типа – 63 человека, с СД 2 типа – 85. Для постановки диагноза проводили

микологическое исследование в два этапа – микроскопия и культуральная диагностика. Микоз стоп диагностировали у 127 пациентов, онихомикоз стоп – у 127, онихомикоз кистей – у 3, микоз гладкой кожи – у 3, микоз крупных складок – у 4, из них паховый микоз – у 1. В качестве системного лечения больным обеих групп назначали один из препаратов: тербинафин – 250 мг/сут. непрерывно, итраконазол – 200 мг 2 раза/сут. пульс-терапией, флуконазол – 150 мг/неделю непрерывно. Продолжительность терапии варьировала от 2 до 36 недель. При дерматомикозах с поражением гладкой кожи наружно применяли крем тербинафина один раз в день. При онихомикозе всем больным проводили механическую подчистку пораженных ногтевых пластинок 2 раза в неделю с последующей профилактической обработкой спреем, содержащим производное ундециленовой кислоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки эффективности лечения больных дерматомикозами провели комплексное клинко-лабораторное обследование пациентов в возрасте от 17 до 85 лет (средний возраст – 51 год). Распределение больных дерматомикозами на фоне сахарного диабета по возрастным группам представлено на рисунке 1.

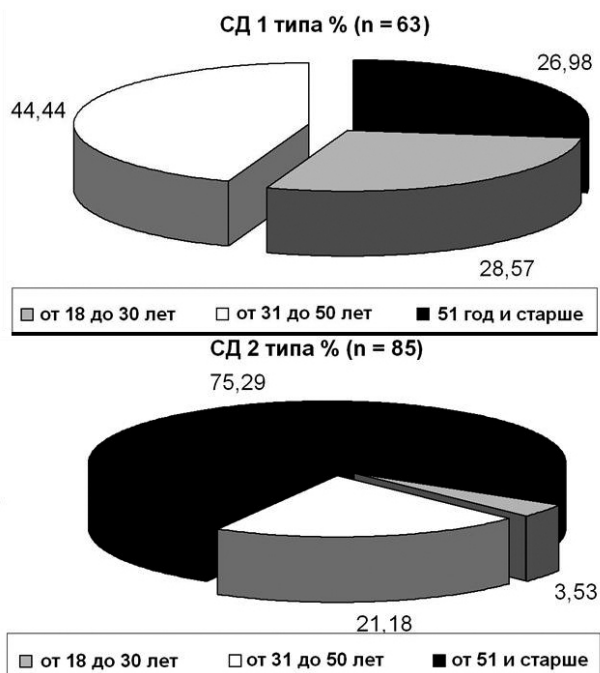


Рис. 1. Распределение больных с дерматомикозами, протекающими на фоне СД, по возрастным группам

Среди пациентов с СД 2 типа наиболее многочисленную категорию составили лица в возрасте старше 50 лет – 75%. Среди больных с СД 1 типа максимальное количество было представлено в возрасте от 31 до 50 лет. Молодых людей в возрасте до 30 лет было также значительно больше – 28,6%, по сравнению с 3,6% обследованных лиц с СД 2 типа.

Длительность заболевания пациентов колебалась от 1 года до 38 лет (табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных дерматомикозами на фоне сахарного диабета по длительности заболевания

Длительность заболевания	Всего (n=148)		СД 1 типа (n=63)		СД 2 типа (n=85)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
От 1 до 5 лет	40	27,03	18	28,57	22	25,88
От 6 до 10 лет	50	33,78	22	34,92	28	32,94
Более 10 лет	58	39,19	23	36,51	35	41,18

Продолжительность сахарного диабета у 58 больных (39,19%) составляла более 10 лет. Среди пациентов с СД 2 типа несколько меньше в процентном соотношении, чем с СД 1 типа, было лиц с длительностью заболевания до 5 лет и больше – с длительностью более 6 лет.

Для анализа эпидемиологической ситуации у больных с СД и дерматомикозами изучали социально значимые характеристики (табл. 2).

Таблица 2

Социальный статус больных с дерматомикозами на фоне сахарного диабета

Анализируемые признаки	Число больных (n=148)					
	СД 1 типа (n=63)		СД 2 типа (n=85)		Всего (n=148)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Место жительства						
Город	36	57,14	30	35,29	66	44,59
Село	27	42,86	55	64,71	82	55,41
Место работы						
Не работают	5	7,9	10	11,8	15	10,1
Пенсионеры	6	9,5	42	49,4	48	32,5
Рабочие	32	50,8	21	24,7	53	35,8
Служащие и интеллигенция	20	31,8	12	14,1	32	21,6
Семейное положение						
Женатые / замужем	42	66,7	52	61,2	94	63,5
Одинокие	21	33,3	33	38,8	54	36,5
Тип проживания						
Квартира	27	42,9	33	38,8	60	40,5
Частный дом благоустроенный	30	47,6	40	47,1	70	47,3
Частный дом неблагоустроенный	6	9,5	12	14,1	18	12,2

Пациенты с СД 1 типа в 57% случаев проживали в городе и, напротив, 2/3 больных с СД 2 типа были сельскими жителями. От 8% (СД 1) до 12% (СД 2) обследованных лиц относились к категории не работающих. Почти половина больных с диабетом 2 типа были пенсионерами, четверть – лица с рабочими профессиями и 14% – служащие и интеллигенция. Более половины пациентов с СД 1 типа имели рабочие профессии, около 1/3 составили служащие и интеллигенция и лишь 9,5% были пенсионерами. Около 1/3 больных с 1 и 2 типом диабета были одинокими людьми и 2/3 – замужем или женатыми. В квартирах чаще проживали пациенты с 1 типом диабета, а в частных неблагоустроенных домах – со 2 типом.

Среди 148 больных СД и дерматомикозами обнаружили 112 случаев иных сопутствующих соматических заболеваний: у 33 (52,4%) – с СД 1 типа и у 76 (89,4%) – с СД 2 типа. Сопутствующие болезни чаще выявляли у пациентов с СД 2 типа, кроме бронхоле-

точной патологии, которую несколько чаще регистрировали у лиц с СД 1 типа, чем с СД 2 типа – 4,8 и 3,5% соответственно. Наиболее распространены были заболевания сердечно-сосудистой системы – у 90 (60,8%) человек, затем – опорно-двигательной и нервной систем – у 36 (24,3%) и желудочно-кишечного тракта – у 25 (16,9%) (Рис. 2, табл. 3).

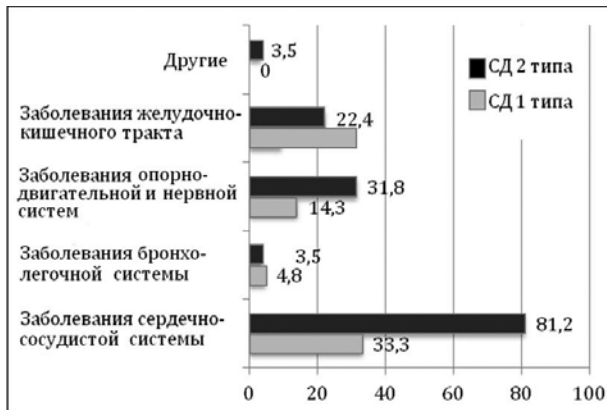


Рис. 2. Сопутствующие соматические заболевания у больных с дерматомикозами на фоне СД (%)

Таблица 3

Распространенность соматических заболеваний у больных с дерматомикозами на фоне сахарного диабета

Сопутствующие соматические заболевания	Число больных (n=148)					
	СД 1 типа (n=63)		СД 2 типа (n=85)		Всего (n=148)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Заболевания сердечно-сосудистой системы	21	33,3	69	81,2	90	60,8
Заболевания бронхолегочной системы	3	4,8	3	3,5	6	4,1
Заболевания опорно-двигательной и нервной систем	9	14,3	27	31,8	36	24,3
Заболевания желудочно-кишечного тракта	6	9,5	19	22,4	25	16,9
Другие	0	0	3	3,5	3	2%

Наиболее часто выявляли микоз и онихомикоз стоп: у 85,7% больных с СД 1 типа и у 85,9% – с СД 2 типа. У пациентов с СД 2 типа преобладали эритематозно-сквамозная и сквамозно-гиперкератотические формы заболевания. Стертую форму микоза стоп наблюдали примерно с одинаковой частотой – 22% в обеих группах. Межпальцевую и дисгидротическую формы микоза стоп зарегистрировали у лиц с диабетом 1 типа (Рис. 3).

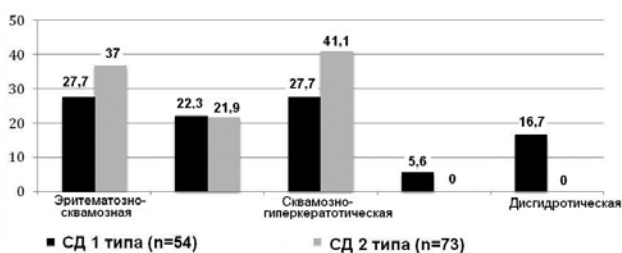


Рис. 3. Клинические особенности микоза стоп у пациентов с сахарным диабетом

Клиническая картина онихомикоза стоп при сахарном диабете имела свои особенности. У пациен-

тов с СД 1 типа более чем в половине случаев отмечали нормотрофический тип поражения ногтевых пластинок стоп, гиперкератотический – почти в 39%, онихолитический – в 5,6%. При 2 типе СД превалировал гиперкератотический тип изменения ногтевых пластинок стоп, нормотрофический – наблюдали у 37% больных, онихолитический – у 4% (табл. 4).

Количество и глубина поражения ногтевых пластинок, определяющие степень тяжести онихомикоза, в группах с диабетом 1 и 2 типов имели свои отличия. У больных с СД 1 типа одна ногтевая пластинка чаще поражалась на правой стопе, чем на левой – 44% и 33% соответственно. У пациентов с СД 2 типа поражение одной ногтевой пластинки обнаруживали с одинаковой частотой как на правой, так и на левой стопе – 37% случаев. Поражение двух ногтевых пластинок на одной стопе чаще имело место при СД 1 типа, а трех и более ногтевых пластинок – при СД 2 типа (33%). Поражение трех и более ногтевых пластинок у больных с СД 1 типа выявляли на левой стопе в 11% случаев (Рис. 4, 5).

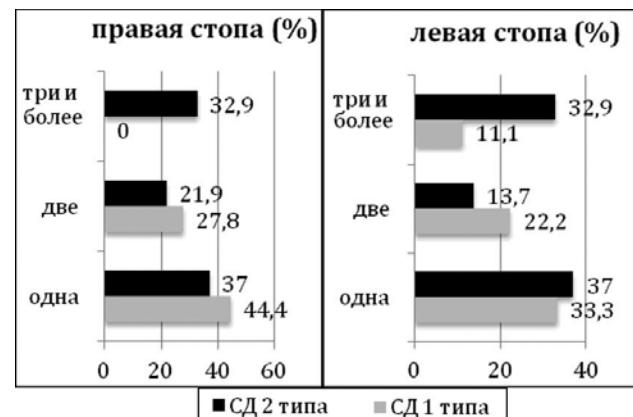


Рис. 4, 5. Количество пораженных ногтевых пластинок на правой и левой стопе у больных с СД

Более 1/3 ногтевой пластинки было поражено у большинства пациентов: 83% – с СД 1 типа и почти 88% – с СД 2 типа. Менее 15% обследованных лиц имели начальные изменения ногтевых пластинок стоп и, соответственно, легкую степень онихомикоза, не требующую проведения системной противогрибковой терапии. Поражение околоногтевых валиков наблюдали с одинаковой частотой в обеих группах – у 28% больных (табл. 4).

Различные неврологические отклонения и изменение лодыжечно-плечевого индекса, сопровождающиеся развитием синдрома диабетической стопы, представлены в таблице 5.

Таблица 4

Клинические особенности онихомикоза стоп у пациентов с сахарным диабетом

Клинические формы	Число больных (n=127)											
	СД 1 типа (n=54)		СД 2 типа (n=73)		Всего (n=127)							
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%						
<i>Тип поражения ногтевых пластинок</i>												
нормотрофический	30	55,5	27	37,0	57	44,9						
гиперкератотический	21	38,9	43	58,9	64	50,4						
онихолитический	3	5,6	3	4,1	6	4,7						
<i>Количество пораженных ногтевых пластинок</i>												
	п/с	л/с	п/с	л/с	п/с	л/с						
одна	24	18	44,4	33,3	27	27	37,0	37,0	51	45	40,2	35,4
две	15	12	27,8	22,2	16	10	21,9	13,7	31	22	24,4	17,3
три и более	0	6	0	11,1	24	24	32,9	32,9	24	30	18,9	23,6
<i>Глубина поражения ногтевых пластинок</i>												
до 1/3 ногтевой пластинки	9		16,7		9		12,3		18		14,2	
более 1/3 ногтевой пластинки	45		83,3		64		87,7		109		85,8	
<i>Поражение околоногтевых валиков</i>												
есть	15		27,7		21		28,7		36		28,3	
нет	39		72,3		52		71,3		91		71,7	

Таблица 5

Чувствительность на нижних конечностях у больных с дерматомикозами на фоне сахарного диабета

Виды чувствительности	Число больных (n=148)											
	СД 1 типа (n=63)				СД 2 типа (n=85)				Всего (n=148)			
	Абс.		%		Абс.		%		Абс.		%	
	п/н	л/н	п/н	л/н	п/н	л/н	п/н	л/н	п/н	л/н	п/н	л/н
<i>Вибрационная</i>												
норма	20	16	31,7	25,4	9	12	10,6	14,1	29	28	19,6	18,9
повышена	25	34	39,7	53,9	46	47	54,1	55,3	71	81	48,0	54,7
снижена	18	13	28,6	20,6	30	26	35,3	30,6	48	39	32,4	26,4
<i>Тактильная</i>												
норма	54	59	85,7	93,6	82	82	96,5	96,5	136	141	91,9	95,3
снижена	3	3	4,8	4,8	3	3	3,5	3,5	6	6	4,1	4,1
отсутствует	6	1	9,5	1,6	0	0	0	0	6	1	4,0	0,6
<i>Температурная</i>												
норма	39	36	61,9	57,1	47	38	55,3	44,7	86	74	58,1	50,0
ослаблена	13	18	20,6	28,6	19	25	22,4	29,4	32	43	21,6	29,1
отсутствует	11	9	17,5	14,3	19	22	22,4	25,9	30	31	20,3	20,9
<i>Болевая</i>												
норма	42	40	66,7	63,5	49	48	57,6	56,5	91	88	61,5	59,4
ослаблена	19	18	30,1	28,6	31	32	36,5	37,6	50	50	33,8	33,8
отсутствует	2	5	3,2	7,9	5	5	5,9	5,9	7	10	4,7	6,8
<i>Лодыжечно-плечевой индекс</i>												
норма	57	54	90,5	85,7	73	73	85,9	85,9	130	127	87,8	85,8
повышен	6	9	9,5	14,3	6	6	7,1	7,1	12	15	8,1	10,1
понижен	0	0	0	0	6	6	7,1	7,1	6	6	4,1	4,1

п/н – правая нога, л/н – левая нога

Нормальные показатели вибрационной чувствительности чаще отмечали у пациентов с СД 1 типа – 25-31%, а с СД 2 типа – только у 10-14%. Повышение вибрационной чувствительности у больных с СД 1 типа имело место чаще на левой стопе. У пациентов с диабетом 1 типа подобной разницы между правой и левой стопой не зарегистрировали. При наличии СД 2 типа снижение вибрационной чувствительности выявили в 30-35% случаев, что было чаще, чем у больных с СД 1 типа – 20-28%. Тактильная чувствительность у большинства обследованных лиц была в пределах нормы. Нормальные показатели температурной чувствительности наблюдали у 57-62% пациентов при СД 1 типа и у 44-55% – при СД 2 типа. Отсутствие температурной чувствительности установили у 22% больных с СД 2 типа на правой стопе

и у 26% – на левой; ослабление болевой чувствительности – у 30% с СД 1 типа и у 36-38% – с СД 2 типа. От 3 до 8% пациентов с СД 1 и 2 типов имели полное отсутствие болевой чувствительности. Изменение лодыжечно-плечевого индекса отмечали у 10-15% среди всех обследованных лиц, при этом его повышение чаще было у пациентов с СД 1 типа, а понижение, наоборот, с СД 2 типа.

Всем обследованным пациентам проводили микроскопическое и культуральное исследования. Чаще всего (77,7-83,3%) микроскопические грибы обнаруживали у пациентов с микозом и онихомикозом стоп и СД 1 типа. У лиц с СД 2 типа микроскопическая диагностика была менее эффективна – 70-74% (табл. 6).

Таблица 6

Результаты микологического исследования у больных с микозом и онихомикозом стоп на фоне сахарного диабета

Результаты микологического исследования	Микоз стоп (n=127)				Онихомикоз стоп (n=127)			
	СД 1 (n=54)		СД 2 (n=73)		СД 1 (n=54)		СД 2 (n=73)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Микроскопия +	45	83,3±5,08	54	74,0±5,13	42	77,7±5,66	51	69,9±5,37
Посев +								
<i>Trichophyton rubrum</i>	20	37,0±6,57	18	24,7±5,05	23	42,6±6,73	17	23,3±4,95
<i>T. mentagrophytes</i>	0	0	3	4,1±5,76	0	0	3	4,1±2,32
<i>Trichophyton</i> spp.	0	0	5	6,8±2,95	0	0	2	2,7±1,9
<i>Candida albicans</i>	3	5,6±3,13	9	12,3±3,84	6	11,1±4,27	9	12,3±3,84
не- <i>albicans</i> виды <i>Candida</i>	7	13,0±4,58	0	0	6	11,1±4,27	0	0
<i>Aspergillus</i> spp.	4	7,4±3,56	0	0	4	7,4±3,56	3	4,1±2,32
не- <i>albicans</i> виды <i>Candida</i> + <i>Asperg.</i> spp	2	3,7±2,57	0	0	2	3,7±2,57	0	0
<i>C. albicans</i> + <i>T. rubrum</i>	4	7,4±3,56	1	1,7±1,51	4	7,4±3,56	0	0
не- <i>albicans</i> виды <i>Candida</i> + <i>T. rubrum</i>	0	0	1	1,7±1,51	0	0	2	2,7±1,9
Посев -	14	25,9±5,96	36	49,3±8,85	11	20,4±5,48	39	53,4±5,84

(X±m) ошибка выборочного обследования

При диагностике микоза и онихомикоза стоп отрицательные результаты культурального исследования получили у 20-26% больных СД 1 типа и у 49-53% – с СД 2 типа, т.е. эффективность культуральной диагностики у лиц, страдающих 2 типом основного заболевания, оказалась ниже. *T. rubrum* был основной причиной грибкового поражения кожи и ногтей пластинок стоп в обеих группах. У 13% больных с 1 типом диабета поражение кожи стоп вызвано не-*albicans* видами *Candida*. В данной группе *C. albicans* выявляли почти в 6% случаев и более чем в 10% – *Candida* spp. в сочетании в посеве с *T. rubrum* или *Aspergillus* spp. У пациентов с диабетом 2 типа при культуральном исследовании, помимо *T. rubrum*, получен рост *T. mentagrophytes* (4,1%) и *Trichophyton* spp. (6,8%). В данной группе при диагностике микоза стоп на долю *Trichophyton* spp. приходилось почти 36%. Не-*albicans* виды *Candida* причиной микоза стоп при СД 2 типа не являлись. Данные грибы, также как и *C. albicans*, в посеве сочетались с ростом *T. rubrum* в 1,7% исследований (Рис. 6, 7).

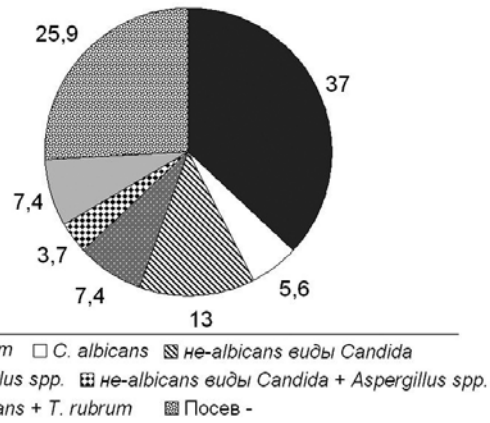


Рис. 6. Этиология микоза стоп у больных СД 1 типа (%)

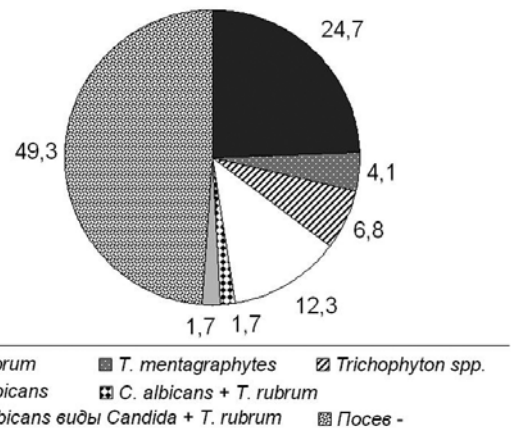


Рис. 7. Этиология микоза стоп у больных СД 2 типа (%)

Этиология онихомикоза стоп при СД 1 типа в 43% была связана с *T. rubrum*, при СД 2 *Trichophyton* spp. высевали изолированно в 30% исследований и в сочетании с не-*albicans* видами *Candida* – в 2,7%. Кандидозное поражение ногтей пластинок стоп у пациентов с СД 1 типа наблюдали в 22%, при этом *albicans* и не-*albicans* виды обнаруживали одинаково часто. *Aspergillus* spp. поражали ногтевые пластинки стоп в 7,4% случаев у больных с СД 1 типа и в 12,3% – с СД 2 типа. При СД 1 типа в 3,7% случаев рост *Aspergillus* spp. сочетался с ростом не-*albicans* видов *Candida* (Рис. 8, 9).

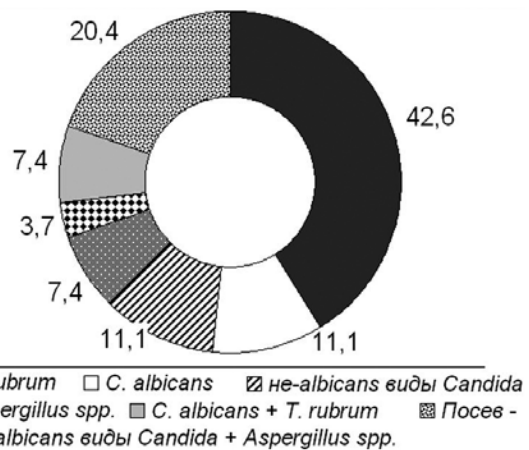


Рис. 8. Этиология онихомикоза стоп у больных СД 1 типа (%)

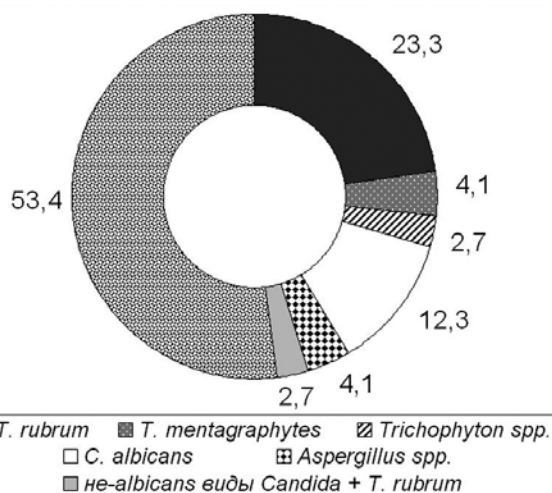


Рис. 9. Этиология онихомикоза стоп у больных СД 2 типа (%)

Онихомикоз кистей у двух больных с СД 2 типа был обусловлен *T. rubrum* и у одного – *C. albicans*. У трех пациентов с СД 2 типа и поражением гладкой кожи грибковое заболевание было подтверждено только микроскопическим методом исследования, рост грибов при этом не получен. В случае поражения паховых складок у одного пациента отмечали рост не-*albicans* видов *Candida* в сочетании с *T. rubrum*. При поражении складок под молочными железами у трех пациенток причиной заболевания были *C. albicans*.

В зависимости от этиологии онихомикоза, наличия сопутствующих соматических заболеваний и противопоказаний к назначению системного противогрибкового лечения, использовали методы наружной терапии или применяли один из системных антимикотиков – тербинафин, итраконазол или флуконазол (табл. 7).

Таблица 7

Применение системных противогрибковых препаратов у пациентов с онихомикозом стоп на фоне СД

Системный антимикотик	Число больных (n=127)					
	СД 1 типа (n=54)		СД 2 типа (n=73)		Всего (n=127)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Тербинафин	24	44,4	21	28,8	45	35,4
Итраконазол	3	5,6	25	34,2	28	22,0
Флуконазол	6	11,1	6	8,2	12	9,5
Нет системной терапии	21	38,9	21	28,8	42	33,1

Большинство больных получало системно тербинафин – 44% с СД 1 типа и 29% – с СД 2 типа. Итраконазол для лечения онихомикоза чаще назначали лицам, страдающим СД 2 типа (34%), флуконазол, напротив, был препаратом выбора при СД 1 типа (более 11%). В среднем, около трети пациентов не получали системных противогрибковых препаратов и использовали только местные методы лечения.

Предварительные результаты терапии оценивали на 24 неделе наблюдения. В случае отсутствия микологического выздоровления к этому периоду, больным назначали дополнительный курс системных антимикотиков с использованием тербинафина и

итраконазола или продолжали непрерывное лечение в случае применения флуконазола (табл.8).

Таблица 8

Результаты лечения онихомикоза стоп у пациентов с СД в зависимости от вида системной противогрибковой терапии

	24 недели		72 недели					
	миколог-ое		миколог-ое		клиническое		полное	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Тербинафин (n=45)								
СД 1 (n=24)	17	70,8	18	75,0	17	70,8	15	62,5
СД 2 (n=21)	14	66,7	18	85,7	18	85,7	17	81,0
Всего	31	68,9	36	80,0	35	77,8	32	71,1
Итраконазол (n=28)								
СД 1 (n=3)	3	100,0	3	100,0	2	66,7	2	66,7
СД 2 (n=25)	11	44,0	16	64,0	17	68,0	14	56,0
Всего	14	50,0	19	67,9	19	67,9	16	57,1
Флуконазол (n=12)								
СД 1 (n=6)	5	83,3	5	83,3	5	83,3	5	83,3
СД 2 (n=6)	3	50,0	4	66,7	1	16,7	1	16,7
Всего	8	66,7	9	75,0	6	50,0	6	50,0
Нет системной терапии (n=42)								
СД 1 (n=21)	13	61,9	11	52,4	10	47,6	9	42,9
СД 2 (n=21)	15	71,4	7	33,3	6	28,6	5	23,8
Всего	28	66,7	18	42,9	16	38,1	14	33,3

(Для проверки гипотез использовали статистический критерий хи-квадрат МакНемара)

Микологическое выздоровление на 24 неделе исследования отмечали при применении итраконазола: у 100% больных – с СД 1 типа и у 44% – с СД 2 типа; тербинафина: в среднем, у 69% в обеих группах; флуконазола: у 83% – с СД 1 типа и 50% – с СД 2 типа; при использовании только наружных методов терапии – у 62-68%. При этом местное лечение назначали только пациентам с легкими формами онихомикоза (поражение менее 1/3 ногтевой пластинки и менее 3 ногтевых пластинок на обеих стопах) или с наличием противопоказаний к системной терапии (P<0,01), (Рис. 10).

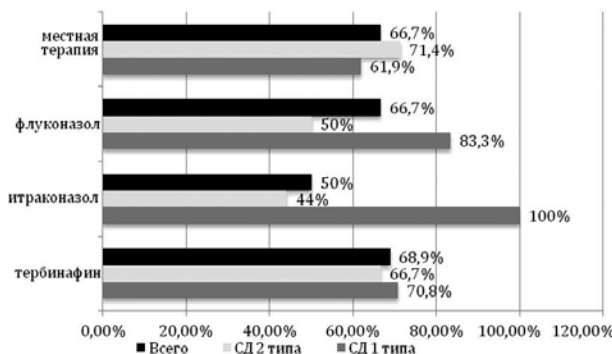


Рис. 10. Микологическое выздоровление на 24 неделе наблюдения

У 57% больных с СД 1 и у 51% – с СД 2 типа зарегистрировали полное выздоровление; при приеме тербинафина: у 28% – с СД 1 типа и у 23% – с СД 2 типа (P < 0,005). Итраконазол был наиболее востребован и эффективен среди пациентов с СД 2 типа, а флуконазол – с СД 1 типа. Местная терапия также была наиболее результативна в случае СД 1 типа (P < 0,01). 46% пациентов среди всех обследованных не достигли полного выздоровления или имели реци-

див заболевания (Рис. 11).

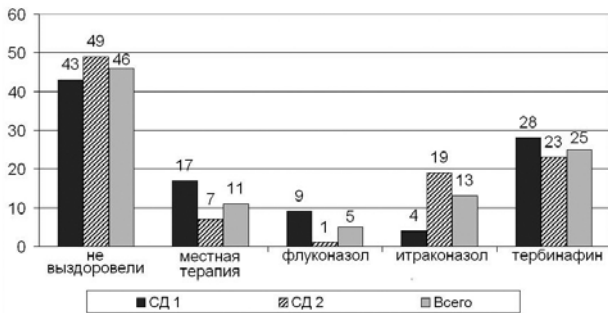


Рис. 11. Результаты лечения (%) ониомикоза стоп в зависимости от вида СД (72 недели)

Вид возбудителя ониомикоза стоп у пациентов существенно влиял на эффективность проводимого лечения. К 72 неделе исследования максимальная эффективность терапии была достигнута при поражении ногтевых пластинок грибами-дерматомицетами – 72%. При наличии кандидозных ониомикозов терапия оказалась успешной у 38% больных, при отрицательных результатах культурального исследования – у 48%. Наиболее неблагоприятно ситуация складывалась при плесневых ониомикозах. Отметим, что на промежуточном этапе наблюдения (24 недели) процент с микологическим выздоровлением у больных с неидентифицированной культурой грибов или в случае дрожжевого поражения ногтевых пластинок был выше, чем к 72 неделе. В данных случаях мы часто сталкивались с рецидивом ониомикоза.

Таблица 9

Результаты лечения ониомикоза стоп на фоне СД в зависимости от этиологии заболевания

Возбудители ониомикоза	24 недели	72 недели	
	микологическое	микологическое	полное
Дерматомицеты	35 (70,8±6,6%)	40 (80±5,7%)	36 (72±6,4%)
Недерматомицетные плесени	0	1 (9,1±8,6%)	1 (9,1±8,6%)
<i>Candida spp.</i>	11 (42,3±9,7%)	14 (53,8±9,8%)	10 (38,5±9,5%)
Культура не получена	36 (72±6,4%)	30 (60,0±9,8%)	24 (48,0±7,1%)
Всего	80 (63±4,3%)	82 (64,6±4,2%)	68 (53,5±4,4%)

(X±m) ошибка выборочного обследования

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования установили наличие различий в эпидемиологии, этиологии и эффективности лечения дерматомикозов у больных с разными типами сахарного диабета. У пациентов с СД 1 типа дерматомикозы часто возникают в молодом возрасте – от 31 до 50 лет, в то время как при СД 2 свойственно как более позднее начало самого диабета, так и развитие поверхностных грибковых инфекций в пожилом возрасте. Возникновение дерматомикозов чаще наблюдали при длительности основного заболевания более 10 лет, вне зависимости от типа диабета, тем не менее, у значительного количества пациентов с СД 1 типа поверхностные грибковые инфекции имели более раннее начало.

При исследовании характера и условий прожи-

вания пациентов выявили, что больные дерматомикозами и СД 1 типа чаще являются городскими жителями, проживающими в благоустроенных квартирах или домах и имеющими семью. Лица с СД 2 типа и дерматомикозами, напротив, чаще проживали в сельской местности, реже имели благоустроенное жилье и чаще были одинокими. Более половины больных с СД 1 и четверть – с СД 2 имели рабочие профессии с тяжелыми условиями труда. Служащие и интеллигенция, в среднем, составили чуть более 20%, что подтверждает невысокий уровень общей и санитарной грамотности в целом среди обследованного населения. Таким образом, предрасполагающие условия для возникновения дерматомикозов в обеих группах имели общие профессиональные и образовательные черты и характеризовались разными социально-бытовыми условиями.

Наиболее распространенной соматической патологией в двух группах были сердечно-сосудистые заболевания, с высокой частотой диагностировали болезни опорно-двигательной и нервной систем, желудочно-кишечного тракта. Лица с СД 1 типа страдали вышперечисленной патологией реже, чем с СД 2 типа, тем не менее, основные тенденции по распространенности сопутствующих соматических заболеваний сохранялись и в этой группе.

Самыми распространенными заболеваниями в обеих группах пациентов были микоз и ониомикоз стоп. Клиническая картина микоза стоп с эритематозно-сквамозными и гиперкератотическими проявлениями превалировала у лиц с СД 1 типа. Дисгидротическую и интертригинозную формы данного заболевания чаще наблюдали при СД 2 типа. Тяжелые формы ониомикоза стоп с поражением более трех ногтевых пластинок достоверно чаще обнаруживали у больных с СД 2 типа, а поражение одной ногтевой пластинки (на правой стопе) – с СД 1 типа. Преимущественное поражение трех и более ногтевых пластинок стоп в группе с СД 2 типа коррелировало с тяжелыми неврологическими изменениями и изменением лодыжечно-плечевого индекса на нижних конечностях у этой категории больных.

Этиология микоза стоп, в том числе – сопровождающегося поражением ногтевых пластинок, менее чем в половине случаев, была связана с грибами-дерматомицетами. Не-*albicans* виды *Candida* и *Aspergillus spp.* чаще выделяли у пациентов с СД 1 типа, а *C. albicans* – с СД 2 типа. При этом у лиц с вторым типом основного заболевания имела место низкая чувствительность при культуральной диагностике.

При изучении результатов применения антимикотических препаратов выявили, что в группе больных СД 1 типа наиболее эффективным было использование флуконазола для лечения инфекции ногтевых пластин, вызванной *C. albicans*. В остальных ситуациях вид системных антимикотических препаратов существенно не влиял на эффективность терапии, которая достигала, в среднем, 65%. У пациентов с СД

2 типа при назначении тербинафина в случае дерматомицетных онихомикозов эффективность лечения была наиболее высокой. В среднем, по обеим группам терапия тербинафином также была наиболее эффективной ($P < 0,005$).

ВЫВОДЫ

1. В структуре дерматомикозов у пациентов с сахарным диабетом преобладают микоз и онихомикоз стоп.

2. Социально-значимые характеристики и predisposing факторы у больных с СД 1 и 2 типов имеют свои отличия.

3. Для больных дерматомикозами на фоне сахарного диабета обоих типов характерны тяжелые условия труда и невысокий уровень общей и санитарной грамотности.

4. Сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания наиболее распространены в обеих группах па-

циентов с СД и дерматомикозами.

5. У пациентов с СД и микозом стоп, в том числе – с поражением ногтевых пластинок, дерматомицеты являются причиной заболевания менее чем в половине случаев.

6. Эффективность лечения онихомикоза стоп у больных с СД зависит от этиологии заболевания и выбора системного противогрибкового препарата. В среднем, терапия была успешной у 54% обследованных лиц.

7. При лечении пациентов с дерматомикозами и сахарным диабетом необходимо учитывать социальные факторы, общее состояние здоровья и сопутствующие заболевания, а также высокую вероятность возникновения ранних рецидивов в случае повторного инфицирования, недостаточного по продолжительности или нерационального курса терапии, или декомпенсации основного заболевания.

ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Леуценко В.М.* Современные антимикотики в дерматологии // *Consilium Medicum*. – 2004. – Т. 6, №3. – С. 186-191.
2. *Hay R.J., Ashbee H.R.* Mycology. Rook's Textbook of Dermatology / eds. T. Burns, S. Breathnach, N. Cox, C. Griffiths. 8th ed. – Wiley-Blackwell, 2010. – Vol. 2. – P. 36.10-36.12.
3. *Blanka H., Czaika V., Friedrich M.* Epidemiological trends in skin mycoses worldwide // *Mycoses*. – 2008. – Vol. 51, №4. – P. 2-15.
4. *Хисматуллина И.М.* Микоз стоп: рационализация терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 20 с.
5. *Корнишева В.Г., Соколова Г.А., Борисова О.А., Белова С.Г.* Микозы стоп у больных сахарным диабетом второго типа. – СПб.: Фолиант, 2009. – 232 с.
6. *Winston J.A., Miller J.L.* Treatment of onychomycosis in diabetic patients // *Clin. Diabetes*. – 2006. – Vol. 24, Is. 4. – P. 160.
7. *Romano C., Massai L., Acta F., Signorini A.M.* Prevalence of dermatophytic skin and nail infection in diabetic patients // *Mycoses*. – 2001. – Vol. 44, №3-4. – P. 83-86.
8. *Khurshid A., Zardad M., Ifikhar Q.* Prevalence of cutaneous manifestations of diabetes mellitus // *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad*. – 2009. – Vol. 21, №2. – P. 76-79.
9. *Foss N.T., Polon D.P., Takada M.H., et al.* Skin lesions in diabetic patients // *Rev. Saude. Publica*. – 2005. – Vol. 39, №4. – P. 677-682.

Поступила в редакцию журнала 01.09.2014

Рецензент: Т.В. Медведева



ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СИСТЕМА ПОДДЕРЖКИ ПРИНЯТИЯ ВРАЧЕБНЫХ РЕШЕНИЙ В ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ

Раводин Р.А. (старший преподаватель кафедры)*

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (кафедра кожных и венерических болезней), Санкт-Петербург, Россия

© Раводин Р.А., 2014

В статье рассмотрены интеллектуальные системы в медицине; особое внимание уделено особенностям разработки интеллектуальной системы поддержки врачебных решений в дерматовенерологии.

Ключевые слова: дерматовенерология, интеллектуальные системы, медицина

INTELLECTUAL SYSTEM TO SUPPORT MEDICAL DECISIONS IN DERMATOVENEREOLOGY

Ravodin R.A. (senior lecturer of the chair)

S.M. Kirov Military Medical Academy (Chair of Skin and Venereal Diseases), St. Petersburg, Russia

© Ravodin R.A., 2014

The intellectual systems in medicine have been reviewed in the article; particular attention is paid to the principles of intellectual system developing to support for medical decisions in dermatovenereology.

Key words: dermatovenereology, intelligent systems, medicine

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время повсеместно в систему здравоохранения внедряют современные информационные и коммуникационные технологии (e-Health). Расходы на их разработку и внедрение в странах ЕС составляют около 4,7% от бюджета здравоохранения [1]. Модернизацию отечественного здравоохранения осуществляют в соответствии с разработанной и утвержденной Правительством Российской Федерации концепцией создания единой государственной информационной системы, обеспечивающей доступность медицинской помощи и повышение эффективности медицинских услуг, объемы, виды и качество которых должны соответствовать уровню заболеваемости и потребностям населения, а также передовым достижениям медицинской науки и техники [2]. Значительная территориальная протяженность Российской Федерации с множеством отдаленных местностей, неравномерность распределения населения и квалифицированных врачей с их преимущественной концентрацией в крупных городах, разный социально-экономический уровень развития регионов, а также нарушение преемственности в системе профессиональной подготовки молодых специалистов создают определённые трудности для реализации этой концепции. В этих условиях одним из перспективных направлений повышения качества медицинской помощи больным дерматовенерического профиля, отвечающим современным требованиям, является создание лечебно-диагностических интеллектуальных систем поддержки принятия решений (ИСППР), а также развитие на их базе телемедицинских технологий. Широкое внедрение таких интеллектуальных систем может существенно повысить качество диагностической работы рядовых врачей-дерматовенерологов и, в целом, отразиться на эффективности деятельности лечебных учреждений. В этом случае медицинские работники смогут не только получать необходимую консультативную помощь в трудных клинических случаях, но и дистанционно повышать свою квалификацию.

ИСППР имитируют на компьютере мышление человека и предлагают выводы и логические рассуждения, осуществляемые с помощью специального программного средства, именуемого системой и основанного на знаниях экспертов в конкретной предметной области [Левин Р. и др. Практическое введение в технологию искусственного интеллекта и экспертных систем с иллюстрациями на Бейсике. – М., 1990]. Интеллектуальные системы поддержки принятия решений находят всё большее практическое применение в силу ряда преимуществ перед интеллектуальной деятельностью человека. К числу таких преимуществ можно отнести: невысокую стоимость (в сравнении со стоимостью работы высококлассного специалиста) при достаточно высоком уровне компетентности, беспристрастность, легкую воспроизводимость результатов (помехоустойчивость),

* Контактное лицо: Раводин Роман Анатольевич, e-mail: rracad@mail.ru

алгоритмирование принятия решения и его обоснование (обучаемость), постоянно высокий профессиональный уровень (уровень знаний в интеллектуальной системе не снижается, в то время как специалисту постоянно необходимо «быть в форме») [3-5]. ИСППР предназначены для поддержки многокритериальных решений в сложной информационной среде [3, 6]. Наиболее часто с такими проблемами приходится сталкиваться в медицине, что связано:

1) с обилием часто встречающихся заболеваний, но с атипичными симптомами;

2) наличием симптомов-миражей (которые связывают с определенной патологией, тогда как, на самом деле, они могут не иметь к ней никакого отношения), и болезней-хамелеонов (заболеваний, маскирующихся под другую патологию);

3) наличием редких заболеваний [Ригельман Р. Как избежать врачебных ошибок. – М., 1994].

В качестве успешных примеров использования таких систем в медицине можно привести экспертную систему по диагностике и лечению заболеваний предстательной железы, интеллектуальную систему прогнозирования риска развития желчнокаменной болезни у людей с избыточной массой тела, интеллектуальную систему для диагностики гиппокампального склероза, экспертную систему для прогнозирования инсультов, диагностическую и обучающую экспертную систему в дерматогистопатологии [7-9; Лукьянов И.В. Автореф. дис....к.м.н. – М, 2001; Барбинов В.В. Автореф. дис....д.м.н. – СПб., 1998].

В то же время необходимо отметить, что интеллектуальную поддержку в принятии врачебных решений используют уже давно и к ранним, традиционно применяемым её формам, относят медицинские энциклопедии, справочники, монографии и другую медицинскую литературу. Однако отмечаемый за последнее время лавинообразный рост знаний по многим отраслям медицины, появление новых лекарственных препаратов, а также возникновение совершенно новых медицинских специальностей (иммунологии, аллергологии и ряда других) приводят к информационному коллапсу, справиться с которым практикующий врач с помощью стандартных справочных средств не в состоянии. Становится очевидным, что перевод справочной литературы в электронную форму (даже при условии своевременного обновления и пополнения данных) также не сможет полностью обеспечить решение этой проблемы. При складывающейся ситуации необходимы разработки интеллектуальных систем, способных оказать поддержку врачу в интерпретации клинических и лабораторных данных и назначении наиболее адекватного лечения больного. Представляется необходимым разработать интеллектуальную систему поддержки принятия врачебных решений ИСППР в дерматовенерологии.

Цель работы – разработать лечебно-диагностическую интеллектуальную систему поддержки принятия решений в частном разделе медицины – дер-

матовенерологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Разрабатываемая лечебно-диагностическая ИСППР предназначена для помощи практикующим врачам в диагностике и лечении заболеваний кожи, слизистых оболочек, поражений ногтей и волос. Она должна базироваться на основе онтологии, содержащей следующие классы: 1) возраст начала заболевания; 2) пол; 3) жалобы; 4) данные о начале заболевания; 5) появление (обострение) высыпаний под воздействием провоцирующих факторов; 6) локализация начальных высыпаний; 7) длительность заболевания; 8) течение заболевания; 8) сведения о сопутствующих заболеваниях; 9) данные об отягощенном аллергологическом анамнезе; 10) указания на отягощенную наследственность; 11) указания на наличие взаимосвязи заболевания с вредными привычками; 12) характеристику изменений кожи за пределами очагов поражения; 13) описание симптомов на неизменной коже; 14) характеристику изменений чувствительности кожи в очаге поражения; 15) особенности расположения сыпи; 16) локализация сыпи; 17) взаимное расположение элементов сыпи; 18) характеристика элементов кожной сыпи; 19) характеристика элементов сыпи на слизистых оболочках; 20) описание изменений придатков кожи (волос и ногтей). Перечисленные классы формируют формализованное описание дерматовенерологического больного, являясь фактически электронной историей болезни, а столь детальная проработка отдельных её разделов (всего проанализировано 2467 признаков) связана со спецификой предметной области и призвана учесть всё возможное разнообразие встречающихся жалоб, анамнестических указаний (особенностей развития заболевания), локализаций высыпаний и клинической картины наиболее часто встречающихся дерматовенерологических заболеваний (порядка 250). Для описания кожных и венерических болезней при составлении онтологии мы использовали признанные руководства по дерматовенерологии последних изданий [10, 11]. В ходе описания каждого заболевания все его симптомы мы подразделяли на три категории: «высокоспецифичные», «среднеспецифичные» и «низкоспецифичные». Под «высокоспецифичными» подразумевали симптомы, наиболее характерные для данного заболевания (патогномоничные) и/или встречающиеся практически всегда при этом заболевании; под «среднеспецифичными» – симптомы, которые могут быть при данном заболевании, но в ряде случаев могут отсутствовать; под «низкоспецифичными» – симптомы, нехарактерные для данной патологии [12]. При разработке ИСППР использовали программу 1С-Битрикс: Управление сайтом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе работы мы ограничили максимальную вероятность заболевания 80%. Это было сделано на-

меренно, чтобы исключить излишнюю самоуверенность практикующих врачей, работающих с данной системой. При этом нами был разработан следующий алгоритм вычисления вероятности заболевания:

Вероятность заболевания = $W = K_2$, вес высокоспецифичный * $W_1 + K_2$, вес среднеспецифичный * $W_2 + K_2$, вес низкоспецифичный * W_3 ,

где K_2 вес высокоспецифичный = вес (значимость относительно симптомов другой специфичности) высокоспецифичных симптомов;

K_2 вес среднеспецифичный = вес (значимость относительно симптомов другой специфичности) среднеспецифичных симптомов;

K_2 вес низкоспецифичный = вес (значимость относительно симптомов другой специфичности) низкоспецифичных симптомов;

K_2 вес высокоспецифичный + K_2 вес среднеспецифичный + K_2 вес низкоспецифичный = 0,8 (это максимальная вероятность заболевания = 80%);

W_1, W_2, W_3 – вероятности заболеваний по высоко-, средне-, низкоспецифичным симптомам. Вероятности зависят от специфичности и выбранных симптомов и рассчитываются математически.

В ходе создания ИСППР мы разработали несколько модулей: диагностика, атлас и рекомендации (последний модуль включает в себя рекомендации по обследованию и лечению, соответствующие национальным стандартам). Модуль «атлас» представля-

ет собой формализованное описание заболевания с возможностью просмотра фотографий без информации об обследовании и лечении.

Модуль «диагностика» включает разделы, описывающие пациента и соответствующие основным подразделам истории болезни. Наименования разделов соответствуют 20 классам онтологии, разработанной нами ранее, при этом часть из этих разделов носит обязательный характер для заполнения пользователем, а часть – необязательный (однако их включение способствует увеличению точности диагностики). Обязательными разделами для заполнения являются все разделы, описывающие сыпь (тип сыпи на коже, тип сыпи на слизистых оболочках, изменения волос и ногтей, особенности расположения сыпи, взаимное расположение элементов сыпи, локализация сыпи, локализация начальных высыпаний, пол, возраст начала заболевания, жалобы, начало заболевания, длительность, течение заболевания).

Раздел модуля диагностика «тип сыпи на коже» включает следующие подразделы: пятно, папула, волдырь, бугорок, узел, пузырь, пузырек, гнойничок, чешуйка, корка, струп, эксфолиация, эрозия, трещина, язва, рубец, вегетация, лихенификация, кератоз, дерматосклероз, атрофодермия, атрофия, пойкилодермия, анетодермия (Рис. 1).

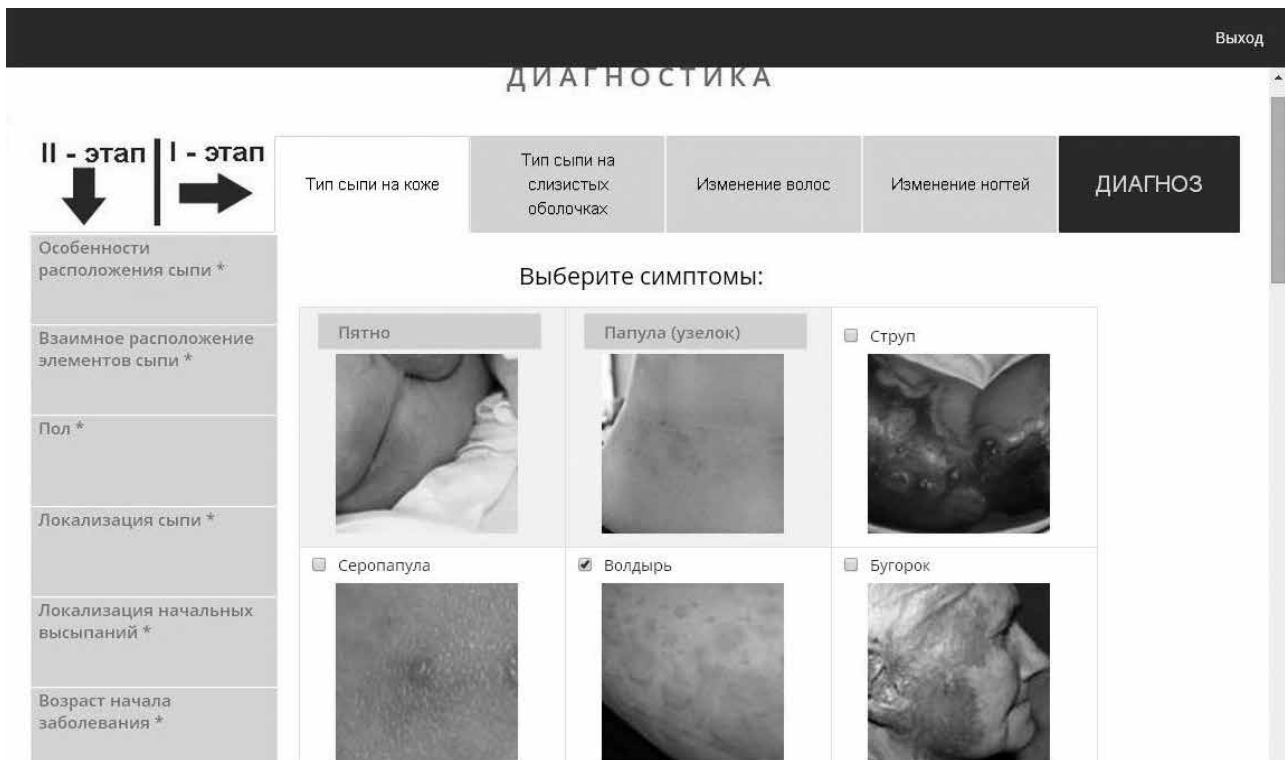


Рис. 1. Раздел «Тип сыпи на коже»

Раздел модуля диагностика «тип сыпи на слизистых оболочках» включает следующие подразделы: пятно, папула, бугорок, узел, пузырь, пузырек, чешуйка, корка, налёт, эрозия, трещина, язва, рубец, вегетация, лихенификация, склероз, атрофия (Рис 2).

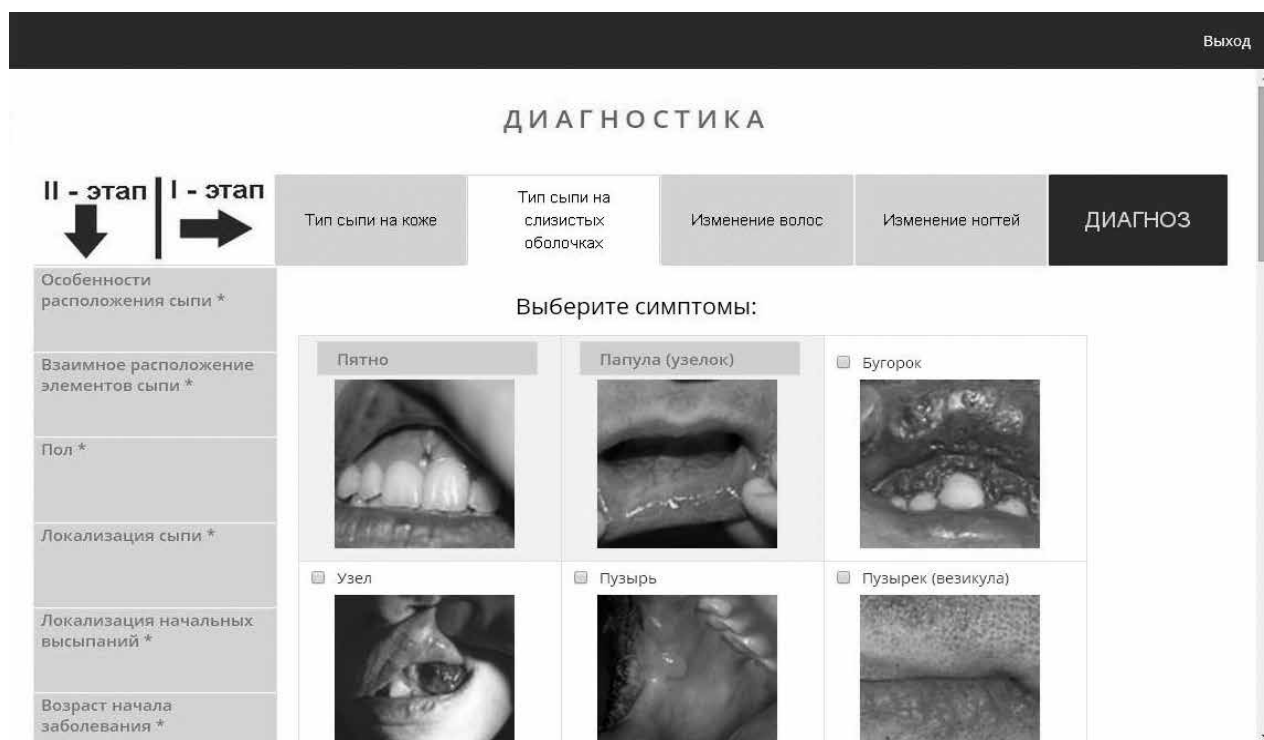


Рис 2. Раздел «Слизистые оболочки»

Разделы модуля диагностика «изменения волос» и «изменения ногтей» описывают возможные поражения волос и ногтей (Рис. 3-5).

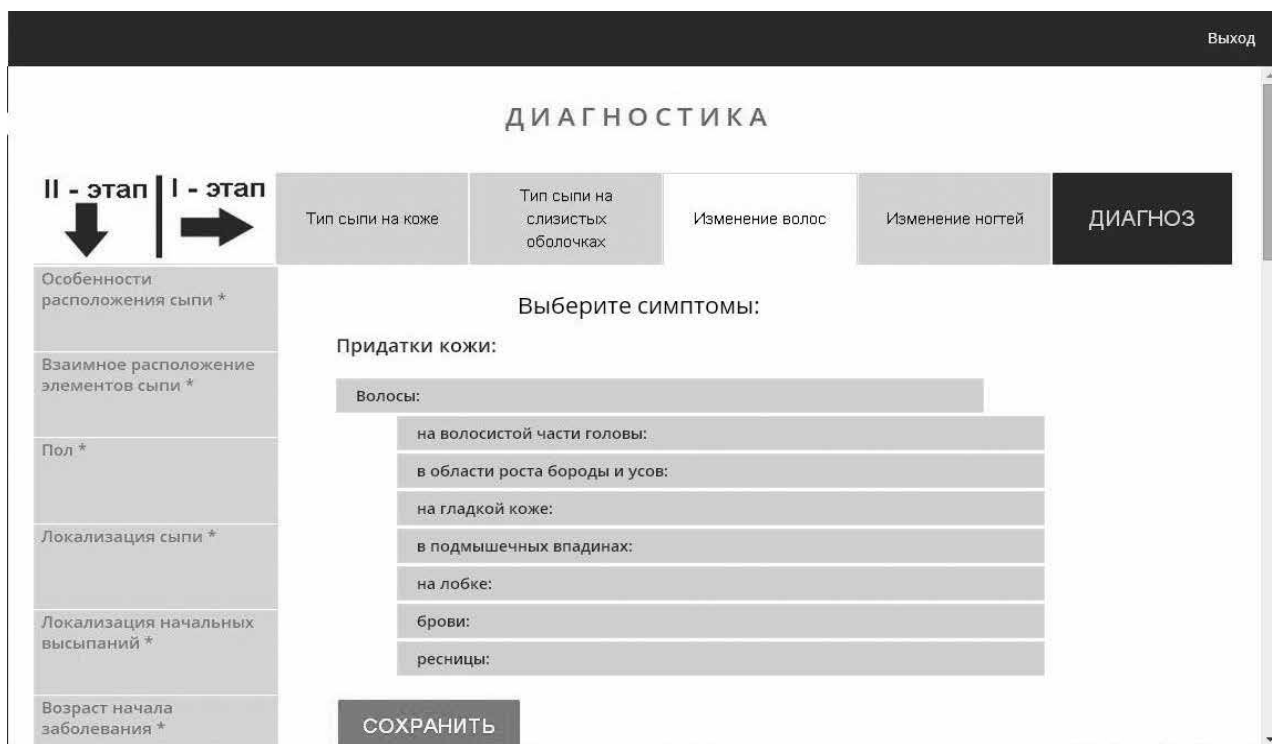


Рис. 3. Раздел «Изменения волос»

ДИАГНОСТИКА

II - этап |
 I - этап

Тип сыпи на коже |
 Тип сыпи на слизистых оболочках |
 Изменение волос |
 Изменение ногтей |
 ДИАГНОЗ

Особенности расположения сыпи*

Взаимное расположение элементов сыпи*

Пол*

Локализация сыпи*

Локализация начальных высыпаний*

Возраст начала заболевания*

Жалобы*

Выберите симптомы:

Придатки кожи:

Волосы:

на волосистой части головы:

не изменены

изменены:

обламываются на высоте 1-2 мм над уровнем кожи с образованием мелких округлых плешинок



обламываются на высоте 5-8 мм над уровнем кожи с образованием округлых очагов поражения белого цвета.



выпадают или выпали без образования рубцовой атрофии (нормальный рисунок кожи в очаге выпадения волос сохранен) :

выпадают или выпали с образованием рубцовой атрофии (нормальный рисунок кожи в очаге выпадения волос утрачен) :

Рис. 4. Раздел «Изменения волос»

Выход

ДИАГНОСТИКА

II - этап |
 I - этап

Тип сыпи на коже |
 Тип сыпи на слизистых оболочках |
 Изменение волос |
 Изменение ногтей |
 ДИАГНОЗ

Особенности расположения сыпи *

Взаимное расположение элементов сыпи *

Пол *

Локализация сыпи *

Локализация начальных высыпаний *

Выберите симптомы:

Придатки кожи:

Ногтевые пластинки:

не изменены

изменены:

локализация поражения:

цвет ногтя:

форма ногтевой пластинки:

поверхность:

толщина ногтевой пластинки:

Рис. 5. Раздел «Изменения ногтей»

Продемонстрируем работу разработанной интеллектуальной системы поддержки принятия решений на примере пациентки Н. с таким заболеванием, как поверхностный трихомикоз (трихофития) волосистой части головы. Выбираем тип сыпи на коже (в данном случае на коже волосистой части головы) – сравниваем имеющиеся высыпания с представленными на фотографиях, останавливаемся на воспалительном пятне и отрубевидных чешуйках (шелушении), которые имеются на его поверхности. Слизистые оболочки при трихофитии не поражаются. Волосы при поверхностной трихофитии волосистой части головы обламываются на высоте 1-2 мм

над уровнем волосяного фолликула, образуя очаг поредения волос округлой формы до 2 см в диаметре. Ногтевые пластинки не изменены. Выбираем особенности расположения сыпи – у пациентки сыпь локализованная (поражает не более одной анатомической области), асимметричная. Взаимное расположение элементов сыпи – высыпания представлены одиночным элементом (в данном случае – воспалительным незначительно шелушащимся пятном). Пол – женский. У нашей больной высыпания располагаются только на волосистой части головы, там же возникли начальные высыпания. Возраст начала болезни – 23 года (высыпания беспокоят последние 2 ме-

ДИАГНОСТИКА																														
II - этап	I - этап	Тип сыпи на коже	Тип сыпи на слизистых оболочках	Изменение волос	Изменение ногтей	ДИАГНОЗ																								
Особенности расположения сыпи*	Результаты диагностики																													
Взаимное расположение элементов сыпи*	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Наименование заболевания</th> <th>Вероятность</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Поверхностная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)</td> <td>57.62%</td> </tr> <tr> <td>Поверхностная микроспория волосистой части головы (Подробнее о заболевании)</td> <td>49.23%</td> </tr> <tr> <td>Инфильтративно-нагноительная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)</td> <td>35.04%</td> </tr> <tr> <td>Лишай белый (Подробнее о заболевании)</td> <td>34.92%</td> </tr> <tr> <td>Розовый лишай (Подробнее о заболевании)</td> <td>29.17%</td> </tr> <tr> <td>Поверхностная трихофития (микроспория) гладкой кожи (Подробнее о заболевании)</td> <td>29.13%</td> </tr> <tr> <td>Хромомикоз (Подробнее о заболевании)</td> <td>28.9%</td> </tr> <tr> <td>Инфильтративно-нагноительная трихофития области бороды и усов (Подробнее о заболевании)</td> <td>25.43%</td> </tr> <tr> <td>Актиномикоз (Подробнее о заболевании)</td> <td>22.77%</td> </tr> <tr> <td>Сикоз вульгарный (Подробнее о заболевании)</td> <td>22.13%</td> </tr> <tr> <td>Фурункул (фурункулез) (Подробнее о заболевании)</td> <td>22.03%</td> </tr> </tbody> </table>					Наименование заболевания	Вероятность	Поверхностная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	57.62%	Поверхностная микроспория волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	49.23%	Инфильтративно-нагноительная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	35.04%	Лишай белый (Подробнее о заболевании)	34.92%	Розовый лишай (Подробнее о заболевании)	29.17%	Поверхностная трихофития (микроспория) гладкой кожи (Подробнее о заболевании)	29.13%	Хромомикоз (Подробнее о заболевании)	28.9%	Инфильтративно-нагноительная трихофития области бороды и усов (Подробнее о заболевании)	25.43%	Актиномикоз (Подробнее о заболевании)	22.77%	Сикоз вульгарный (Подробнее о заболевании)	22.13%	Фурункул (фурункулез) (Подробнее о заболевании)	22.03%	
Наименование заболевания	Вероятность																													
Поверхностная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	57.62%																													
Поверхностная микроспория волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	49.23%																													
Инфильтративно-нагноительная трихофития волосистой части головы (Подробнее о заболевании)	35.04%																													
Лишай белый (Подробнее о заболевании)	34.92%																													
Розовый лишай (Подробнее о заболевании)	29.17%																													
Поверхностная трихофития (микроспория) гладкой кожи (Подробнее о заболевании)	29.13%																													
Хромомикоз (Подробнее о заболевании)	28.9%																													
Инфильтративно-нагноительная трихофития области бороды и усов (Подробнее о заболевании)	25.43%																													
Актиномикоз (Подробнее о заболевании)	22.77%																													
Сикоз вульгарный (Подробнее о заболевании)	22.13%																													
Фурункул (фурункулез) (Подробнее о заболевании)	22.03%																													
Пол*																														
Локализация сыпи*																														
Локализация начальных высыпаний*																														
Возраст начала заболевания*																														
Жалобы*																														

Рис. 5. Результаты диагностики

сяца). Пациентка предъявляет жалобы на нарушение роста, выпадение (обламывание) волос. Заболевание возникло постепенно и медленно прогрессирует.

После заполнения обязательных полей модуля «диагностика» нажимаем на кнопку «диагноз», система выдаёт следующие варианты диагнозов с указанием их вероятностей, позволяя построить дифференциально-диагностический ряд. Первым в списке предполагаемых заболеваний стоит поверхностная трихофития волосистой части головы, далее следует поверхностная микроспория волосистой части головы (Рис.6).

К сожалению, пока количество внесенных заболеваний в базу данных не позволяет нам провести точный статистический анализ диагностической эффективности представленной интеллектуальной системы. Врач, выбрав курсором соответствующий диагноз из представленного по результатам диагностики списка, может получить развернутое описание заболевания, просмотреть фотографии симптомов (при этом происходит переключение модуля «диагностика» на модуль «атлас»). Выбрав модуль «рекомендации», врач в дальнейшем может просмотреть стандарты диагностики и лечения диагностированного заболевания. Модуль рекомендации, помимо описательной части, содержит также фотографии гистологических и других микропрепаратов, использующихся в микроскопической диагностике кожных и венерических болезней. По результатам диагностики формируется формализованное описание дерматологического больного, которое, в случае необходимости (при сомнениях в правильности предлагаемого системой диагноза), можно сопроводить фотографиями и отправить электронным письмом выбранному врачом эксперту-дерматовенерологу. Эксперт

вместе с формализованным описанием пациента, его фотографиями, результатами анализов получает также результаты ранее проведенной диагностики. Все пересылаемые данные защищены, а эксперт осуществляет свою работу в «личном кабинете» системы. Это позволяет проводить консультации в удобное для эксперта время и будет способствовать повышению эффективности работы практикующих врачей, особенно, в диагностически сложных случаях, например, при диагностике глубоких микозов.

ВЫВОДЫ

1. Для построения интеллектуальной системы поддержки принятия решений (ИСППР) в области дерматовенерологии нами была разработана электронная история болезни дерматовенерологического больного, которая может быть использована в качестве типовой.

2. С помощью представленной ИСППР можно решить проблему интеллектуальной поддержки диагностики, обследования и лечения дерматовенерологических заболеваний. Ввиду своей наглядности, она может быть использована также и для обучения молодых врачей.

3. Разработанная ИСППР открывает дальнейшие перспективы для проведения телемедицинских консультаций.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов П.П., Столбов А.П. Информационные технологии в здравоохранении Европейского союза, США и Канады // Врач и информационные технологии. – 2007. – №6. – С. 69-72.
2. Кубанова А.А., Мартынов А.А., Лесная И.Н. и др. Современные информационные технологии в деятельности специализированных дерматовенерологических учреждений // Вестн. дерматологии и венерологии. – 2009. – №6. – С. 4-15.
3. Гаврилова Т.А., Муромцев Д.И. Интеллектуальные технологии в менеджменте: инструменты и системы: Учеб. пособие. – СПб.: Изд-во «Высшая школа менеджмента»; Издат. дом СПбГУ, 2007. – 488 с.
4. Киликоский В.В., Олимпиева С.П. Технология создания компьютерных консультативных экспертных систем для интеллектуальной поддержки принятия медицинских решений // Врач и информационные технологии. – 2004. – №9. – С. 22-27.
5. Кобринский Б.А. Консультативные интеллектуальные медицинские системы: классификации, принципы построения, эффективность // Врач и информационные технологии. – 2008. – №2. – С. 38-47.
6. Андрейчиков А.В., Андрейчикова О.Н. Интеллектуальные информационные системы. – М.: Финансы и статистика, 2006. – 424 с.
7. Liew P.L., Lee Y.C., Lin Y.C., et al. Comparison of artificial neural networks with logistic regression in prediction of gallbladder disease among obese patients // Dig. Liver dis. – 2007. – Vol. 39, №4. – P. 356-362.
8. Dohler F., Mormann F., Weber B., et al. A cellular neural network based method for classification of magnetic resonance images: towards an automated detection of hippocampal sclerosis // J. Neurosc. Methods. – 2008. – Vol. 170, №2. – P. 324-331.
9. Семак А.Е. и соавт. Прогнозирование инсультов с помощью экспертной системы // Инсульт. – 2006. – №17. – С. 37-41.
10. Burns T., Breathnach S., Cox N., Griffiths C. Rook's textbook of dermatology. 8 ed. – Oxford: Willey-Blackwell; 2010. – 5024 p.
11. Wolf K. et al. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 7 ed. – New York: McGraw-Hill; 2007. – 2402 p.
12. Раводин Р.А. Создание онтологии при проектировании систем интеллектуальной поддержки врачебных решений в дерматовенерологии // Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т. 15, №1. – С. 3-7.

Поступила в редакцию журнала 13.08.2014

Рецензент: В.Г. Корнишева



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КРИПТОКОККОЗА В РЕСПУБЛИКАНСКОМ ЦЕНТРЕ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И БОРЬБЕ СО СПИД И ДРУГИМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ГОРОДЕ КАЗАНИ

Шахбазова Е.Н. (зав. лаб.)*, Жадько Е.Н. (врач-бактериолог), Котляр Е.Ю. (врач-бактериолог), Захарова О.С. (врач-бактериолог), Килина Л.Н. (зам. гл. врача), Нагимова Ф.И. (зам. гл. врача), Галиуллин Н.И. (гл. врач)

Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения республики Татарстан, Россия

© Коллектив авторов, 2014

*Криптококкоз – «пробуждающийся гигант» среди системных микозов, преимущественно развивающийся у больных СПИД. Клиническая диагностика криптококкоза затруднена из-за почти полного отсутствия характерных симптомов. Данные о частоте этого заболевания в России отсутствуют, в последние годы отмечают рост числа зарегистрированных случаев в Санкт-Петербурге. В 2010 году выявлен первый случай криптококкоза у ВИЧ-инфицированного пациента в республике Татарстан, на конец 2013 года в лаборатории микробиологии ГАУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения республики Татарстан» выделено 13 штаммов *Cryptococcus neoformans* у пациентов с клиническими признаками менингоэнцефалита.*

Ключевые слова: антимикотики, ВИЧ-инфекция, ВИЧ-инфицированный пациент, криптококкоз внелегочный, флуконазол

* Контактное лицо: Шахбазова Елена Николаевна, e-mail: lenashakhbazova@yandex.ru

LABORATORY DIAGNOSTICS OF CRYPTOCOCCOSIS IN THE REPUBLICAN CENTER FOR AIDS AND INFECTIOUS DISEASES TREATMENT AND PROPHYLAXIS IN THE KAZAN CITY

Shakhbazova E.N. (head of the laboratory), Zhad'co E.N. (physician-bacteriologist), Kotlyar E.J. (physician-bacteriologist), Zakharova O.S. (physician-bacteriologist), Kilina L.N. (deputy of chief physician), Nagimova F.I. (deputy of chief physician), Galiullin N.I. (chief physician)

Republican Center for AIDS and Infectious Diseases Treatment and Prophylaxis of Ministry of Health of the Republic Tatarstan, Russia

© Collective of authors, 2014

*Cryptococcosis – «the awakening giant» among a systemic mycoses, mainly developing in patients with AIDS. Clinical diagnosis of cryptococcosis is very difficult because of the almost complete absence of characteristic symptoms. Data on the frequency of this disease in Russia are absent, in recent years increased the number of registered cases in St. Petersburg. In 2010 was detected the first case of cryptococcosis in HIV-infected patient in the Republic of Tatarstan. At the end of 2013 in the microbiology laboratory of «Center for AIDS and infectious diseases treatment and prophylaxis» were detected 13 strains of *Cryptococcus neoformans* from patients with clinical signs of meningoencephalitis.*

Key words: antimycotics, extrapulmonary cryptococcosis, fluconazole, HIV-infection, HIV-infected patient

ВВЕДЕНИЕ

Криптококкоз может протекать как острое, подострое или хроническое заболевание. Клинические проявления криптококкоза зависят от характера и выраженности иммунодефицита [1].

Долгое время криптококкоз считали редким заболеванием. В 1970 году L. Aigello писал, что фактическая частота этой инфекции намного превышает количество регистрируемых случаев, и образно назвал криптококкоз «пробуждающимся гигантом» среди системных микозов (Колуканов И.Е., Чайка Н.А., Колуканов А.И. Рекомендации для врачей. Криптококкоз и СПИД. – Л., 1990). Это предсказание оказалось пророческим. С ростом заболеваемости СПИД резко возросла частота регистрации криптококкоза в мире, который настолько часто осложняет течение СПИДа, что некоторые авторы говорят о существовании «ассоциации» «криптококкоз + СПИД» и делают вывод о целесообразности обследования на СПИД всех больных криптококкозом; в равной мере

всех больных СПИД следует проверять на криптококкоз (Колуканов И.Е., Чайка Н.А., Колуканов А.И. Рекомендации для врачей. Криптококкоз и СПИД. – Л., 1990).

Данные о частоте криптококкоза в России отсутствуют, в последние годы отмечают рост числа зарегистрированных случаев в Санкт-Петербурге [2].

Возбудителем являются *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice, 1894), относящийся к классу базидиомицетов, роду *Cryptococcus*. Этот род включает большое количество видов и вариантов, из которых в 90% случаев возбудителями микоза являются *C. neoformans* var. *neoformans* и *C. neoformans* var. *grubii* [3]. Наиболее чувствительны к этому микроорганизму – головной мозг и его оболочки, основные клинические формы заболевания – менингит и менингоэнцефалит.

Естественная устойчивость здорового человека к криптококкам достаточно высока, поскольку преимущественно страдают этим заболеванием лица с нарушениями иммунной системы, хотя возбудители широко распространены в различных географических зонах.

Однако с введением высоких технологий в медицину растет заболеваемость криптококкозом и среди лиц, не инфицированных ВИЧ (трансплантация органов и тканей, врожденные формы иммунодефицита, длительное применение иммунодепрессантов и кортикостероидов, декомпенсированный сахарный диабет и др.) [4]. При дефекте любого из звеньев иммунного механизма возбудитель продолжает активно размножаться, и в организме накапливается большое количество криптококкового полисахаридного антигена, что приводит к активации Т-супрессоров и подавлению иммунного ответа на всех уровнях (Колуканов И.Е., Чайка Н.А., Колуканов А.И. Рекомендации для врачей. Криптококкоз и СПИД. – Л., 1990).

Значительное число случаев остаются нераспознанными и «проходят под маской» других заболеваний.

Из вышесказанного следует, что необходимы осторожность врачей разных специальностей в отношении криптококкоза и проведение грамотного обследования для постановки диагноза. Ранняя диагностика микоза во многих случаях имеет решающее значение для успешной этиотропной терапии.

Цель исследования – установить распространенность криптококкоза у больных ВИЧ-инфекцией с клиническими признаками поражения центральной нервной системы в республике Татарстан.

ПАЦИЕНТЫ, МЕТОДЫ, МАТЕРИАЛЫ

За период – август 2010 - декабрь 2013 гг. обследовано 103 ВИЧ-инфицированных пациента с диагнозами «менингит» и «менингоэнцефалит», находящихся под наблюдением и на лечении в отделении медико-социальной реабилитации в РЦПБ СПИД И

ИЗ МЗ РТ Казани. Все пациенты были подразделены по стадиям ВИЧ-инфекции, возрасту и полу.

Стадии ВИЧ-инфекции определяли по приказу МЗ СЗ РФ от 17 марта 2006 года № 166 [5]. На 2В стадии (острая инфекция с вторичными заболеваниями) были 2 пациента (1,94%), на 3 стадии (субклиническая) – 11 (10,7%); на 4 стадии вторичных заболеваний – 90 (87,4%), из них: на 4А стадии – 8 (7,8%), на 4Б стадии – 35 (34%) и на 4В стадии – 47 (45,6%) человек.

Мужчины составили 70% (72 чел.), женщины – 30% (31 чел.), максимальный возраст – 60 лет, минимальный – 20 лет. Среди обследованных преобладали пациенты в возрастной категории от 20 до 40 лет (84,5%), старше 40 лет – 15,5% (16 чел.).

Исследовали 118 образцов: ликвор – 45 проб и сыворотки крови – 73 пробы. Забор и доставку материала осуществляли согласно общим требованиям [6].

Для выделения и идентификации возбудителей использовали общепотребительные микробиологические методы исследования, направленные на получение чистых культур, изучение их биологических характеристик.

Культуральное исследование. Ликвор засеивали на бульонные и плотные питательные среды для выявления роста любых, в том числе – требовательных, микробов: кровяной агар (5% бараньей крови), шоколадный агар, Сабуро агар, мясо-пептонный бульон (БиоРад, Франция), хромогенную среду для выделения грибов (Оксоид, Англия). Инкубировали посевы при 37 °С в течение 3 суток, затем чашки с отсутствием роста выдерживали до 10 суток при комнатной температуре. В течение 10 суток проводили наблюдение за средами обогащения.

Идентификацию выделенных грибов до вида выполняли с помощью тест-системы *Auxacolor 2* (БиоРад, Франция).

Чувствительность к антимикотикам определяли с помощью тест-систем *Fungitest* (БиоРад, Франция), *Sensititre YeastOne* (TREK Diagnostic Systems LTD, Англия).

Микроскопическое исследование: осуществляли микроскопию нативного препарата ликвора с определением цитоза. В тушевом препарате ликвора выявляли капсульные дрожжевые формы. Окраску по Граму ликвора проводили для определения грам+ и грам- форм бактерий.

Иммунологическое исследование: антиген криптококка в ликворе и сыворотке определяли методом латекс-агглютинации в тест-системе *Pasrorex Cryptoplus* (БиоРад, Франция).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования из 103 ВИЧ-инфицированных больных антиген криптококка выявили у 13 человек, что составило 12,6%. Данные по пациентам с положительным результатом на антиген криптококка приведены в таблице 1.

Таблица 1

Сведения об обследованных лицах и данные результатов их исследования на криптококк

Пациент	Пол	Год рождения	ДДН* лет	Стадия ВИЧ	АРВТ***	Биоматериал			
						Сыв-ка (Ag)	Ликвор (Ag)	посев	микроскопия
1	М	1979	13	IVB	-	+	+	С. neof.	капсула
2	М	1977	<0,5	IVB	+	+	0	0	0
3	М	1981	<0,5	IVB	+	0	+	С. neof.	капсула
4	М	1962	<0,5	IVB	+	+	0	0	0
5	М	1982	<0,5	IVB	+	+	0	0	0
6	М	1978	11	III	-	+	0	0	0
7	М	1978	2	IVB	+	+	0	0	0
8	М	1973	<0,5	IVB	+	+	+	С. neof.	капсула
						+	+п/з	-/-	капсула
						+п/з	+п/з	-/-	капсула
9	М	1971	<0,5	IVB	-	+	+	С. neof.	капсула
						+п/з	+п/з	-/-	капсула
10	М	1980	2	IVB	+	0	+	С. neof.	капсула
11	М	1960	2	III	+	0	+	С. neof.	капсула
12	М	1975	3	III	-	0	+	С. neof.	капсула
13	Ж	1974	3	IVB	+	0	+	С. neof.	капсула
						0	+п/з	С. neof.	капсула

* - длительность диспансерного наблюдения (год)

0 - материал не поступал

** - повторный забор

*** - антиретровирусная терапия

По данным из научной литературы, показатели специфичности и чувствительности стандартных тестов для обнаружения антигена *Cryptococcus* spp. в сыворотке больных превышает 90% [1, 4].

С конца 2012 г. в лабораторию чаще передают сыворотку от ВИЧ-инфицированных лиц для исследования на криптококкоз. Исследование сыворотки на антиген криптококка является своеобразным скрининговым методом в диагностике, так как не всегда удается провести пункцию спинного мозга для получения ликвора от этой категории пациентов. Поэтому при подозрении на криптококкоз любой локализации всем больным ВИЧ-инфекцией показано определение антигена *Cryptococcus* spp. в сыворотке.

Из обследованных 103 пациентов антиген криптококка выявили у 13 (12,6%), из них у 3 (23%) – на 3 стадии заболевания, у 2 (15,4%) – на 4Б стадии и у 8 (61%) – на 4В стадии, при этом подавляющее большинство составили мужчины – 12 человек (92,3%). 5 пациентов (38,5%) были в возрасте старше 40 лет. 10 больных (80%) находились под диспансерным наблюдением с диагнозом «ВИЧ-инфекция» сравнительно недавно (менее 3-х лет), причем более 50% из них были поставлены на диспансерный учет в середине 2013 г. (полгода назад).

Достоверный диагноз криптококкоза может быть поставлен только на основании данных, полученных при обследовании больных микологическими и им-

мунологическими методами.

При поступлении ликвора на микробиологическое исследование первично выполняли микроскопию нативного препарата. Чаще наблюдали цитоз в виде лейкоцитов и единичных эритроцитов. В ряде препаратов, где цитоз отсутствовал, мы обнаружили дрожжевые почкующиеся клетки с одной почкой. Количество клеток в поле зрения варьировало – от единичных до 5-8, образования цепочек не было. При наличии дрожжевых клеток, при микроскопии в капле туши была хорошо видна капсула в виде светлого ободка вокруг дрожжевой клетки. Толщина капсулы во всех образцах была небольшой – меньше диаметра самой клетки гриба. При обнаружении капсулы в тушевом препарате считали вероятным наличие криптококка. Все пробы ликвора, в которых выявили дрожжевые клетки, были положительными и в реакции латекс-агглютинации на наличие антигена *C. neoformans*.

Культуральное исследование всех поступивших в лабораторию проб ликвора проводили на выявление бактериального и грибкового роста. Однако во всех случаях, где имел место рост культуры, нами получен рост только криптококка. Высевы со сред обогащения также не давали бактериального роста. На среде Сабуро мы наблюдали появление колоний беловатого цвета, чаще – на 3-5 сутки, иногда – на 7 сутки. На агаре Сабуро криптококки образовывали колонии практически одинакового размера и пастообразной консистенции. На хромогенной среде размер и цвет колоний различался: размер – от мелких до крупных, цвет – от бежевого до различных оттенков коричневого.

При идентификации выросших культур во всех случаях был выделен *C. neoformans*. Типирования вариантов криптококка методом ПЦР не проводили.

В 12 пробах ликвора был выделен *Cryptococcus neoformans*. В этих же 12 образцах мы обнаружили дрожжевые клетки в нативном препарате и капсулу при микроскопии в капле туши.

Все выделенные штаммы гриба были протестированы на чувствительность к антимикотикам (таблица 2).

Таблица 2

Чувствительность к антимикотикам выделенных штаммов *C. neoformans*

Антимикотик	S (чувствительный)	I (умеренно чувств.)	R (устойчивый)
Амфотерицин В	8 (100%)	0	0
Итраконазол	8 (100%)	0	0
Миконазол	7 (87,5%)	1 (12,5%)	0
Флуконазол	7 (87,5%)	1 (12,5%)	0
Флюроцитозин	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0
Кетоконазол	7 (87,5%)	1 (12,5%)	0

При изучении резистентности к антимикотикам штаммов грибов, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов, находящихся на диспансерном наблюдении в «РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ», отмечали сохранение чувствительности к флуконазолу у 7 пациентов из восьми, в одном случае – умеренную чувствительность к флуконазолу.

По данным из научной литературы, первичная резистентность *C. neoformans* к азоловым антимикотикам встречается редко [1], однако возможно появление вторичной резистентности при длительной антифунгальной терапии. Поэтому клиницистам нужно помнить, что у таких ВИЧ-инфицированных пациентов необходимо повторно забирать именно ликвор с целью получения роста штамма с обязательной оценкой его чувствительности к антифунгальным препаратам.

У 3 из 13 ВИЧ-инфицированных лиц ликвор и сыворотку забирали неоднократно в течение исследуемого периода. У тринадцатого больного, после первичного выделения криптококка и проведенного лечения, в последующем все исследованные пробы были отрицательными.

У восьмого пациента, после повторного взятия ликвора на фоне проводимого лечения флуконазолом, снова отмечали рост *C. neoformans*. Но выявить чувствительность к антимикотикам не удалось на Фунгитесте, поэтому использовали метод серийных разведений (Sensititre) с определением МПК. Получили умеренную устойчивость к флуконазолу (МПК – 16 мкг/мл) и чувствительность к вориконазолу (МПК – 0,25 мкг/мл). По результатам анализа, терапию флуконазолом заменили на вориконазол. Согласно контрольным исследованиям, гриб продолжал персистировать в организме больного, причем пациент получал антиретровирусную терапию (АРВТ) с 2009 года, и при этом, на фоне снижения вирусной нагрузки, уровень CD4 клеток оставался низким ($<0,03 \cdot 10^9/\text{л}$).

На сегодняшний день основные стратегические проблемы лечения ВИЧ-инфекции так или иначе оказываются связанными с появлением резистентности вируса к АРВТ. На фоне снижения эффекта АРВТ у пациентов возможно присоединение тяжелых оппортунистических заболеваний, к которым относят криптококкоз.

Так, из 13 обследованных нами пациентов, у которых был выделен *C. neoformans*, 9 получали АРВТ.

Вероятность связи развития у них криптококкоза с резистентностью вируса к АРВТ весьма высока. Возможно, стоит рассмотреть вопрос ранней профилактики криптококкового менингита у ВИЧ-инфицированных пациентов, независимо от стадии заболевания, с назначением флуконазола.

ВЫВОДЫ

1. Встречаемость криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими признаками поражения центральной нервной системы в республике Татарстан составила 12,6%.

2. Основная часть ВИЧ-инфицированных пациентов (76,4%) с диагнозом «внегочный криптококкоз» – преимущественно мужчины (92,3%) в возрасте от 30 до 40 лет (77%) – находились на стадии вторичных заболеваний.

3. Во всех положительных пробах ликвора *C. neoformans* обнаружили иммунологическими и микологическими методами.

4. Все выделенные штаммы *C. neoformans* имели капсулу небольших размеров.

5. Все выделенные штаммы *C. neoformans* были чувствительны к флуконазолу до начала антимикотической терапии.

6. При длительном применении флуконазола необходим мониторинг за уровнем чувствительности возбудителя к этому препарату.

7. Позднее выявление ВИЧ-инфекции и постановка на диспансерное наблюдение приводят к развитию тяжелых оппортунистических заболеваний, в частности – криптококкоза.

8. Необходим скрининг сыворотки ВИЧ-инфицированных больных для выявления антигена криптококка.

9. Диагноз «криптококкоз» можно ставить при наличии положительного результата на антиген криптококка в двух порциях сыворотки, взятых в разное время, либо при наличии положительного результата на антиген в ликворе и сыворотке крови одного больного.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. – СПб.: СПМАПО, 2004. – 185 с.
2. Хостелиди С.Н., Сорокина М.М., Борзова Ю.В. и др. Криптококкоз легких у пациентки без ВИЧ-инфекции. Описание случая и обзор литературы // Проблемы медицинской микологии. – 2013 – Т. 15, №2. – С. 18-24.
3. Васильева Н.В., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Босак И.А. Факторы патогенности *Cryptococcus neoformans* и их роль в патогенезе криптококкоза. Мат-лы IX съезда Всеросс. научно-практ. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – 2007. – Т. 2. – С. 221.
4. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. 2-ое изд. – М., 2008. – С. 335.
5. Покровский В.В. ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 192 с.
6. Зубков М.Н. Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований. Лабораторная диагностика. – 2004. – Т. 6, №2. – С. 143-154.

Поступила в редакцию журнала 17.02.2014

Рецензент: Т.С. Богомолова



ЭЛЕКТРОННО - МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА НА ПРИМЕРЕ АРХИВНОГО БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА

Степанова А.А. (зав. лаб.)*, Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой), Аравийский Р.А. (в.н.с.), Борзова Ю.В. (зав. микологической клиникой, ассистент кафедры), Чернопятова Р.М. (зав. отделением), Десятник Е.А. (аспирант), Клишко Н.Н. (зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; кафедра медицинской микробиологии; кафедра клинической микологии, иммунологии и аллергологии

© Коллектив авторов, 2014

Показано, что использование парафиновых блоков архивного материала приемлемо для последующего электронно-микроскопического исследования ультраструктурных особенностей аспергиллеза легких человека и диагностических целей. По данным световой микроскопии полутонких эпоксидных срезов, грибные элементы были выявлены в просвете некоторых бронхов; в паренхиме легких пациента они формировали четыре четко выраженные морфологические зоны, при электронно-микроскопическом исследовании обнаружены в легких пациента два типа гиф, различающихся по морфологии (возникло подозрение на наличие в них двух видов грибов – *A. fumigatus* и *A. flavus*), высевы которых были получены ранее из мокроты при обследовании пациента. Показано присутствие в паренхиме легкого довольно большого числа конидиогенных структур, контактирующих с широкими (4-6 мкм) гифами, окруженными хорошо развитым темным внеклеточным матриксом и снабженными септами, по форме и размерам типичными для *A. fumigatus*. Одновременно в бронхах и паренхиме легких были выявлены гифы, которые по диаметру (2-3 мкм), форме, строению и размерам септ, а также отсутствию внеклеточного матрикса соответствовали *A. flavus*. Обсуждается функциональная роль выявленного «симбиоза».

Ключевые слова: аспергиллез, легкие человека, световая и электронная микроскопия, ультраструктура

ELECTRON-MICROSCOPIC INVESTIGATION OF HUMAN LUNG ASPERGILLOSIS BY THE EXAMPLE OF ARCHIVES BIOPSY MATERIAL

Stepanova A.A. (head of the laboratory), Vasilyeva N.V. (director of institute, head of the chair), Aravijkiy R.A. (leading scientific collaborator), Borzova Y.V. (head of mycological clinic, assistant of the chair), Chernopiyatova R.M. (head of the department), Desiyatik E.A. (postgraduate student), Klimko N.N. (head of the chair)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia: Kashkin Research Institute of Medical Mycology; Chair of Medical Mycology; Chair of Clinical Mycology, Immunology and Allergy

© Collective of authors, 2014

*It was shown that the use of paraffin blocks of archival material is acceptable for the subsequent electron-microscopic research of ultrastructural features of human lung aspergillosis and the diagnostic purposes. According to light microscopy of semi-thin epoxy sections the fungal elements were revealed in a gleam of several bronchial tubes; in patient lungs parenchyma they formed four distinct morphological zones during electron-microscopic investigations of patient lungs we revealed existence of two types of the fungal hyphae differing on its morphology (that was suspicion of existence of two fungal species - *A. fumigatus* and *A. flavus*), sowing of which was obtained earlier from sputum during examination of the patient. It was shown the existence in lung parenchyma of numerous conidiogenous structure, connected the wide (4-6 μm) hyphae surrounded with well developed dark extracellular matrix and supplied with septes with form (on longitudinal hyphal section), structure and sizes typical for *A. fumigatus*. Simultaneously in bronchial tubes and lungs parenchyma were revealed the hyphae which corresponded of diameter (2-3 μm), shape, ultrastructure and the sept's sizes and also the absence of extracellular matrix correspond to *A. flavus*. Functional role of revealed "symbiosis" is discussed.*

Key words: aspergillosis, human lung, light and electron microscopy, ultrastructure

* Контактное лицо: Степанова Амалия Аркадьевна,
Тел.: (812) 303-51-40

ВВЕДЕНИЕ

Ряд авторов [Лысенко А.И. //Архив патол., 1973. – №5; Гайдамакин Н.А. и др. //Архив патол., 1974. – №10; Клочков Н.Д. //Архив патол., 1979. – № 3; Fanning J.C., et al //J. Microsc., 1991. – Vol.162, Pt.3; Bonsib S.M., et al //Ultrastruct. Pathol., 1993. – Vol.17, №5 и др.] ранее предпринимали попытки использовать парафиновые блоки архивного материала, зафиксированного 10% формалином, для последующего электронно-микроскопического изучения разных видов патологий после соответствующей обработки, однако в изучении микотических инфекций этот метод не применяли. При анализе данных в имеющихся работах показано, что, несмотря на возможность изучения формы и размеров клеток, а также ряда клеточных компонентов и специфических включений, качество приведенных в них снимков обычно низкое. Тем не менее, идея сочетанного использования методов световой и электронной микроскопии для ускоренного и целенаправленного исследования микозов человека представляется в настоящее время весьма актуальной. При апробации имеющихся методов мы не получили желаемого результата в изучении тканевых форм грибов.

В связи с этим задачами настоящего исследования были: 1) на модельном объекте отработать метод повторного использования парафиновых блоков биопсийного материала для последующего электронно-микроскопического исследования; 2) изучить цитологические особенности аспергилла в легких человека с помощью современных методов световой и трансмиссионной электронной микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Больной Д. (1981 г.р.) впервые поступил в клинику НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина 12.01.2005 г. В апреле 2003 г. пациент заболел инфильтративным туберкулезом в фазе распада и обсеменения, ВК+. В течение года получал специфическую терапию, состояние стабилизировалось, прекращение бацилловыделения отмечали с января 2004 г. Летом 2005 г. работал помощником озеленителя, был контакт с землей и растениями. В сентябре 2005 г. у пациента появился кашель с умеренным количеством мокроты с прожилками крови. С ноября 2005 г. в ПТД получал противотуберкулезную и гемостатическую терапию без эффекта. Сохранялся кашель с эпизодами кровохарканья, в связи с чем в декабре 2005 г. на отделении торакальной хирургии ЛОКБ была проведена верхняя левосторонняя лобэктомия. При гистологическом исследовании послеоперационного материала обнаружили гифы мицелия гриба, а при посеве мокроты выделили культуру *Aspergillus fumigatus*.

При изучении гистологических препаратов в легких были обнаружены обширные зоны некроза. В некробиотических массах выявили густые сплетения септированных и ветвящихся гиф мицелия диа-

метром 3-4 мкм, а также конгломераты из раздутых клеток гриба диаметром до 10-20 мкм. При изучении сыворотки крови получен положительный результат теста на галактоманнан (*Platelia*) *Aspergillus*, а также специфический Ig G с *A. fumigatus* 3(+). На КТ органов грудной клетки: в зоне оперативного вмешательства отмечали инфильтрат с нечеткими неровными контурами, в нижних отделах левого легкого на фоне изменений лёгочной ткани по типу матового стекла наблюдали участки уплотнения лёгочной ткани размером до 14 мм. По результатам обследования был поставлен диагноз «хронический некротизирующий аспергиллёз лёгких».

Кусочки ампутированной части легкого пациента изначально зафиксировали для световой микроскопии в течение 24 часов 10% раствором формалина и далее обрабатывали по стандартной методике. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином-эозином, а затем исследовали в световом микроскопе Leica DMR.

В настоящей работе мы приводим лишь один из большого числа апробированных нами методов возможного использования парафиновых блоков для последующего электронно-микроскопического исследования, поскольку он обеспечил наилучшую сохранность как тканей легких пациента, так и грибных элементов.

Для трансмиссионной электронной микроскопии из парафинового блока вырезали кусочки (2x5 мм) с наибольшей концентрацией грибных элементов и обрабатывали по следующей схеме:

- 1) депарафинизация в ксилоле (3 часа при комнатной температуре);
- 2) проводка через серию этанолов (96° – 60 минут, 70° – 30 мин, 50° – 30 мин, 30° – 30 мин);
- 3) промывка дважды по 15 минут раствором какодилатного буфера (pH 7,2);
- 4) фиксация 3 часа при комнатной температуре в смеси 3% раствора глутаральдегида и параформальдегида, приготовленной на какодилатном буфере;
- 5) промывка в какодилатном буфере;
- 6) постфиксация в течение 9 часов на холоде в 1% осмиевой кислоте;
- 7) проводка через серию этанолов (30° – 60 мин, 50° – 30 мин, 70° – 30 мин, 96° – 30 мин), а также абсолютном ацетоне и смесях абсолютного этанола и ацетона (2:1 – 2 часа; 1:1 – 2 часа; 1:2 – на ночь);
- 8) проводка в смесях ацетона и эпоксидной смолы эпон-аралдит (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5);
- 9) раскладка образцов в пластиковые формы и заливка в эпоксидную смолу эпон-аралдит;
- 10) блоки с образцами для лучшей пропитки смолой выдерживали трое суток в эксикаторе с осушителем при комнатной температуре;
- 11) полимеризация блоков в термостате при 60° в течение 3 суток.

На пирамитоме LKB 11800 из эпоксидных блоков готовили полутонкие срезы (2-4 мкм), которые окрашивали раствором фуксина основного, а затем

исследовали в световом микроскопе для выявления грибных элементов и последующей прицельной за- точкой блоков. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB V, затем окрашивали 5 минут цитратом свинца и 10 минут – 2% раствором уранилацетата по стандартной методике и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе Jem–100 SX II.

Пациент получал амфотерицин В 50 мг в сутки (19 дней), затем – итраконазол 500 мг в сут. На фоне лечения отмечали положительную динамику: улучшилось самочувствие, уменьшились инфильтративные изменения в лёгких на КТ органов грудной клетки, купировано кровохарканье. Пациент принимал итраконазол до августа 2006 г., после чего самостоятельно отменил препарат. Общая продолжительность антимикотической терапии составила 8 месяцев.

При контрольном обследовании в декабре 2006 г. на КТ органов грудной клетки наблюдали свежие очаговые изменения в нижней доле левого лёгкого, при 3-х кратном посеве мокроты был получен рост *A. flavus*, выявлен IgG с *A. fumigatus* 3(+). Произошло обострение хронического некротизирующего аспергиллёза лёгких, в связи с чем пациенту назначили итраконазол 500 мг в сутки в течение 4 месяцев.

По данным обследования, в апреле 2007 г. была достигнута клиничко-лабораторная ремиссия хронического некротизирующего аспергиллёза легких.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При светооптических исследованиях полутонких эпоксидных срезов биоптатов, окрашенных фуксином основным, обнаружили наличие скоплений грибных гиф в просвете некоторых бронхов мелких и средних калибров, а также в паренхиме легких, где они формировали четыре четко различимые морфологические зоны в виде:

1) небольших (16–60 мкм) округлой формы (Рис. 1 а, стрелка) хаотично и плотно расположенных скоплений гиф;

2) обширных скоплений хаотично и рыхло расположенных извилистых гиф (Рис. 1 б, стрелки);

3) обширных скоплений плотно и, в основном, параллельно расположенных относительно друг друга гиф, формирующих подобие ложной ткани (Рис. 1 в, стрелки);

4) обширных скоплений хаотично и рыхло локализующихся гиф мицелия (Рис. 1 д, стрелки), подстилающих многочисленные конидиогенные аппараты, ориентированные головками в направлении, противоположном скоплению грибных гиф, и локализующихся на разных уровнях относительно друг друга.

Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что стенка бронхов изученных биоптатов легких пациента состояла из эпителиальных клеток, расположенных наподобие палисады, свободная (обращенная в просвет) поверхность которых имела многочисленные микроворсинки (Рис. 1 е). В содер-

жимом большей части клеток эпителия отмечали продольно ориентированные сильно хроматизированные ядра (6–7 x 3–4 мкм), характеризующиеся наличием плотной нуклеоплазмы, слабо извилистого контура (Рис. 1 е); мелких вакуолей, митохондрий; редких, коротких, сильно искривленных агранулярных цистерн эндоплазматического ретикулума и многочисленных мелких светлых пузырьков. Иногда встречались клетки эпителия без цитозоля, содержащие разрушающиеся ядра и другие органеллы. В просвете некоторых бронхов наблюдали обширные скопления грибных гиф, локализующихся плотно и, в основном, параллельно относительно друг друга (Рис. 1 ж). Выявили гифы двух типов: широкие (4–6 мкм) и узкие (2–3 мкм, Рис. 1 ж, и), причем первые доминировали. Клетки широких гиф, несмотря на отсутствие живого содержимого, сохраняли форму таковых, некогда интактных. В их светлом просвете преобладали равномерно расположенные скопления фибриллярного вещества разной конфигурации (Рис. 1 ж). Они имели тонкие (0,1–0,2 мкм) светлые первичные клеточные стенки (Рис. 1 з), а также вторичные клеточные утолщения. Последние встречались не регулярно и внутрь от первичных (Рис. 1 з, к). Вторичные утолщения могли формироваться по всему периметру гифы либо локально в отдельных довольно протяженных или коротких ее участках. Часто их можно было наблюдать в зонах контакта двух-трех гиф. Вторичные утолщения были в 3–4 раза толще (0,3–0,8 мкм) первичных клеточных стенок, характеризовались умеренной электронной плотностью и наличием наружного тонкого темного, неравномерного редко прерывистого наружного слоя, обращенного в полость гифы. Они могли быть равномерными по толщине на всем своем протяжении и повторять форму несущих их гиф (Рис. 1 з) либо иметь извилистые очертания (Рис. 1 к). Широкие и узкие гифы, локализующиеся в просвете бронхов, как правило, были полностью погружены в темный плотный так называемый «внеклеточный матрикс» [1, 2] (Рис. 1 ж). Судя по ультраструктуре (наличие ядер, цитозоля, митохондрий, вакуолей, многочисленных мелких светлых пузырьков и плазмалеммы), узкие гифы были интактными.

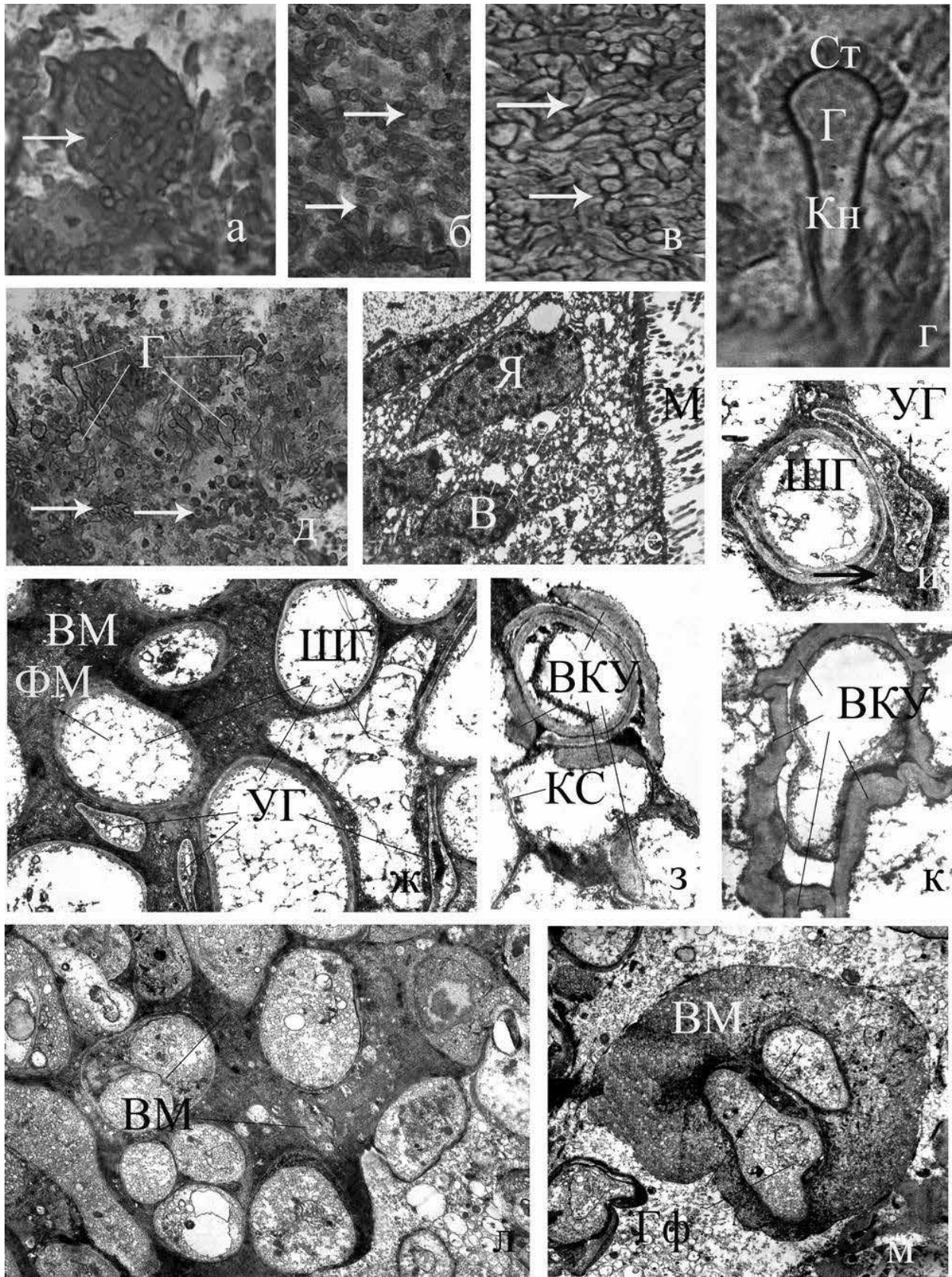


Рис. 1. Световая микроскопия эпоксидных (а-д) и ультратонких (е-к) срезов легких пациента: а-д – окраска фуксином основным. Ув.: а, в, г – х1000; б, д – х800; е, и, ж, з, к – х6000; л, м – х5000. а, б, в, д – ↑ показаны гифы. Условные обозначения здесь и на рисунках 2, 3, 4: В – вакуоль(и), ВКУ – вторичные клеточные утолщения, ВМ – внеклеточный матрикс, Г – головка, Гф – гифа(ы), КВ – кристаллические включения, Кн – конидиеносец, КС – клеточная стенка, М – микроворсинки, Мф – макрофаг, ПКС – первичная(ые) клеточная(ые) стенка(и), С – септа(ы), Ст – стеригмы, ФМ – фибриллярный материал, ШГ – широкая(ие) гифа(ы), УГ – узкая(ие) гифа(ы), Ц – цитозоль, Я – ядро(а)

Первая зона локализации грибных элементов в паренхиме легких пациента состояла из небольших по площади, плотных скоплений хаотично ориентированных широких гиф варьирующего диаметра, находящихся на разных стадиях развития и в тесном контакте друг с другом (Рис. 1 а, л). Они содержали одиночные ядра (0,9-1,2 мкм), мелкие вакуоли, плотный цитозоль, многочисленные свободные рибосомы, редкие короткие цистерны агранулярного эндоплазматического ретикулума и многочисленные пузырьки. Запасные вещества отмечали не во всех клетках в виде небольших, редких, умеренной электронной плотности липидных включений и мелких, темных, белковых включений в вакуолях. Клетки гиф имели тонкие (0,1-0,2 мкм), однослойные, гомогенные, умеренной электронной плотности клеточные стенки, лишенные вторичных утолщений. Снаружи они несли темный, варьирующей (0,1-0,4 мкм) толщины внеклеточный матрикс (Рис. 1 л). Клетки гиф на разных стадиях старения и полностью отмершие наблюдали как исключение.

Вторая зона состояла из значительных по площади, неправильной формы скоплений хаотично ориентированных широких гиф, локализующихся рыхло относительно друг друга (Рис. 1 б). Они могли быть в группах по две-четыре (Рис. 1 м) либо одиночными (Рис. 2 в). По ультраструктуре клетки гиф были сходны с аналогичными первой зоны. Отличительной особенностью их тонкого строения был тот факт, что снаружи клеточной стенки они несли намного более развитый, темный внеклеточный матрикс (Рис. 1 м) варьирующей толщины (0,2-4,0 мкм). Стареющие и полностью отмершие клетки гиф встречались как исключение.

Третья зона была представлена обширными скоплениями из плотно (Рис. 1 в) и параллельно расположенных относительно друг друга широких и узких гиф (Рис. 2 г, д). По частоте встречаемости широких и узких гиф и строению содержимого клетки гиф описываемой зоны были сходны с аналогичными, выявленными в просвете бронхов. Отличие состояло в том, что в широких гифах вторичные утолщения отсутствовали. Гифы также были погружены в довольно плотный, темный внеклеточный матрикс варьирующей ширины. На рисунке 2 а показан фрагмент узкой гифы со слабо хроматизированным интерфазным ядром, цитозолем, а также многочисленными мелкими вакуолями и пузырьками. Редко встречающиеся одиночные профили узких гиф были лишены внеклеточного матрикса (Рис. 2 б).

Отличительной чертой строения **четвертой зоны** было наличие многочисленных конидиогенных аппаратов (Рис. 1 д), в составе которых были различимы гладкостенный конидиеносец высотой 250-450 мкм (Рис. 1 г), колонковидная головка диаметром 20-25 мкм и один ряд стеригм (5-7x2-3 мкм). Конидии на стеригмах конидиогенных аппаратов, а также свободно лежащие в тканях легких, мы не наблюдали. В основном, конидиогенные структуры

были полностью отмершими (Рис. 2 ж), но, несмотря на это, сохраняли присущую им в интактном состоянии форму. Редко они содержали цитозоль с разрушающимися органеллами, обрывками мембран и многочисленными крупными пузырьками варьирующего диаметра. В основании конидиогенных аппаратов отмечали умеренные скопления хаотично и довольно рыхло ориентированных широких гиф (Рис. 1, стрелки), в основном, находящихся на разных стадиях старения. Они одиночные либо в небольших группах. В просвете интактных гиф выявили ядра (Рис. 2 з) с низким содержанием конденсированного хроматина и крупными ядрышками, редкими мелкими митохондриями и вакуолями, многочисленными мелкими пузырьками, плотным цитозолем и свободными рибосомами. Запасные вещества отсутствовали. Отметим, что низкое содержание запасных веществ было характерно и для клеток гиф *A. fumigatus*, инфицирующих паренхиму легких мышей [3]. Плотный темный внеклеточный матрикс клеток широких гиф имел варьирующую толщину (0,3-4,3 мкм, Рис. 2 з).

Клетки широких и узких гиф, локализующихся в бронхах и паренхиме легких (третья зона) пациента, были отделены друг от друга клиновидными, однослойными, светлыми септами. В стареющих клетках гиф септы приобретали полусферическую (Рис. 2 д) или неправильную форму. В широких гифах диаметр септальной поры составлял 0,14 мкм; толщина септы вблизи клеточной стенки была равна 0,2 мкм, а септальной поры – 0,12 мкм. По строению и размерам септы широких гиф совпадали с аналогичными ранее изученного штамма *A. fumigatus*, выделенного от пациента и выращенного *in vitro* [4]. В септах узких гифах септальная пора имела диаметр 0,07 мкм; толщина септы около клеточных стенок была равна 0,1 мкм, а вблизи септальной поры – 0,06 мкм.

Отметим, что в ходе исследований мы не выявили гифы в просвете сосудов ткани легкого.

В паренхиме легких среди разрушающихся клеток зон некроза отмечали свободно лежащие скопления палочковидных (от 0,42x0,05 до 2,1x0,15 мкм) кристаллических включений умеренной или повышенной электронной плотности (Рис. 2 е).

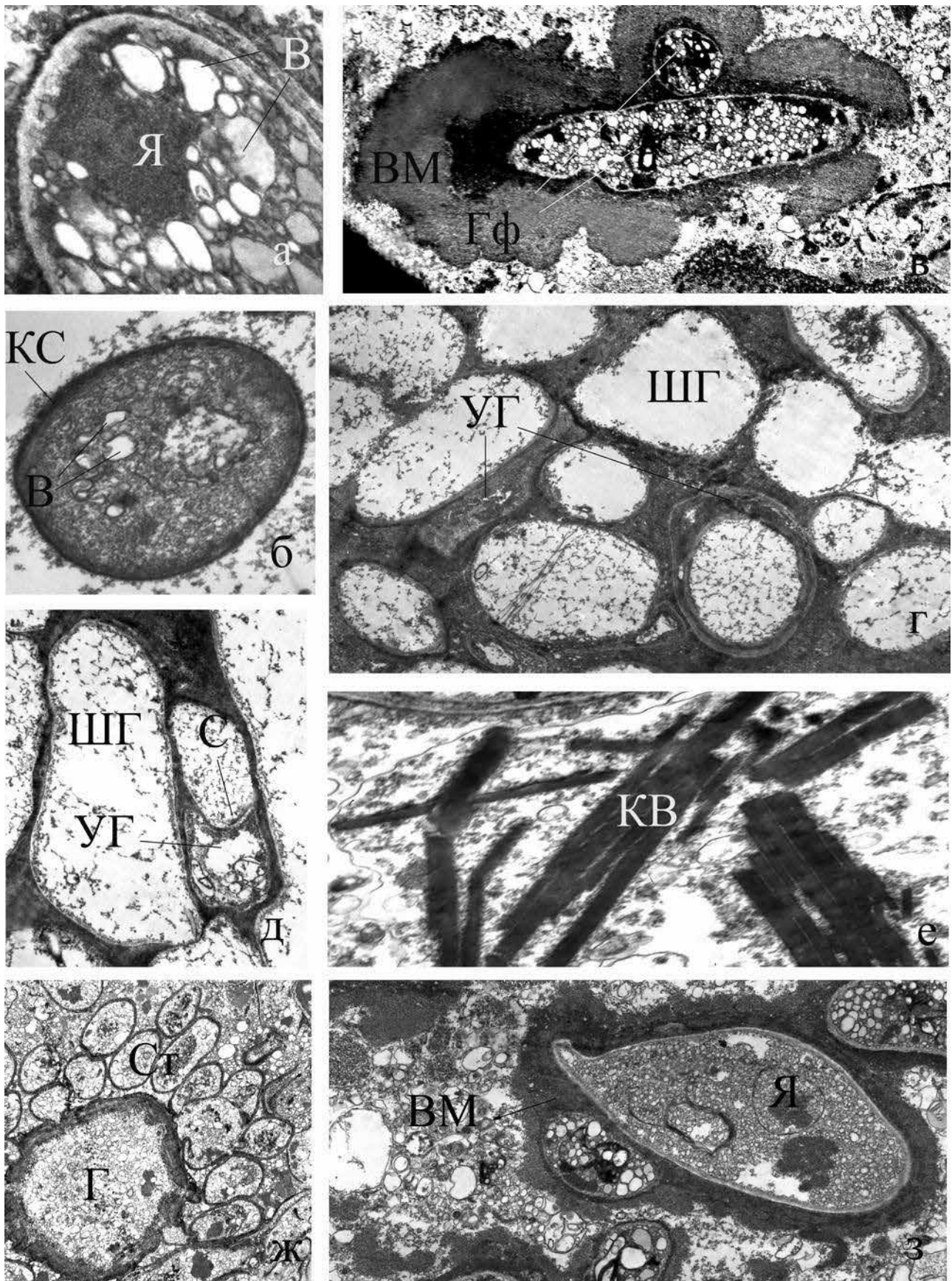


Рис. 2. Особенности ультраструктурной организации гиф грибов в ткани легкого.
Ув.: а, б, е – 8000, в, г, д – х5000, ж – 4500; з – х6000

Описанные включения одиночные либо в группах от 2 до 40. Ранее сходные образования были описаны Feldmesser M. с соавторами (Infect. Immun., 2001. – Vol.69, №4) в тканях легких мышей, инфицированных *Cryptococcus neoformans*, с наличием ярко выраженных признаков эозинофильной пневмонии. Согласно наблюдениям данных авторов, на начальных стадиях инфекционного процесса названные включения встречались в содержимом макрофагов и клеток паренхимы легких, а через 28 дней они были отмечены исключительно за их пределами, как и в нашем случае. Как полагают авторы, располагаясь внутри интактных клеток легких, такие включения способствуют разрушению их плазматической мембраны, что является причиной гибели последних. Авторы предполагают, что описанные включения:

1) состоят из основного эозинофильного белка, и их формирование обуславливает цитотоксичный эффект;

2) формирование большого их числа в макрофагах связано с их последующим разрушением и отмиранием;

3) формирование кристаллов можно рассматривать в качестве механизма противодействия клеток хозяина в ответ на грибной агент и стимулирования устойчивости к микотической инфекции.

Отдельно остановимся на тонком строении клеток иммунной системы анализируемого случая. В просветах бронхов вблизи скоплений гиф редко встречались разрушенные (Рис. 3 а) макрофаги, содержащие профили отмерших гиф в числе от одной до трех. В паренхиме легких разрушенные и разрушающиеся макрофаги с отмершими гифами в содержимом также имели место (Рис. 3 б). Помимо них, встречались одиночные (Рис. 3 в) либо попарно сближенные макрофаги (Рис. 3 г), содержащие обычный для этого типа клеток иммунной системы набор органелл. Показателен снимок Рис. 3 г, демонстрирующий «безразличие» макрофага к отмершим и интактным грибным гифам. Из других клеток моноцитарно-макрофагального звена мы наблюдали моноциты (Рис. 3 д).

Для демонстрации качества фиксации приводим

электроннограмму плазматической клетки (Рис. 3 е) легкого с ядром и многочисленными извилистыми цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулаума.

В целом, низкая активность клеток иммунной системы подтверждает наш вывод о том, что в описываемом случае последняя находится в состоянии относительного «покоя», и в противоборстве с ними грибная инфекция «взяла верх».

У пациента Д. перед оперативным вмешательством (06.12.05 г.) при посеве мокроты была выделена культура *A. fumigatus*, тогда как электронномикроскопическими исследованиями выявили в биопсиях легких наличие гиф двух типов различной морфологии. Факт наличия *A. fumigatus* подтверждает присутствие в паренхиме легких пациента конидиогенных аппаратов, характерных для этого вида гриба. В бронхах и паренхиме легких пациента доминировали широкие гифы мицелия, которые по диаметру и особенностям строения внеклеточного матрикса соответствовали гифам мицелия *A. fumigatus*. Отметим, что для гиф культуральных [4] и тканевых [1, 3, 5] форм этого вида гриба характерно наличие тонких клеточных стенок, окруженных хорошо развитым внеклеточным матриксом. Как показано данными настоящей работы, наиболее хорошо последний развит снаружи клеточных стенок одиночных или собранных в небольшие группы клеток широких гиф второй и четвертой зон. В условиях культуры клетки воздушного мицелия *A. fumigatus* (штамм РКПГГ-1172, Российская коллекция патогенных грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина), в отличие от субстратного, были лишены внеклеточного матрикса [4]. У последних внеклеточный матрикс имел варьирующую (0,2-0,5 мкм) толщину, в 3,5 раза превышал толщину клеточной стенки, был довольно рыхлым и состоял из тонкофибриллярного материала в сочетании с темными крупными гомогенными сгустками разной конфигурации, иными словами, был развит намного слабее, чем у тканевых форм гриба. При переходе клеток этого штамма *A. fumigatus* в тканевую форму (легкие мышей) толщина внеклеточного матрикса доходила

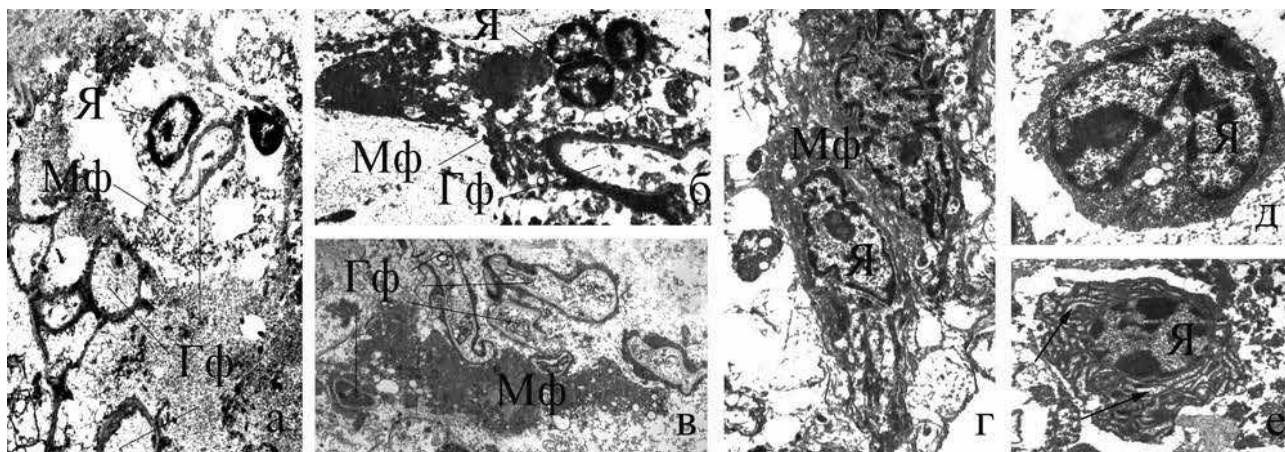


Рис. 3. Электронная микроскопия клеток просвета бронха (а) и тканей легких (б-е). Ув.: а, в – х4500, б – х6000, г, д, е – х5000, е - ↑ показаны цистерны эндоплазматического ретикулаума

до 1,0-2,0 мкм, что превышало толщину клеточной стенки в 8 раз, и было в 4 раза больше по сравнению с клетками мицелия культуральных форм гриба. Отмечены изменения и в тонком строении внеклеточного матрикса у тканевых форм гриба: он становился неравномерным, возрастала его электронная плотность, он мог быть гомогенным либо гранулярно-фибрилярным. Согласно нашим наблюдениям, характерный для клеток субстратного мицелия ряда видов патогенных грибов внеклеточный матрикс, в ходе естественного процесса их старения, постепенно исчезал, полностью обнажая клеточные стенки [6]. Интересно отметить, что, согласно данным ряда авторов [1, 7], внеклеточный матрикс формируется уже с момента роста конидий *A. fumigatus*. По мнению Beauvais A. с соавторами [1], а также Muszkieta L. с соавторами [8], присутствие внеклеточного матрикса замедляет проникновение антимикотиков в клетки *A. fumigatus*. Latgé J.-P. [9] отводит ему протективную и адгезивную функции; последнее обстоятельство определяет их способность формировать биопленки. Последний автор рассматривает также возможность его «агрессивной» функции в качестве резервуара для хранения многих гидролитических и токсических молекул, выделяемых клетками гриба. Внеклеточный матрикс, окружающий клеточные стенки гиф *A. fumigatus*, состоит из полисахаридов, белков и пигмента меланина [1, 8].

Отметим, что у пациента Д. уже в январе 2008 года была достигнута клинико-лабораторная ремиссия хронического некротизирующего аспергиллеза легких, однако при посеве мокроты (от 24.01.08 г.) был получен высев другого вида гриба – *A. flavus*. Мы склонны допустить, что узкие гифы соответствуют мицелию *A. flavus*. Они встречались намного реже, но, непременно, в просвете бронхов, содержащих скопления гиф, а также в третьей зоне локализации гиф в паренхиме легких. Следует отметить, что в скоплениях отмерших широких гиф как в бронхе, так и в паренхиме легкого, узкие гифы чаще всего были интактными. Различия в диаметре гиф мицелия *A. fumigatus* и *A. flavus* (соответственно, 5-8 мкм и 3-6 мкм) характерны для штаммов этих видов, выделенных из окружающей среды [Raper K.B., Fennell D.I. New York, 1973 и др.]. Дополнительным подтверждением того, что узкие гифы, скорее всего, принадлежат *A. flavus* является тот факт, что внеклеточный матрикс в условиях культуры, судя по снимкам, представленным в работе Vojović-Cvetić D. и Vujičić R. [Vojović-Cvetić D., Vujičić R. // Protoplasma, 1976. – Vol.88], вокруг гиф мицелия отсутствовал. Нет его и у тканевых форм гриба, инфицирующих клетки проводящей системы растения [Huizar H.E., et al // Mycopathologia, 1990. – Vol.110].

В практике клиницистов нередко случаи выявления аспергиллеза легких у больных туберкулезом [9 и др.]. В целом, при анализе морфологических образований элементов гриба в паренхиме легкого пациента наблюдали отсутствие радиально ориен-

тированных скоплений гриба (инвазивная форма), характерных для ранних стадий развития инфекции [Latgé J.-P. // Clin. Microbiol. Rev., 1999. – Vol.12, №2]. Как светооптически, так и электронно-микроскопически, мы не выявили характерные для легких больных туберкулезом [Latgé J.-P. // Clin. Microbiol. Rev., 1999. – Vol.12; Митрофанов, В.С., Чернопятава, Р.М. // Пробл. мед. микол., 2000. – №4 и др.] аспергиллы – так называемые «fungal ball», представляющие собой сферические скопления гиф гриба в полостях, заключенных в белковый матрикс, часто – со спорулирующими конидиогенными структурами по периферии. Очевидно, что мы можем говорить о находке до сих пор неизвестного для тканевых форм аспергиллов морфологического образования. Пространственно это – шнуровидная ассоциация из плотно и параллельно расположенных относительно друг друга двух типов гиф, оккупирующих бронхи пациента (Рис. 4 а), которая имеет продолжение (третья зона, Рис. 4 б) в ткани легкого, где она выполняет, скорее всего, проводящую функцию, как и в бронхах.

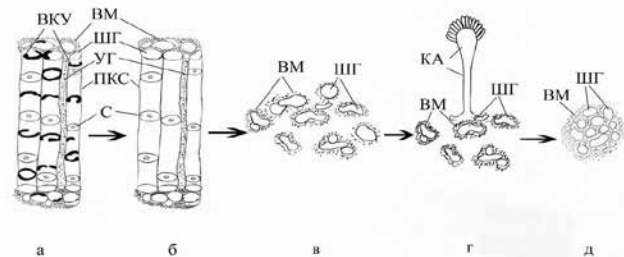


Рис. 4. Схема, иллюстрирующая особенности строения гиф грибов в просвете бронхов (а) и паренхиме легких (б-д): б – третья зона, в – вторая зона, г – четвертая зона, д – первая зона

Структурными элементами, благодаря которым широкие гифы в описанном образовании не спадают и сохраняют присущую им в интактном состоянии форму, являются впервые описанные для тканевых форм *A. fumigatus* вторичные клеточные утолщения и наличие внеклеточного матрикса, в который они «замурованы». Их присутствие, безусловно, усиливает ригидность как первичных клеточных стенок, так и в целом всего описанного грибного «комплекса». Мы допускаем переход широких гиф третьей зоны в хаотично и рыхло расположенные широкие гифы второй зоны (Рис. 4 в), что важно для осуществления обильного спороношения (четвертая зона, Рис. 4 г). Фактически, это естественный ход инфекционного процесса в легких человека – от бронхов в ткань легкого. Остается открытым вопрос о том, каким образом формируются небольшие по размерам округлой формы скопления гиф (первая зона, Рис. 4 д), которые могут быть источником реинфекции. Осмелимся предположить, что источником последних могут быть конидии некогда спорулирующих конидиогенных аппаратов, что опосредованно подтверждает и наличие в их составе только широких гиф, характерных для *A. fumigatus*. Общеизвестно, что в

тканях легких аспергиллы обычно формируют округлые скопления – аспергиллемы в полостях паренхимы легких либо они располагаются непосредственно в альвеолах, что, в обоих случаях, обеспечивает их не только питательными веществами, но и, прежде всего, достаточным количеством кислорода, необходимого для их нормального развития. В исследованном нами случае таких образований не выявили, и снабжение, по крайней мере, частично, кислородом интактных гиф грибов могло происходить непосредственно из просветов бронхов.

Присутствие в качестве инфекционных агентов микотической инфекции не одного, а двух видов патогенных грибов, безусловно, значительно усугубляет течение инфекционного процесса, создает существенные трудности для клеток иммунной системы человека, прежде всего, ввиду того, что обсуждаемые виды патогенных грибов синтезируют различный спектр грибных токсинов. Следует специально остановиться на структурно-функциональных особенностях «симбиоза» двух типов гиф (Рис. 3 а), выявленных в просвете бронхов и имеющих продолжение в ткани легкого (третья зона). С одной стороны, они сходны с ризоморфами базидиальных грибов (шнуровидными сплетениями гиф мицелия, заключенными в темный матрикс из меланина), достигающих значительной протяженности (до нескольких метров), которые служат для проведения воды и растворенных в ней питательных веществ из разветвленного в корне высшего растения мицелия к их плодовым телам. С другой стороны, по особенностям анатомического строения и внутреннего содержания клеток, описанное скопление гиф сродни элементам проводящей системы растений – ситовидным трубкам (аналог – широкие гифы) и клеткам-спутникам (аналог – узкие гифы), осуществляющим транспорт растворенных питательных веществ в теле высших растений. Можно допустить две возможные функциональные нагрузки описанного образования: 1) транспорт метаболитов гриба из ткани легких в бронхи (по типу «мусоропровода»); 2) поглощение и транспорт метаболитов и аэрация гиф в направлении бронх → ткани легких и наоборот. Мы допускаем, что при втором типе функциональной нагрузки возможно функциональное разделение гиф: широкие гифы без вторичных утолщений, вероятно, служат для аэрации, тогда как снабженные ими – для транспорта водорастворимых метаболитов. Безусловно, нужны специальные физиологические исследования для того, чтобы точно определить состав метаболитов и направление их тока в описанном образовании.

В целом, состояние инфекционного процесса описанного случая можно оценить как «состояние относительного покоя» (хроническая форма) перед возможным повторным рецидивом, источником которого могут быть скопления интактных широких грибных элементов *A. fumigatus* первой и четвертой зоны паренхимы легких, а также интактных узких гиф

(предположительно – *A. flavus*) просвета бронхов и третьей зоны в ткани легкого. Отсутствие грибных элементов в просвете сосудов ткани легкого можно интерпретировать как факт отсутствия перехода инфекционного процесса в генерализованную форму. В описанном случае, судя по цитологическим данным, основной вклад в развитие инфекционного процесса внесли и могут в последующем внести, безусловно, клетки гиф *A. fumigatus*, однако присутствие сопутствующего агента, предположительно – *A. flavus*, несомненно, не только отяжеляет ход инфекционного процесса, но и придает ему специфическую морфологическую и биохимическую «окраску». В целом, исходя из полученных данных, можно говорить о перспективности использования предложенного метода как для выяснения фундаментальных аспектов течения патогенеза аспергиллеза, морфогенеза тканевых форм грибов, так и для диагностических целей.

ВЫВОДЫ

1. Использование парафиновых блоков биопсийного архивного материала после депарафинизации, фиксации глутаральдегидом-параформальдегидом-осмием, приготовленными на какодилатном буфере, и заливки в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит приемлемо для последующего светооптического и электронно-микроскопического исследований аспергиллеза легких человека.

2. При светооптическом изучении полутонких эпоксидных срезов показано, что клетки гриба формируют в паренхиме легких четыре четко выраженных морфологически зоны, коррелирующих с данными электронно-микроскопических исследований.

3. При электронно-микроскопических исследованиях просвета бронхов и паренхимы легких пациента выявили наличие в них двух типов гиф, различающихся по особенностям морфологии, что служит основой существования в них двух видов грибов – микст-инфекции, подтвержденной и посевом мокроты.

4. Морфологическим доказательством наличия в ткани легкого пациента микотической инфекции, вызванной *A. fumigatus*, является присутствие довольно большого числа конидиогенных структур, по размерам и морфологии, характерных для данного вида гриба.

5. Характерной чертой ультраструктурной организации гиф мицелия тканевых форм мицелия *A. fumigatus* является хорошо развитый, толстый, темный внеклеточный матрикс, который выполняет протективную функцию.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Beauvais A., Schmidt C., Guadagnini S., et al. An extracellular matrix glues together the aerial-grown hyphae of *Aspergillus fumigatus* // Cell Microbiol. – 2007. – Vol. 9. – P. 1588-1600.
2. Loussert C., Scmitt C., Prevost M., et al. In vivo biofilm composition of *Aspergillus fumigatus* // Cell. Microbiol. – 2010. – Vol. 12, Is. 3. – P. 405-410.
3. Степанова А.А., Босак И.А., Синуцкая И.А. Цитологическое исследование *Aspergillus fumigatus* Fr. в легких мышей // Проблемы мед. микологии. – 2013. – Т. 15, №1. – С. 53-50.
4. Степанова А.А., Синуцкая И.А., Авдеенко Ю.Л. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus fumigatus* Fres. // Проблемы мед. микологии. – 2004. – Т. 6, №3. – С. 34-40.
5. Müller F.-M., Seidler M., Beauvais A. *Aspergillus fumigatus* biofilms in the clinical setting // Medical Mycology. – 2011. – Vol. 49, Suppl. 1. – P. 96-100.
6. Степанова А.А., Синуцкая И.А. Ультраструктурные аспекты старения клеток некоторых видов рода *Aspergillus* // Проблемы мед. микологии. – 2009. – Т. 11, №4. – С. 24-29.
7. Stepanova A.A., Sinitskaya I.A. Cytological investigations of *Aspergillus fumigatus* Fres. germinating conidia // Проблемы мед. микологии. – 2012. – Т. 14, №2. – P. 43-53.
8. Muszkieta L., Beauvais A., Pähz V., et al. Investigation of *Aspergillus fumigatus* biofilm formation by various «omics» approaches // Front. Microbiol. – 2013. – Vol. 12. – P. 1-16.
9. Latgé J.-P. Dynamics of cell wall organization of *Aspergillus fumigatus* // 3rd Trends in Med. Mycology. – 2007. – P. 18.

Поступила в редакцию журнала 10.05.14

Рецензент: Корнищева В.Г.



ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТА *PHALLUS IMPUDICUS* (ВЕСЕЛКА ОБЫКНОВЕННАЯ)

Ананьева Е.П. (зав. кафедрой)*, Гурина С.В. (доцент кафедры микробиологии), Алексеева Г.М. (доцент кафедры аналитической химии)

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия (кафедры микробиологии и аналитической химии), Россия

© Коллектив авторов, 2014

*Подобраны условия глубинного культивирования базидиомицета *Phallus impudicus* Linnaeus, 1753: Persoon 1801, штамм 0781. Установлено, что в модифицированной среде с повышенным содержанием источников углерода и азота выход биомассы мицелия увеличивался на 50%. Изучен углеводный состав мицелия, основным компонентом которого является глюкоза (47,0%), а также обнаружены значительные количества маннозы (24,0%) и галактозы (18,4%). Показано, что водные и водно-спиртовые извлечения мицелия *Phallus impudicus* обладают антиоксидантной активностью, причем более активным было водное извлечение.*

Ключевые слова: антиоксидантная активность, базидиомицеты, глубинное культивирование, мицелий

STUDY OF CULTIVATION CONDITIONS AND ANTIOXYDANT ACTIVITY OF BASIDIOMYCET *PHALLUS IMPUDICUS* (FUNGUS-FUN ORDINARY)

Ananjeva E.P. (head of the chair), Gurina S.V. (associate professor of the chair), Alekseeva G.M. (associate professor of the chair)

State Chemo-Pharmaceutical Academy (chairs of microbiology and analytical chemistry), St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2014

*The conditions of biomass mycelium production by *Phallus impudicus* Linnaeus, 1753: Persoon 1801, strain 0781 have been studied. It was found that biomass mycelium production increased (on 50%) in modified cultural medium with increased content of carbon*

* Контактное лицо: Ананьева Елена Петровна,
e-mail: amar52@rambler.ru

and nitrogen sources. The carbohydrate composition of mycelium was investigated. The main component of mycelium appeared to be glucose (47,0%), and also it was found a significant amounts of mannose (24,0%) and galactose (18,4%). It was shown an antioxidant activity of aqueous and aqueous-alcohol extracts from mycelium. The aqueous extracts manifested more higher activity then aqueous-alcohol extracts.

Key words: antioxidant activity, basidiomycetes, immersed cultivation, mycelium

ВВЕДЕНИЕ

Высшие базидиальные грибы известны как продуценты ряда ценных биологически активных веществ, используемых в качестве лечебно-профилактических средств. Известно, что метаболиты *Phallus impudicus* (веселки обыкновенной) оказывают противоопухолевое и антимикробное действие, способствуют снижению холестерина, обладают релаксирующим действием. В народной медицине применяют экстракты плодовых тел веселки обыкновенной [1]. Благодаря развитию биотехнологии стало возможным выращивание базидиомицетов в глубоководной периодической культуре.

Цель работы – изучение особенностей глубоководного культивирования *P. impudicus* для накопления биомассы мицелия и сравнительная оценка антиоксидантной активности метаболитов мицелия этого базидиомицета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали *P. impudicus* Linnaeus, 1753: Persoon 1801, штамм 0781 из коллекции культур Ботанического института им. В.А. Комарова РАН (г. Санкт-Петербург).

На плотной питательной среде культура образовывала колонии с хорошо развитым пушистым, войлочным воздушным мицелием. Колония белого цвета, с бахромчатым краем (поднимающимся) и неровной внешней линией. Субстратные нити мицелия не окрашены. Запах слабый, неопределенный. При микроскопии гриба были найдены ветвящиеся тонкостенные гифы шириной 2,5-5,0 мкм, с пряжками. Можно видеть прорастающие пряжки и анастомозы. При выращивании в жидкой питательной среде гриб образует пеллеты (шарообразные скопления мицелия диаметром 2-3 мм и более).

Мицелий тест-культуры получали методом глубоководного культивирования в жидкой глюкозопептонной среде (ГПС) [2] и жидком сусле, содержащем 7,5% углеводов.

Культуру выращивали на лабораторной «круговой» качалке при 120 об/мин. при $t = 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл. В качестве исходного посевного материала использовали штамм *P. impudicus*, выращенный на скошенном сусло-агаре в течение 3-4 суток. Затем 10 мл посевного материала переносили в ферментационные колбы, содержащие 150 мл среды. Ферментацию проводили в течение 9 суток.

Мицелий из культуральной жидкости отделяли фильтрованием с последующим обезвоживанием

биомассы этанолом и высушиванием при 24 °С.

Качественный моносахаридный состав мицелия устанавливали методом тонкослойной хроматографии, количественный анализ – методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) триметилсилильных (ТМС) производных углеводов, полученных из мицелия [2].

Для определения антиоксидантной активности *P. impudicus* культивировали в ГПС в течение 6 суток. Нативную культуральную жидкость фильтровали. Водные и водно-спиртовые извлечения получали из сухой биомассы мицелия. Для получения водной фракции к измельченной в фарфоровой ступке биомассе мицелия добавляли воду в соотношении 1: 10, выдерживали на водяной бане 2 часа при 80-90 °С при перемешивании. Для получения водно-спиртового извлечения измельченную биомассу мицелия и 40% этанол смешивали в соотношении 1:10, выдерживали в термостате 2 часа при 36 °С при перемешивании.

Антиоксидантную активность (АОА) извлечений мицелия определяли по методике кулонометрического титрования электрогенерированным бромом [3]. Для этого использовали специальную установку, в которой осуществляют моделирование окислительного стресса и оценивают способность объекта проявлять АОА (за единицу принимают количество электричества – Q, расходуемого на окисление 100 мл анализируемого раствора). Время конца титрования фиксируют с помощью секундомера при появлении скачка потенциала. АОА вычисляли по уравнению:

$$Q = i \times t / 10 \times V; \text{ где}$$

Q – антиоксидантная активность объекта, Кл/100 мл;

i – сила тока в цепи, мА;

t – время анализа, с;

V – объем титранта, мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения процесса культивирования *P. impudicus* в качестве базовой питательной среды использовали синтетическую глюкозопептонную среду (ГПС), а также естественную среду – жидкое сусло, содержащее 7,5% сахаров.

Биомассу гриба в жидком сусле накапливали в течение 14 суток и более, при этом выход биомассы мицелия не превышал 4 г/л. В ГПС гриб начинал активно расти с третьих суток с достижением максимального накопления биомассы к 6-7 суткам. Для дальнейших исследований была выбрана глюкозопептонная среда, обеспечивающая более быстрый рост культуры и, в отличие от жидкого сусла, имеющая постоянный определенный компонентный состав (особенно – по источнику углерода), что необходимо для стандартизации условий культивирования и получения конечного продукта с постоянными характеристиками.

В процессе роста базидиомицета в стандартной

ГПС изучали некоторые биохимические показатели: скорость утилизации источников углерода и азота, интенсивность накопления биомассы, изменение pH среды.

Установлено, что в течение первых 3-х суток культивирования концентрация источника углерода значительно уменьшалась – от 10 до 2,7 мг/мл. К шестым суткам глюкоза в среде практически полностью утилизировалась (Рис. 1).

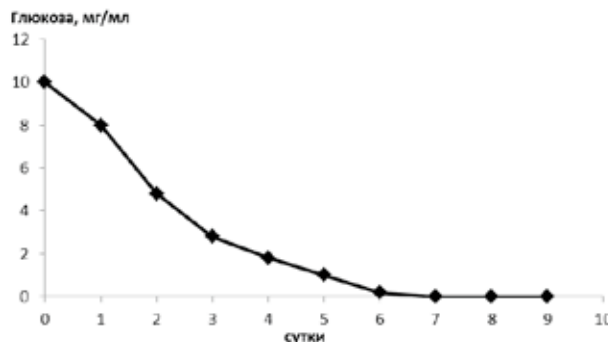


Рис. 1. Динамика утилизации источника углерода *P. impudicus*

При изучении динамики утилизации источника азота в процессе выращивания гриба содержание аминного азота в среде постепенно снижалось до 7 суток, что коррелировало с активным ростом биомассы мицелия.

В течение первых трех суток культивирования базидиомицета значение pH культуральной жидкости значительно снижалось – от 5,5 до 3,2, сохраняясь на этом уровне в последующие трое суток, а затем – постепенно возрастало до 4,5. Повышение pH среды, вероятно, связано с образованием аминов, содержащих основные группы, в результате декарбоксилирования аминокислот культурой.

При изучении динамики изменения биомассы в процессе культивирования *P. impudicus* активное накопление мицелия начиналось с третьих суток и сопровождалось значительным уменьшением содержания глюкозы и азота в среде. Максимальный выход биомассы (5,3 г/л) наблюдали на шестые сутки культивирования. С седьмых по девятые сутки ее количество оставалось постоянным. При этом в среде практически не обнаруживали глюкозы, и оставалось незначительное количество азота

С целью повышения интенсивности накопления биомассы мицелия, *P. impudicus* варьировали концентрации источников азота, пептона и дрожжевого экстракта, а также источника углерода.

Установили прямую зависимость накопления биомассы от концентрации глюкозы (в диапазоне от 5 до 15 г/л), при этом выход биомассы увеличивался на 25- 30% (Рис.2).

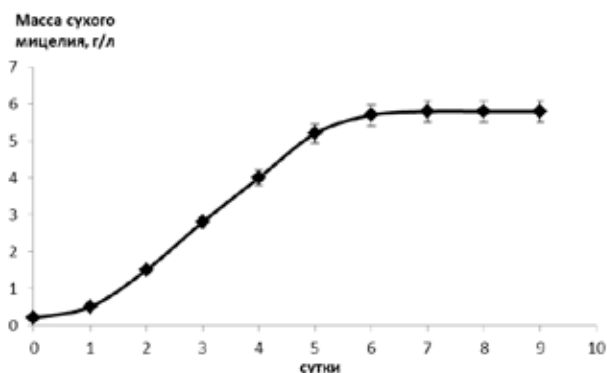


Рис. 2. Динамика накопления биомассы мицелия *P. impudicus*

При изучении влияния источников азота на выход биомассы мицелия в экспериментах последовательно изменяли концентрации пептона от 2,5 до 4,5 г/л; это приводило к заметному повышению интенсивности накопления биомассы, при этом выход возрастал на 30%. При увеличении концентрации пептона с 3,5 до 4,5 г/л выход мицелия был практически одинаковым, поэтому в модифицированную среду вносили 3,5 г/л пептона.

Таким образом, модифицированная ГПС содержала: 3,5 г/л пептона, 2 г/л дрожжевого экстракта и 15 г/л глюкозы.

При культивировании *P. impudicus* в модифицированной ГПС выход биомассы мицелия составил $8,8 \pm 0,3$ г/л, что на 50% превышало выход мицелия в стандартных условиях.

В образцах мицелия гриба определяли содержание углеводов, белка и минеральных примесей.

В мицелии обнаружили 45% углеводов, достаточно высокое содержание белка – 15,0% и незначительное количество минеральных примесей. Низкое значение количества редуцирующих сахаров в гидролизатах мицелия может быть связано с содержанием большого количества хитина, который плохо подвергается гидролизу.

Количественный анализ моносахаридного состава проводили методом ГЖХ. Выявили, что полисахариды мицелия состояли из глюкозы (47,0%), маннозы (24,0%), галактозы (18,4%), ксилозы (9,4%) и следовых количеств фукозы (0,8%).

Антиоксидантную активность метаболитов *P. impudicus* определяли в водных, водно-спиртовых извлечениях и в нативном растворе. В качестве пре-

парата сравнения был выбран 0,05% раствор рутина. Рутин относят к витаминам группы Р, он содержит комплекс биофлавоноидов, обладающих антиоксидантными свойствами.

Установлено, что изучаемые экстракты мицелия обладали антиоксидантной активностью. Более выраженную АОА проявляли фракции водных извлечений по сравнению с водно-спиртовыми. Значения показателей АОА водных извлечений превышали уровень контроля (раствора рутина) в 1,5 раза. Антиоксидантная активность нативного раствора оказалась ниже контрольного значения (Рис. 3).

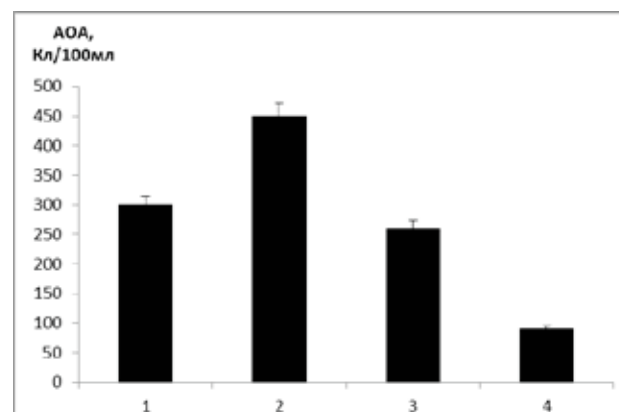


Рис. 3. Антиоксидантная активность извлечений мицелия и нативного раствора *Phallus impudicus*; 1 – АОА рутина, 2 – водного извлечения, 3 – спиртового извлечения, 4 – нативного раствора

Таким образом, АОА исследованных фракций мицелия *P. impudicus* сопоставима с активностью препарата сравнения рутина.

ВЫВОДЫ

1. Установлена возможность накопления биомассы мицелия базидиомицета *P. impudicus* при глубинном выращивании в глюкозо-пептонной среде стандартного состава. Выход биомассы достигал максимума к 7 суткам при полной утилизации культурой источников углерода и азота.

2. Показано, что при культивировании *P. impudicus* в модифицированной глюкозо-пептонной среде выход биомассы мицелия возрастал на 50%.

3. Установлено, что водные и водно-спиртовые извлечения мицелия и нативный раствор *P. impudicus* обладают выраженной антиоксидантной активностью.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Заикина Н.А. Коваленко А.Е. и др. Основы биотехнологии высших грибов. – СПб.: Проспект науки, 2007. – 315 с.
2. Кожемякина Н.В., Ананьева Е.П., Гурина С.В. Условия культивирования, состав и биологическая активность мицелия *Flatulina velutipes* (Fr.). Р.Karst. // Прикл. биохим. и микробиол. – 2010. – №5. – С. 583-586.
3. Алексеева Г.М., Смола Е.И., Поляков Л.В. Разработка методики кулонометрического определения антиоксидантной активности лекарственных водно-спиртовых экстрактов // Мат. Межд. научно-практ. конф. «Наука и образование». – 2005. – часть V. – С. 90.

Поступила в редакцию журнала 11.07.2014
Рецензент: Н.П. Елинов



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОНТАМИНАЦИИ МИКРОМИЦЕТАМИ ОБЪЕКТОВ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ ОТДЕЛЕНИЙ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННОГО И ХИРУРГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРОВ

¹ Чарушина И.П. (доцент кафедры)*,
¹ Фельдблюм И.В. (зав. кафедрой),
² Александрова Г.А. (н.с.), ² Баландина
С.Ю. (зав. лаб.)

¹ Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А.Вагнера МЗ России (кафедра инфекционных болезней и кафедра эпидемиологии);
² Пермский государственный национальный исследовательский университет, НИЛ «Бактерицид», Пермь, Россия

© Коллектив авторов, 2014

В статье представлена характеристика результатов лабораторных исследований объектов внешней среды на микромицеты отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) инфекционного и хирургического профилей г. Перми. Выявили высокий уровень загрязнения больничной среды микромицетами, доля положительных проб превысила 90%. В ОРИТ хирургического профиля как по уровню, так и интенсивности контаминации наблюдали преобладание в воздушной среде плесневых микромицетов, а в смывах с объектов больничной среды – дрожжевых организмов. Особенностью инфекционных ОРИТ является высокий уровень контаминации воздушной среды не только плесневыми, но и дрожжевыми грибами (по 100% в обоих случаях). При этом интенсивность загрязнения дрожжами воздуха и предметов больничной среды в 16 раз превышает таковую в ОРИТ хирургического отделения.

Ключевые слова: контаминация, микромицеты, реанимационное отделение хирургического и инфекционного профилей

COMPARATIVE ASSESSMENT OF CONTAMINATION BY MICROMYCETES OF THE HOSPITAL ENVIRONMENT DEPARTMENTS OF REANIMATION AND INTENSIVE THERAPY OF INFECTIOUS AND SURGICAL HOSPITALS

¹ Charushina I.P. (associate professor of the chair), ¹ Feldblyum I.V. (head of the chair),
² Aleksandrova G.A. (scientific collaborator),
² Balandina S.J. (head of the laboratory)

¹ E.A. Vagner Perm State Medical Academy of Russian Ministry of Health (chair of infectious diseases and chair of epidemiology); ² Perm State National Research University, SRL «Bactericid», Perm, Russia

© Collective of authors, 2014

The characteristics of the laboratory investigations results of the external environment objects on the micromycetes of the departments of intensive care units (ICU) of infectious and surgical profile in city Perm has been presented in this article. We revealed a high level of the hospital environment contamination by micromycetes, the percentage of positive samples exceeded 90%.

In intensive care units of surgical profile both in the level and intensity of contamination observed predominance in the air of mold and in the swabs from the hospital environment – yeast. The peculiarity of infectious departments is the high level of the air environment contamination by not only mold, but also by yeast fungi (100% in both cases). The intensity of yeast contamination of air and objects of the hospital environment was in 16 times higher than in ICU of surgical department.

Key words: contamination, micromycetes, surgical intensive care unit and infectious profile

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы количество инвазивных грибковых инфекций, возникающих в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), заметно увеличилось. В многолетней динамике заболеваемости микозами наблюдается тенденция к росту [1]. Доля их в общей структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в зависимости от специализации отделения, может достигать 30%. Общая летальность колеблется от 27 до 99% [Гельфанд Б.Р. и др. // Ж. Анналы хирургии. – 2001. – №3.].

Самыми распространенными возбудителями микозов в ОРИТ являются *Candida* spp., *Aspergillus* spp. и *Rhizopus* spp. У ВИЧ-инфицированных пациентов обнаруживают также *Cryptococcus* spp. В структуре выделенных микромицетов у больных ОРИТ преобладают *Candida* spp. и *Aspergillus* spp., которые об-

* Контактное лицо: Чарушина Ирина Петровна,
e-mail: Art-charushin@yandex.ru

условливают более 95% инвазивных грибковых инфекций [2].

К числу важнейших факторов, способствующих возникновению инвазивных микозов, относят хирургические вмешательства. В ряде исследований установлено, что частота кандидемии у пациентов в хирургических ОРИТ составляет 6,9 на 1000. Развитие ее увеличивает летальность на 20-49% [3]. Инвазивный криптококкоз прочно входит в тройку наиболее распространенных причин смерти у ВИЧ-инфицированных больных [4].

Вместе с тем, многие вопросы, касающиеся причин возникновения, лечения и профилактики инвазивных грибковых инфекций, остаются неизученными [5]. Известно, что внутрибольничное инфицирование пациентов ОРИТ грибами может быть как эндогенным (микробиота самого больного), так и экзогенным (заражение от других пациентов, персонала, через медицинское оборудование, предметы ухода, воздух) [6]. Для реализации механизмов экзогенного инфицирования особую значимость имеет уровень и интенсивность контаминации больничной среды.

Цель нашего исследования – изучение и сравнительная оценка инфицированности микромицетами объектов больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии хирургического и инфекционного профилей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценку состояния контаминации микромицетами объектов больничной среды проводили в отделениях реанимации и интенсивной терапии хирургического и инфекционного профилей г.Перми в 2013 г. Объекты исследования: лечебно-диагностическое оборудование, воздух в помещениях, санитарно-техническое оборудование, руки персонала и пациентов. Микробиологические исследования выполнены лабораторией «Бактерицид» Пермского государственного национального исследовательского университета. Обсемененность воздушной среды изучали по общепринятым методикам в соответствии с приложением №2 к приказу №720 от 31.07.1978 г., МУК №3182-84 и МУК 4.2.734-99. Отбор проб воздуха осуществляли аспирационным методом в трех точках каждого помещения в присутствии больных с помощью автоматического пробоотборника воздуха марки ПУ-1Б на чашки Петри с селективной питательной средой Сабуро, Чапека.

Смывы брали стерильным тампоном в пробир-

ки с 1% пептонной водой с добавлением глюкозы, последующим посевом на среду Сабуро, Чапека и термостатированием при 26 °С в течение 7-14 дней. Плесневые грибы идентифицировали с помощью микроскопирования с использованием современных микробиологических определителей. Для выявления дрожжеподобных грибов посева наносили через 18-20 часов на среду Сабуро, в которую для подавления роста контаминирующих бактерий добавляли антибиотики. Инкубацию проводили при 37 °С в течение 48 часов для обнаружения патогенных для человека видов грибов. Дрожжеподобные грибы идентифицировали с помощью хромогенного агара.

Общее количество проб, отобранных для исследования, составило 59, в т.ч. 30 проб воздуха и 29 смывов с объектов больничной среды. В инфекционной реанимации взято всего 30 проб, в т.ч. воздуха – 18, смывов – 12; в хирургической реанимации – всего 29 проб, в т.ч. воздуха – 12, смывов – 17.

Результаты обрабатывали статистически с помощью пакета «Microsoft Excel 2000», а также методов параметрической статистики. При анализе полученных результатов определяли средние величины и стандартную ошибку ($M \pm m$). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе лабораторного исследования объектов больничной среды ОРИТ обоих отделений во всех пробах воздуха обнаружили микромицеты (100%). При исследовании смывов установлено, что доля положительных проб в инфекционном ОРИТ составила 100%, в хирургическом – $76,5 \pm 10,2\%$ ($t > 2$, $p < 0,05$) (табл. 1).

Этиологическая структура микромицетов, выделенных с объектов внешней среды инфекционного и хирургического ОРИТ, была различной. Если в исследуемых пробах воздуха инфекционного ОРИТ в 100% выявляли как плесневые, так и дрожжевые грибы, то в ОРИТ хирургического профиля плесневые грибы наблюдали во всех пробах воздуха, а дрожжевые – лишь в половине, при этом все они были в сочетании с плесневыми.

При исследовании смывов в ОРИТ инфекционного стационара во всех пробах находили дрожжевые грибы, тогда как плесневые составляли $75,0 \pm 14,4\%$, все – в сочетании с дрожжевыми. В хирургическом ОРИТ дрожжевые грибы установлены в $61,5 \pm 17,2\%$, а плесневые – в $92,3 \pm 7,6\%$.

Таблица 1.

Уровень контаминации микромицетами больничной среды ОРИТ различного профиля (в %)

Пробы	Наименование микромицетов											
	ОРИТ инфекционного отделения						ОРИТ хирургического отделения					
	Плесневые		Дрожжевые		Mixt		Плесневые		Дрожжевые		Mixt	
	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m
Воздух	18	100	18	100*	18	100	12	100	6	50,0±14,4	6	50,0±14,4
Смывы	9	75,0±14,4	12	100*	9	75,0±14,4	12	92,3±7,6	8	61,5±17,2	7	53,8±18,8
Всего	27	90,0±5,7	30	100*	27	90,0±5,7	24	96,0±4,0	14	56,0±13,2	13	52,0±13,8

Примечание: * наличие статистически достоверных различий в показателях контаминации в инфекционном ОРИТ по сравнению с хирургическим; $p < 0,05$.

Таким образом, обсемененность микромицетами объектов больничной среды обоих реанимационных отделений была достаточно высокой. При этом, если контаминация плесневыми микромицетами была фактически одинаковой, то уровень загрязненности дрожжевыми грибами в инфекционной реанимации значительно выше, чем в хирургической (в 1,6 раза).

При оценке интенсивности контаминации микромицетами воздушной среды в ОРИТ инфекционного и хирургического профилей выявили, что инфицированность плесневыми грибами составила $91,7 \pm 12,1$ и $197,9 \pm 44,1$ КОЕ/м³, дрожжевыми – $40,1 \pm 5,7$ и $2,5 \pm 1,2$ КОЕ/м³ соответственно. Общий уровень «грибковой нагрузки» в инфекционном ОРИТ ($66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³) достоверно не отличался от такового в хирургическом ($100,2 \pm 29,6$ КОЕ/м³). Это соответствует требованиям СанПин 2010 г., согласно которым общее количество микроорганизмов в помещениях класса чистоты А, куда относятся палаты интенсивной терапии и реанимационные залы, не должно превышать 200 КОЕ/м³ – до начала работы и 500 КОЕ/м³ – во время работы. Следует обратить внимание на то, что в данном документе не нормируют количество микромицетов в воздушной среде, как это имело место в СанПиНе 2003 года, в соответствии с которым наличие плесневых и дрожжевых микромицетов в воздухе вообще не допускалось. По результатам полученных исследований, на наш взгляд, необходимо нормирование количества микромицетов в воздухе медицинских организаций.

В воздушной среде обоих реанимационных отделений установили значительное преобладание плесневых грибов над дрожжевыми ($t > 2$, $p < 0,01$). Однако при сравнительной оценке интенсивности контаминации дрожжевыми грибами показано, что в воздухе инфекционного ОРИТ их содержится в 16 раз больше, чем в ОРИТ хирургического профиля (табл.2).

В ходе исследования различных предметов больничной среды изучаемых ОРИТ в смывах обнаружили как плесневые, так и дрожжевые грибы. Вместе с тем, интенсивность контаминации исследуемых объектов (тумбочки, дверные ручки, вентиляционные решетки) существенно различается. При преобладании на всех предметах в обоих ОРИТ дрожжевых грибов, наибольшую интенсивность загрязненности отмечали на вентиляционных решетках (в инфек-

ционной ОРИТ – $90954,0 \pm 2154,0$, в хирургической – $1280,0 \pm 238,2$ КОЕ/дм²), далее по убывающей – на тумбочках, аппаратах ИВЛ, дверных ручках. Плесневые грибы выявляли на всех объектах больничной среды в единичных случаях.

Установлена более высокая интенсивность контаминации объектов больничной среды дрожжевыми грибами в инфекционном ОРИТ. Так, превышение загрязненности поверхностей тумбочек, по сравнению с хирургическим ОРИТ, составило 40%, а вентиляционных решеток – в 70 раз. Это обусловлено, на наш взгляд, с одной стороны, недавно проведенным ремонтом в хирургической реанимации, с другой стороны – особым профилем инфекционных пациентов с массивной колонизацией различных локусов дрожжевыми грибами.

Обращает на себя внимание загрязненность грибами дверных ручек в сравниваемых отделениях. В инфекционном ОРИТ интенсивность контаминации их дрожжевыми микромицетами была $356,0 \pm 2,3$ КОЕ/дм², на дверных ручках хирургического отделения микромицеты не определяли. Различия в интенсивности контаминации дверных ручек могут быть обусловлены особенностями лечебно-диагностического процесса в этих отделениях. Пациенты в послеоперационном периоде круглосуточно находятся на постельном режиме и не соприкасаются с дверными ручками. В инфекционном ОРИТ больные нередко имеют возможность передвигаться по палате.

При исследовании кожных покровов рук выявили значительно более низкий уровень контаминации микромицетами персонала хирургического отделения (в 6 раз) по сравнению с пациентами, при этом доминировали дрожжевые грибы. На руках персонала инфекционного отделения микромицеты вообще не были обнаружены, что может быть связано с более качественной обработкой рук сотрудниками данного отделения.

При оценке этиологической структуры плесневых грибов, содержащихся в воздушной среде инфекционной ОРИТ, установили наличие 3 родов: *Aspergillus* – 40,3%, *Penicillium* – 27,8% и *Cladosporium* spp. – 10%. Микромицеты других родов наблюдали в единичных случаях – 21,9%.

В воздухе ОРИТ хирургического профиля наибольшую долю составили *Trichoderma viride* (43%).

Таблица 2.

Интенсивность контаминации микромицетами различных объектов больничной среды ОРИТ (КОЕ/дм²)

Наименование объекта	ОРИТ инфекционного отделения			ОРИТ хирургического отделения		
	Общее кол-во микромицетов в КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Общее кол-во микромицетов в КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)
Тумбочки	$417,5 \pm 14,5$	$12,0 \pm 0,5$	$**823,0 \pm 10,1$	$305,0 \pm 76,8$	$13,3 \pm 3,5$	$598,0 \pm 60,8$
Дверные ручки	$182,0 \pm 77,8$	$8,0 \pm 1,1$	$**356,0 \pm 2,3$	$0,4 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,3$	0
Вентиляционные решетки	$45484,0 \pm 1375,0$	$1,0 \pm 0,2$	$**90954,0 \pm 2154,0^*$	$659,7 \pm 218,8$	$39,5 \pm 2,9$	$*1280,0 \pm 238,2$
Аппарат ИВЛ	$432,0 \pm 101,2$	$35,1 \pm 1,3$	$829,0 \pm 6,3$	$389,0 \pm 125,5$	$48,2 \pm 1,1$	$730,0 \pm 5,7$
Руки пациентов	$6,6 \pm 1,8$	$2,4 \pm 0,7$	$10,8 \pm 2,1$	$5,4 \pm 1,9$	$3,0 \pm 0,6$	$7,7 \pm 1,6$
Руки персонала	0	0	0	$0,8 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,4$	0

Примечание: * достоверность различий интенсивности контаминации объектов больничной среды ($p < 0,05$).

** достоверность различий интенсивности контаминации объектов внешней среды хирургического и инфекционного отделений ($p < 0,05$).

Представителей рода *Aspergillus* spp. выявили в 34,1%, *Penicillium* spp. – в 19,6%, микромицеты других родов – в единичных случаях.

Споры *Aspergillus* spp. и *Trichoderma* spp., как известно, встречаются повсеместно, попадая в воздух из различных субстратов: почвы, органического и растительного материала, древесины и др. Они способны вызывать тяжелые инвазивные микозы у пациентов с иммунодефицитом – при лейкозах, хронических заболеваниях легких, трансплантации костного мозга, хронической почечной недостаточности, амилоидозе.

К факторам риска в хирургических стационарах относят сами оперативные вмешательства, искусственную вентиляцию легких во время операции и в послеоперационный период. Риск развития микотической пневмонии возрастает на 1% с каждым днем ИВЛ. Такие осложнения могут возникать при нарушении системы кондиционирования воздуха палат и операционных [7, 8].

Таким образом, при сравнительной оценке загрязненности микромицетами больничной среды отделений реанимации различного профиля отмечали ее высокий уровень. При этом были установлены некоторые особенности.

В воздушной среде сравниваемых ОРИТ уровень контаминации плесневыми грибами был одинаковым, а интенсивность ее в хирургическом отделении была значительно выше, чем в инфекционном ($t > 2$, $p < 0,05$). В воздухе инфекционного ОРИТ доминировали дрожжевые микромицеты как по уровню, так и по интенсивности инфицирования.

В смывах со всех предметов больничной среды в обоих ОРИТ преобладали дрожжевые грибы, однако интенсивность загрязнения ими была значительно выше в инфекционном отделении.

Родовая структура плесневых микромицетов в воздухе инфекционного и хирургического отделений отличалась. В инфекционном ОРИТ почти половину составили *Aspergillus* spp., а в хирургическом – *Trich-*

oderma viride, при отсутствии *Cladosporium* spp.

Руки медицинского персонала обоих отделений фактически не были инфицированы микромицетами.

Установленные в процессе исследования особенности, на наш взгляд, могут быть связаны не только с санитарно-техническим состоянием медицинских организаций, но и с профилем госпитализированных больных, а также со спецификой используемых медицинских технологий, что требует специального изучения. Это необходимо учитывать при диагностике, лечении и профилактике внутрибольничных микозов.

ВЫВОДЫ

1. Выявили высокий уровень контаминации больничной среды микромицетами в ОРИТ инфекционного и хирургического профилей, доля положительных проб в обоих отделениях превысила 90%.

2. Общая степень «грибковой нагрузки» в обоих ОРИТ не имела существенных различий. Она составила $66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³ в инфекционном отделении и $100,2 \pm 29,6$ КОЕ/м³ – в хирургическом, с преобладанием в воздухе обоих ОРИТ плесневых грибов.

3. В воздушной среде инфекционного ОРИТ доминировали *Aspergillus* spp., а в хирургическом – *Trichoderma viride*, доля их превышала 40%.

4. В ОРИТ хирургического профиля как по уровню, так и интенсивности контаминации отмечали преобладание в воздухе плесневых микромицетов, а в смывах с объектов больничной среды – дрожжевых.

5. Особенностью инфекционного ОРИТ является высокий уровень контаминации воздушной среды не только плесневыми, но и дрожжевыми грибами (по 100% в обоих случаях). При этом интенсивность загрязнения дрожжами воздуха и предметов больничной среды значительно превышает таковую в ОРИТ хирургического отделения (в 16 и более раз).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Бурова С.А. Инвазивные микозы в отделениях интенсивной терапии: обзор литературы (сообщение 1) // Ж. Инфекции в хирургии. – 2014. – Т. 12, №2. – С. 12-16.
2. Rupp M.J.G.T., Vehreschild J.J., Cornely O.A. Подходы к противогрибковой терапии у пациентов из группы высокого риска // Mycoses. – 2008. – Vol. 51, Suppl. 2. – P. 116-121.
3. Alendrup M.C., Sulim S., Holm, et al. Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia // Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – P. 3300-3308.
4. Филлипова Л.В., Фролова Е.В. *Cryptococcus neoformans* и врожденный иммунитет // Ж. Проблемы мед. микологии. – 2011. – Т. 13, №2. – С. 10-12.
5. Cornely O.A., et al. Диагностика и лечение инфекций, вызванных *Candida* // Clin. Microbiol. and Infec. – 2012. – Т. 18. – С. 19-37.
6. Караев З.О., Лебедева Т.Н. Патогенез кандидоза и аллергии к грибам рода *Candida*. – Баку: Тебид, 2007. – 215 с.
7. Аравийский Р.А., Клишко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. – СПб.: СПбМАПО, 2004. – 186 с.
8. Андреев В.А., Зачиняева В.А., Москалев А.В., Сбойчаков В.Б. Медицинская микология: руководство / Под ред. В.Б.Сбойчакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.

Поступила в редакцию журнала 31.07.2014
Рецензент: А.А. Степанова



ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ *STACHYBOTRYS* SPP. К НЕКОТОРЫМ СТРОИТЕЛЬНЫМ БИОЦИДАМ

**Доршакова Е.В. (н.с.)*, Павлова И.Э. (н.с.),
Богомолова Т.С. (зав. лаб.), Чилина Г.А.
(зав. лаб.), Васильева Н.В. (директор
института, проф. кафедры)**

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

©Коллектив авторов, 2014

*Провели оценку эффективности действия трех строитель-
ных биоцидов в отношении токсинообразующих микромицетов-
биодеструкторов рода Stachybotrys. Изучены штаммные разли-
чия чувствительности Stachybotrys spp. к исследуемым биоцидам.*

Ключевые слова: биодеструкция, биоциды, фунгистатическое
действие, фунгицидное действие

THE SENSITIVITY OF *STACHYBOTRYS* SPP. STRAINS TO SOME CONSTRUCTION BIOCIDES

**Dorchakova E.V. (scientific collaborator),
Pavlova I.E. (scientific collaborator),
Bogomolova T.S. (head of the laboratory),
Chilina G.A. (head of the laboratory),
Vasilyeva N.V. (director of the Institute,
professor of the chair)**

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

©Collective of authors, 2014

*The effectiveness of three construction biocides against toxin
remediation forming of micromycetes-biodestructors of Stachybotrys
genus has been evaluated. Strains differences in the sensitivity of
Stachybotrys spp. to examined biocides were studied.*

Key words: antifungal effect, biocides, biodegradation, fungistatic
action

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время по-прежнему актуальным является решение проблем, связанных с деятельностью микромицетов-биодеструкторов – разрушением ими строительных материалов, а также потенциальной опасностью для здоровья людей. *Stachybotrys* spp. обладают высокой целлюлазной активностью, нередко разрушают строительные конструкции и элементы декора, содержащие целлюлозу, синтезируемые ими микотоксины способны нанести вред здоровью людей. Наиболее токсичными являются макроциклические трихотеценовые микотоксины, оказывающие на организм цитотоксическое и нейротоксическое действия [1-7].

Важно оценить эффективность действия имеющихся в продаже строительных биоцидов в отношении *Stachybotrys* spp.

Цель исследования – изучить чувствительность *Stachybotrys* spp. к некоторым строительным биоцидам.

МАТЕРИАЛЫ:

1. Техногенные субстраты помещений (отделочные материалы).

2. Культуры 13 штаммов *Stachybotrys chartarum*: 12 – выделили из техногенных субстратов в помещениях Санкт-Петербурга и один – в помещении Краснодара (штамм № 7); один штамм *S. chlorochalonata* (№ 11) изолирован из отделочных материалов в помещении Санкт-Петербурга).

3. Для оценки противогрибковой активности были выбраны следующие «строительные биоциды»: «Средство от плесени» фирмы «Pufas», «Макросепт – Санитар» фирмы «Тур» и «Средство от плесени и грибка» фирмы «Element» в отношении четырнадцати штаммов *Stachybotrys* spp.

Все биоциды были включены в исследование в виде растворов, рекомендованных производителем.

4. В исследовании использовали следующие питательные среды:

- сусло - агар («НИЦФ»);
- картофельный агар: картофель – 300 г, вода дистиллированная – 1 л, глюкоза – 2 г, агар-агар – 20 г;
- картофельный отвар: картофель – 300 г, вода дистиллированная – 1 л, глюкоза – 2 г.

МЕТОДЫ

1. Выделение культур *Stachybotrys* spp. из техногенных субстратов

Взятие проб с пораженных микромицетами поверхностей осуществляли ватным тампоном, смоченным в 0,9% растворе натрия хлорида, а с грубого и шероховатого – скальпелем. Смывы и соскобы с поверхностей помещали в герметичные упаковки с сопроводительными этикетками и засеивали на питательные среды (сусло-агар и Сабуро-агар) в лабораторных условиях. Посевы инкубировали в термо-

* Контактное лицо: Доршакова Евгения Владимировна,
Тел.: (812) 303-51-40

статах при +28 °С и +37 °С в течение 14 суток [8], затем идентифицировали колонии микромицетов рода *Stachybotrys* по морфологическим и культуральным признакам.

Выделение *Stachybotrys* spp. в виде чистых культур из ассоциаций с другими микромицетами осуществляли путем переноса участка колонии (диаметр – до 2 мм) микробиологической иглой на картофельный агар в целях ускорения роста.

Видовую идентификацию чистых культур *Stachybotrys* spp. проводили по морфологическим признакам [9] с дальнейшим подтверждением методом сиквенирования в НИЛ молекулярно-генетической микологии.

2. Метод определения антифунгальной (фунгицидной и фунгистатической) активности строительных биоцидов

Действие «строительных биоцидов» изучали методом серийных разведений в жидкой питательной среде – картофельном отваре, избранном в связи с быстрым ростом на ней *Stachybotrys* spp. и низкой вероятностью контаминации другими микромицетами. Метод основан на выполнении последовательных двукратных разведений [10] вышеперечисленных строительных биоцидов.

Для исследования использовали рабочие растворы «строительных биоцидов», предварительно разведенные в 15 или 100 раз. Для каждого биоцида были поставлены ряды пробирок, в первые пробирки каждого ряда исследуемые вещества вносили в минимальном разведении, затем проводили их титрование до 8 пробирки путем двукратного разведения. В пробирки с питательной средой и биоцидом соответствующего разведения вносили взвеси спор *Stachybotrys* spp. в количестве 0,1 мл.

Для приготовления взвесей спор культуры 14 штаммов *Stachybotrys* spp. выращивали в течение 2 недель при +28 °С в пробирках на сусло-агаре. С поверхностей культур брали смывы конидий с постепенным добавлением 0,85% стерильного раствора натрия хлорида до густоты рабочих взвесей 1 ЕД по МакФарланду.

В исследовании каждого биоцида ставили 3 пробы контроля:

- 1) культуры (1 мл питательной среды + 0,1 мл рабочей взвеси тест-культуры);
- 2) питательной среды (1 мл питательной среды);
- 3) препарата (0,5 мл питательной среды + 0,5 мл исходного раствора препарата).

Все ряды подготовленных разведений с культурами и образцами контроля выдерживали при 28 °С в течение 7-10 суток до появления роста гриба в первом контроле. Минимальной фунгистатической (подавляющей) концентрацией (МПК) препарата считали концентрацию в последней пробирке ряда (максимальное разведение), в которой отсутствовал визуально определяемый рост микромицета.

Для определения фунгицидного действия препа-

рата делали высев штрихами микробиологической петлей на секторы агаризованного сусло-агара в чашках Петри из каждой пробирки, в которой визуально отсутствовал рост тест-культуры, а также из первой контрольной пробирки. Чашки с высевами ставили в термостат при 28 °С на срок до появления роста колоний в контрольном секторе, после чего учитывали рост микроскопических грибов во всех секторах.

Минимальной фунгицидной концентрацией (МФК) считали максимальное разведение препарата в пробирке, высев из которой на плотную питательную среду был негативным. Затем проводили расчет МПК и МФК в объемных процентах для соответствующих активных разведений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период 2009-2013 гг. среди 140 помещений Санкт-Петербурга и Ленинградской области в 14 (10% от общего количества обследованных помещений) была обнаружена контаминация техногенных субстратов микромицетами рода *Stachybotrys*. Их количество в образцах строительных и отделочных материалов составляло 2-687500 КОЕ/дм². *Stachybotrys* spp. был выявлен в очагах биоповреждений на гипсокартоне, виниловых и бумажных обоях, а также в минеральной вате и цементно-песчаной смеси.

Все изученные биоциды обладали фунгицидной и фунгистатической активностями в отношении *Stachybotrys* spp. Исходя из полученных значений МПК (% об.) и МФК (% об.), биоциды можно расположить в порядке убывания их активности: «Макросепт – Санитар» фирмы «Tury» и «Средство от плесени и грибка» фирмы «Element», «Средство от плесени» фирмы «Pufas» (Рис.1).

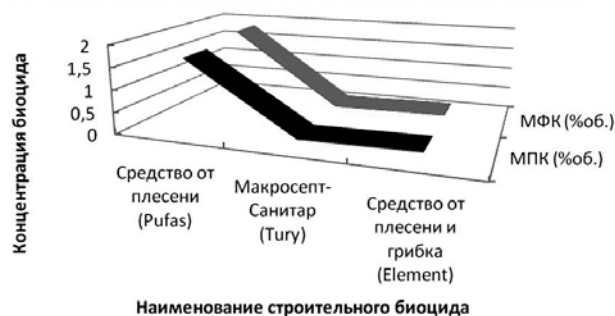


Рис. 1. Средние значения МПК (% об.) и МФК (% об.) исследованных «строительных биоцидов» в отношении 14 штаммов *Stachybotrys* spp.

Значения МПК (% об.) и МФК (% об.) «Макросепт – Санитар» («Tury») и «Средство от плесени и грибка» («Element») в отношении большинства штаммов *Stachybotrys* spp. незначительно отличались друг от друга, а таковые «Средство от плесени» («Pufas») обладали более низким фунгистатическим и фунгицидным действиями (таблицы 1 и 2).

Таблица 1

Фунгицидная и фунгистатическая активности строительных биоцидов против штаммов *Stachybotrys* spp.

№ штамма <i>Stachybotrys</i> spp.	Наименование строительного биоцида (минимальные активные разведения)					
	«Средство от плесени» (Pufas)		«Макросепт-Санитар» (Tury)		«Средство от плесени и грибка» (Element)	
	МПК	МФК	МПК	МФК	МПК	МФК
1	1:60	1:30	1:1600	1:800	1:800	1:400
2	1:60	1:60	1:1600	1:800	1:400	1:800
3	1:120	1:60	1:800	1:800	1:800	1:800
4	1:120	1:120	1:1600	1:1600	1:1600	1:800
5	1:60	1:60	1:800	1:800	1:400	1:400
6	1:120	1:120	1:3200	1:1600	1:1600	1:1600
7	1:60	1:60	1:800	1:800	1:400	1:400
8	1:30	1:30	1:800	1:800	1:1600	1:1600
9	1:60	1:60	1:1600	1:1600	1:800	1:400
10	1:60	1:60	1:1600	1:800	1:1600	1:800
11	1:120	1:120	1:1600	1:1600	1:800	1:800
12	1:60	1:60	1:1600	1:1600	1:400	1:400
13	1:30	1:30	1:400	1:400	1:1600	1:1600
14	1:60	1:60	1:1600	1:800	1:1600	1:800

Таблица 2

Активность строительных биоцидов в отношении различных штаммов *Stachybotrys* spp. (в объемных % рабочего раствора)

№ штамма <i>Stachybotrys</i> spp.	Наименование строительного биоцида					
	«Средство от плесени» (Pufas)		«Макросепт-Санитар» (Tury)		«Средство от плесени и грибка» (Element)	
	МПК (%об.)	МФК (% об.)	МПК (%об.)	МФК (%об.)	МПК (%об.)	МФК (%об.)
1	1,66	3,33	0,0625	0,125	0,125	0,25
2	1,66	1,66	0,0625	0,125	0,25	0,125
3	0,83	1,66	0,125	0,125	0,125	0,125
4	0,83	0,83	0,0625	0,0625	0,0625	0,125
5	0,83	0,83	0,125	0,125	0,25	0,25
6	1,66	1,66	0,031	0,0625	0,0625	0,0625
7	1,66	1,66	0,125	0,125	0,25	0,25
8	3,33	3,33	0,125	0,125	0,0625	0,0625
9	1,66	1,66	0,0625	0,0625	0,125	0,25
10	1,66	1,66	0,0625	0,125	0,0625	0,125
11	0,83	0,83	0,0625	0,0625	0,125	0,125
12	1,66	1,66	0,0625	0,0625	0,25	0,25
13	3,33	3,33	0,25	0,25	0,0625	0,0625
14	1,66	1,66	0,0625	0,125	0,0625	0,125
Средние значения	1,66	1,84	0,092	0,112	0,134	0,156

Наибольшими фунгицидной и фунгистатической активностями обладал строительный биоцид «Макросепт – Санитар» («Tury»), его средняя подавляющая концентрация на все штаммы *Stachybotrys* spp. составила 0,092% об., а средняя фунгицидная – 0,112% об.; средние значения МПК и МФК строительного биоцида «Средство от плесени и грибка» («Element») – 0,156 и 0,134% об. соответственно. Значительно более низкие показатели средних значений МПК и МФК были выявлены у биоцида «Средство от плесени» («Pufas») – 1,84; 166% об. Следует отметить близкие значения показателей минимальной фунгицидной концентрации и минимальной фунгистати-

ческой (подавляющей) концентраций, соответствующие фунгицидному действию. Разница между МФК и МПК при серийном титровании составляла не более 1 разведения.

Среди штаммов *Stachybotrys* spp. можно выделить штамм № 4,5,11 как наиболее чувствительный к действию строительных биоцидов, а также № 2,6, 8,13 как наиболее устойчивые (Рис. 2 и 3).

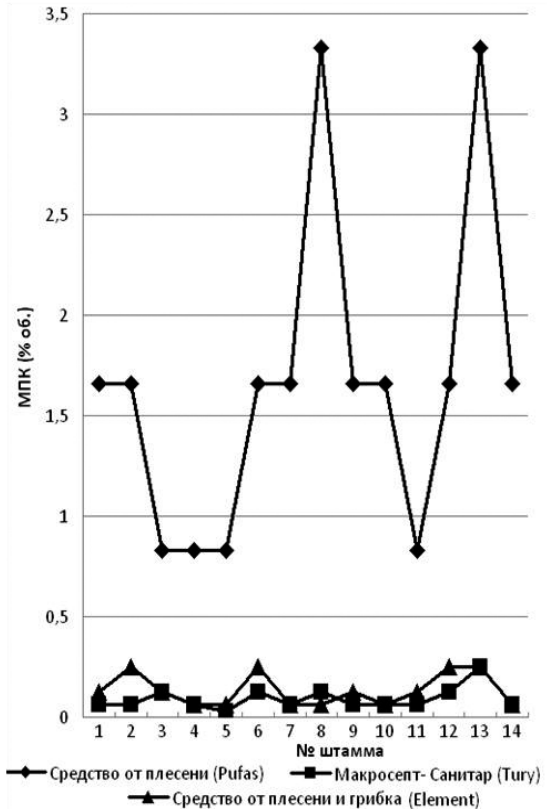


Рис. 2. МПК (% об.) в отношении «строительных биоцидов» к различным штаммам *Stachybotrys* spp.

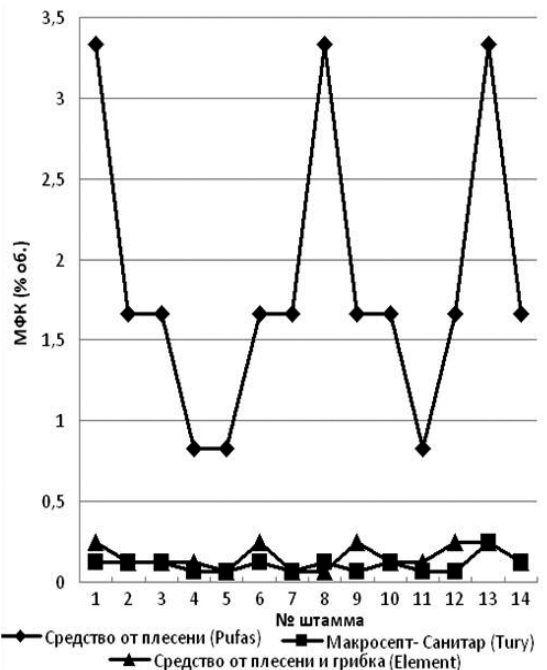


Рис. 3. МФК (% об.) «строительных биоцидов» в отношении различных штаммов *Stachybotrys* spp.

В дальнейшем запланировано продолжить работу по тестированию строительных биоцидов в связи с регулярным обновлением ассортимента противогрибковых средств на российском рынке.

ВЫВОДЫ

1. «Строительные биоциды», исследуемые в данной работе, активны в отношении изучаемых штаммов *Stachybotrys* spp. в диапазоне разведений 1:30 –

1:3200.

2. Наиболее эффективными противогрибковыми средствами в отношении *Stachybotrys* spp. являются «Макросепт – Санитар» фирмы «Tury» и «Средство от плесени и грибка» фирмы «Element».

3. Наименее эффективным противогрибковым средством в отношении *Stachybotrys* spp. является «Средство от плесени» фирмы «Pufas».

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Pestka J.J., Yike I., Dearborn D.G., et al. *Stachybotrys chartarum*, trichothecene mycotoxins and damp building – related illness: new insights into a public health enigma // *Toxicol. Sciences*. – 2008. – Vol. 104. – P. 4-26.
2. Cameron D.G. Toxicity profile of *Stachybotrys chartarum* // A thesis in environmental toxicology/ Submitted to the Graduate Faculty of Texas Tech University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of science. – 2009.
3. Andersen B., Nielsen K.F. and Jarvis B.B. Characterization of *Stachybotrys* from water-damaged buildings based on morphology, growth, and metabolite production // *Mycologia*. – 2002. – Vol. 94. – P. 392-403.
4. Scott A.M. *Stachybotrys chartarum* (or *S. atra* or *S. alternans*): Review of toxicological literature. Integrated Laboratory Systems, Inc. Research Triangle Park, North Carolina. – 2004.
5. Jarvis B.B. *Stachybotrys chartarum*: A fungus for our time // *Phytochemistry*. – 2003. - Vol. 64. – P. 53-60.
6. Hossain M.A., Ahmed M.S. and Ghannoum M.A. Attributes of *Stachybotrys chartarum* and its association with human disease // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 113. – P. 200-208.
7. Васильева Н.В., Елинов Н.П. Микроорганизмы-контаминанты и патогены – индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей (учебное пособие) – СПб.: КОСТА, 2009. – 224 с.
8. Доршакова Е.В. Морфолого-физиологические особенности токсинообразующих грибов - биодеструкторов из рода *Stachybotrys* // *Проблемы медицинской микологии*. – 2011. – Т. 13, №3. – С. 13-21.
9. Доршакова Е.В., Елинов Н.П., Павлова И.Э. и др. Микромицеты в естественной среде обитания и в помещениях – их потенциальная опасность для здоровья людей // *Проблемы медицинской микологии*. – 2012. – Т. 14, №3. – С. 53-57.
10. Samson R.A., Houbraken J., Thrane U., et al. Food and indoor Fungi: CBS laboratory manual series. CBS. KNAW. Fungal biodiversity Centre Utrecht The Netherlands. – 2010.
11. XII государственная Фармакопея Российской Федерации: Часть I. – М.: Медицина, 2007. – 684 с.

Поступила в редакцию журнала 18.08.2014

Рецензент: И.А. Босак



ВВЕДЕНИЕ

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *CANDIDA* *ALBICANS*

**Пашинина О.А. (с.н.с.), Карташова О.Л.
(зав. лаб.), Уткина Т.М. (с.н.с.), Потехина
Л.П. (с.н.с.)***

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза
УрО РАН, Оренбург, Россия

© Коллектив авторов, 2014

Изучали биологические свойства Candida albicans при остром и хроническом течении инфекционного процесса. Определены свойства грибов, характеризующие штаммы, выделенные при разном течении инфекционно-воспалительных заболеваний. Грибы, выявленные при остром течении заболевания, характеризовались более высокими значениями фосфолипазной и антиоксидантной активностей, а у штаммов, изолированных при хроническом течении процесса, значительно выражены персистирующие характеристики и выше маркер антимикотикорезистентности. Полученные результаты могут быть использованы для оценки течения инфекционного процесса.

Ключевые слова: биологические свойства, инфекционный процесс, *Candida albicans*

CHARACTERISTIC OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF *CANDIDA ALBICANS* CLINICAL ISOLATES

**Pashinina O.A. (senior scientific
collaborator), Kartashova O.L. (head of the
laboratory), Utkina T.M. (senior scientific
collaborator), Potekhina L.P. (senior
scientific collaborator)**

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural
Branch of Russian Academy of Sciences, Orenburg,
Russia

© Collective of authors, 2014

Biological properties of Candida albicans at the acute and chronic infectious process have been studied. Properties of fungi, characterizing the strains, isolated at different course of infectious and inflammatory diseases were defined. Fungi which were detected at acute course of a disease were characterized by higher values of phospholipase and antioxidant activities, and in strains allocated from chronic course of process, expressed more considerably persistent characteristics and higher marker of the antimycotic resistance. The obtained results can be used to assess of infectious process course.

Key words: biological properties, *Candida albicans*, infectious process

* Контактное лицо: Потехина Лидия Петровна,
тел.: 8 (3532) 77-44-63

В последние годы отмечают изменение характера течения инфекций в сторону возрастания доли их тяжелых и хронических форм, при этом нередко этиологическим фактором являются условно-патогенные *Candida* spp. Установлено значение комплекса факторов персистенции бактерий в определении затяжного характера иницируемого ими гнойно-воспалительного процесса [1], хронизации инфекционного процесса и формировании резидентного бактерионосительства [2-4].

Однако роль биологических свойств, в том числе – факторов персистенции *C. albicans* при разных формах течения инфекционного процесса, изучена недостаточно.

Цель работы – изучение биологических свойств *C. albicans* при остром и хроническом инфекционном процессах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были изучены 154 штамма *Candida albicans*, в том числе – 36, выделенных от больных острым и хроническим катаральным гингивитом; 64 – от женщин, страдающих сальпингоофоритом (острое и хроническое течение), 54 – от пациентов с острым и хроническим бронхитом. Штаммы были получены из бактериологической лаборатории ЦРБ Оренбургского района Оренбургской области.

Культуры изучали на наличие липолитической активности [5], способности образовывать биопленки по O'Toole G. с соавт. (2000), антилизоцимной (АЛА) по Бухарину О.В. (1999), антилактоферриновой (АЛФА) по Бухарину О.В. с соавт. (2003) и sIgA – протеазной [6] активностей. Фосфолипазную активность (ФЛА) определяли согласно Богомоловой Т.С. (1990) и рассчитывали показатель фосфолипазной активности (Кфла), равный отношению диаметра зоны помутнения среды к диаметру колонии. Антиоксидантную активность (АОА) грибов устанавливали амперометрическим методом по Яшину А.Я. (2003), чувствительность к антимикотикам: нистагину, итраконазолу, флуконазолу, клотримазолу, кетоконазолу, амфотерицину В (ЗАО «НИЦФ», Санкт-Петербург) – диско-диффузионным методом согласно инструкции по использованию дисков с противогрибными препаратами научно-исследовательского центра фармакотерапии. Для количественной характеристики антимикотикорезистентности использовали показатель МР – маркер резистентности, рассчитанный как отношение числа штаммов, резистентных к четырем и более антимикотикам, к общему числу штаммов по Бондаренко В.И. и Ференц А.И. (1990).

Статистическая обработка результатов исследования включала применение общепринятых методов вариационной статистики с применением программ Excel и Биостатистика.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами определен комплекс биологических свойств *C. albicans* (биофиль), выделенных от пациентов при остром процессе (1 группа, n=31); с обострением хронического бронхита (2 группа, n=23); у женщин с острыми (3 группа, n=40) и хроническими воспалительными заболеваниями придатков матки (4 группа, n=24); у лиц с острым (5 группа, n=20) и хроническим (5 группа, n=16) гингивитом.

Результатами сопоставления частоты встречаемости изученных биологических свойств показано, что *C. albicans*, изолированные при разных формах течения инфекционного процесса из различных биотопов тела человека, в 100% случаев обладали способностью к инактивации факторов естественной резистентности организма (АЛА, АЛФА, sIgA-протеазная активность) и антиоксидантной активностью.

Штаммы *C. albicans* с ФЛА при хронической форме инфекционно-воспалительных заболеваний выявляли в 1,6-2,8 раза реже, чем при острой. Так, при хроническом процессе штаммы, выделенные из репродуктивного тракта, в 32% случаев обладали ФЛА, при остром – в 55%, из респираторного тракта – в 20% и 59%, из ротовой полости – в 50% и 80% случаев соответственно.

Способность к образованию биопленок имели все штаммы, полученные из репродуктивного тракта, 71±6,6% штаммов – из респираторного тракта и 25±6,8% – из ротовой полости.

Также среди изученных *C. albicans* не наблюдали существенных различий по липолитической активности (71±5,4% и 72±4,9% изолятов).

На следующем этапе работы у всех штаммов оценивали уровень выраженности персистентных характеристик, способность к образованию биопленок, маркер резистентности к антимикотикам, фосфолипазной и антиоксидантной активности (Рис.).

Установлено, что выраженность факторов персистенции (АЛА, АЛФА, sIgA-протеазная активность) у *C. albicans* при хронической форме течения инфекционно-воспалительного процесса значительно превышала таковую у грибов, обнаруженных при остром течении заболевания, вне зависимости от биотопа выделения.

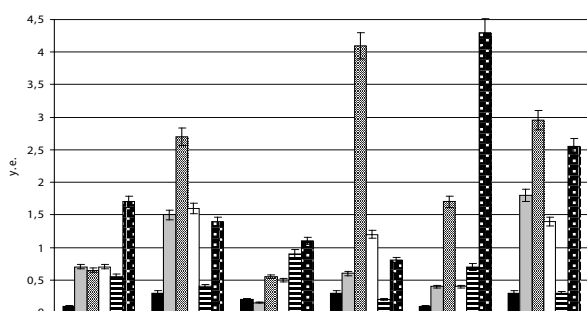


Рис. Выраженность биологических свойств *C. albicans*, выделенных при различных формах течения инфекционного процесса

Среднее значение АЛА у *C. albicans* 2, 4 и 6 групп составило 1,5±0,05, 0,6±0,1, 1,8±0,1 мкг/мл соответственно, что было в 2-4 раза выше, чем у штаммов 1, 3 и 5 групп – 0,8±0,2, 0,2±0,04, 0,5±0,01 мкг/мл ($p < 0,05$).

У грибов 2, 4 и 6 групп выраженность АЛФА также превышала таковую у грибов 1, 3 и 5 групп. Способность к инактивации лактоферрина *C. albicans* 4 группы составила 412,6±58,2 нг/мл, что было в 7,36 раза выше, чем в 3 группе (56±12,1 нг/мл); в 6 и 5 группах АЛФА – 295,3±4,7 нг/мл и 173,3±6,7 нг/мл соответственно, у 2 и 1 групп – 265,8±16,0 нг/мл и 72,5±8,5 нг/мл ($p < 0,01$). Способность штаммов 4 группы к инактивации sIgA равнялась 1,2±0,1 мкг/мл, тогда как 3 группы – 0,5±0,03 мкг/мл. В 2 и 6 группах sIgA-протеазная активность была выше (1,4±0,04 мкг/мл и 1,5±0,05 мкг/мл соответственно), чем в 1 и 5 группах (0,4±0,03 мкг/мл и 0,8±0,06 мкг/мл) ($p < 0,01$).

Число резистентных к антимикотикам штаммов *C. albicans*, выделенных из разных биотопов тела человека при хронической форме заболевания, было в 1,5-3,0 раза больше, чем при острой. Так, МР изолятов 1 группы составил 0,12±0,01; 2-ой – 0,25±0,01; 3-ей и 4-ой – 0,20±0,02 и 0,3±0,02; 5-ой и 6-ой – 0,10±0,005 и 0,3±0,012 соответственно.

При анализе выраженности фосфолипазной активности *C. albicans* обнаружили обратную закономерность: у штаммов 1, 3 и 5 групп $K_{ФЛА}$ был значительно выше по сравнению с $K_{ФЛА}$ 2, 4 и 6 групп – 0,64±0,02, 0,86±0,02, 0,7±0,02 против 0,36±0,01, 0,36±0,01, 0,3±0,01 соответственно ($p < 0,05$).

При изучении АОА штаммов, полученных при разных формах течения инфекционного процесса, было установлено, что значения признака у *C. albicans* 1 и 3 групп также превышали значения АОА у 2 и 4 групп (1,7±0,28 ед. кв. и 1,1±0,22 ед. кв. против 1,4±0,22 ед. кв. и 0,8±0,15 ед. кв.), в 3 и 4 группах АОА была равна 4,3±0,34 ед. кв. и 2,6±0,25 ед. кв. соответственно ($p < 0,05$).

Вместе с тем, не наблюдали существенных различий по способности образовывать биопленки между изученными изолятами: 1,2±0,2 – у штаммов 1 группы против 1,12±0,1 – у 2 группы; 1,22±0,02 (3 группа) против 1,2±0,02 (4 группа) ($p > 0,05$); значения признака у штаммов 5 и 6 групп было одинаковым и составляло 1,05±0,01.

При исследовании выявили биологические свойства, по которым изученные группы штаммов различались между собой. Так, грибы, изолированные при остром течении заболевания, характеризовались более высокими значениями фосфолипазной и антиоксидантной активностей, в то время как у штаммов, полученных при хроническом течении процесса, были значительно выражены персистентные характеристики и выше маркер антимикотикорезистентности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлена связь между формой течения инфекционного процесса и биологическими свойствами

выделенных штаммов *C. albicans*.

Обнаружением нами антиоксидантной активности у абсолютного большинства исследуемых штаммов с более высоким уровнем ее выраженности при остром течении заболевания подтвержден тот факт, что антиоксиданты защищают возбудителя от окислительного стресса и могут быть факторами его выживания на ранних стадиях болезни [7].

Высоким уровнем выраженности фосфолипазной активности у грибов при остром течении заболевания показана несомненная значимость этого признака в реализации инфекционного процесса, что подтверждено результатами работы [8].

Напротив, *C. albicans*, выделенные при хроническом течении инфекционно-воспалительных заболеваний, обладали комплексом факторов персистен-

ции с высоким уровнем выраженности признаков. Полученные результаты подтверждают данные Черновой О.Л. с соавт. (1997) о диагностической значимости персистентных характеристик бактерий при хронических воспалительных процессах.

Повышение антимикотикорезистентности в ходе заболевания косвенно свидетельствует о высоких адаптационных способностях грибов к проводимому лечению, что определяет его недостаточную эффективность.

Таким образом, биологические свойства *C. albicans*, характеризующие штаммы, выделенные при разном протекании инфекционно-воспалительных заболеваний, могут быть использованы для оценки течения инфекционного процесса.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамзон О.М., Карташова О.Л., Вальшев А.В. и др. Биологические свойства микроорганизмов как основа прогнозирования тяжести гнойно-воспалительных заболеваний легких и плевры // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2004. – №3. – С. 9-12.
2. Абдрахманов А.Р., Смолягин А.И., Карташова О.Л. и др. Влияние бальнеологического лечения на характеристику биологических свойств микрофлоры и местный иммунитет репродуктивного тракта при хронических воспалительных заболеваниях придатков // Акуш. и гинекол. – 2006. – №5. – С. 24-28.
3. Карташова О.Л., Киргизова С.Б., Потехина Л.П. и др. Диагностическое значение персистентных характеристик стафилококков при бактерионосительстве // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2007. – №5. – С. 13-16.
4. Карташова О.Л., Норкина А.С., Чайникова И.Н. и др. Фенотипическая характеристика стафилококков и местный иммунитет при бактерионосительстве // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2009. – №4. – С. 99-103.
5. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др. Практикум по микробиологии. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
6. Бухарин О.В., Чайникова И.Н., Вальшев А.В. и др. Способ определения антииммуноглобулиновой активности микроорганизмов. Патент РФ на изобретение №2236465. Бюлл. №26 от 20.09.2004.
7. Абрамова О.С., Пасечник Т.Д., Аверьянов А.А. и др. Фитопатогенный гриб *Magnaporthe grisea* выделяет антиоксиданты, защищающие его от окислительного повреждения // Совр. микология в России. – 2008. – Т.2. – С. 115-116.
8. Дробкова В.А. Биологические особенности грибов рода *Candida*, изолируемых из вагинального биотопа женщин репродуктивного возраста: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Пермь, 2010. – 22 с.

Поступила в редакцию журнала 15.06.2014

Рецензент: С.М. Игнатьева



ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Журнал «Проблемы медицинской микологии» нацелен на публикацию оригинальных, ранее не опубликованных в других изданиях в России или за рубежом, статей, научных обзоров, дискуссий, рецензий на книги, методических разработок, хроники и информации. Предварительные сообщения не принимаются. Статьи необходимо сопровождать направлением от учреждения (-й), в котором (-ых) выполнена работа.

Статьи представляются на русском языке с обязательным расширенным резюме на английском языке объемом не более 20 строк. Можно представлять статьи на английском языке с рефератом на русском языке в объеме до 20 строк.

Статьи представляются в редакцию по почте с приложением диска (с распечаткой текста на бумаге в 2-х экземплярах) или по электронной почте (mycobiota@szgmu.ru), подготовленными в текстовом редакторе Win Word. Статьи должны быть напечатаны шрифтом № 12 через 1,5 интервала. Все страницы должны быть пронумерованы.

Размер рукописей не должен превышать 12 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы, фотографии и подписи к ним, список цитированной литературы, представляемые на отдельных листах. Количество иллюстраций не должно превышать двух страниц при их плотном размещении друг к другу.

Рукопись статьи подписывается автором (соавторами), на отдельной странице написать ф.и.о. (полностью) одного из авторов, его должность, адрес электронной почты (для связи) и номер телефона.

Авторское право.

Согласно статье 1228 (глава 69) Гражданского Кодекса РФ часть 4, раздел VII (Права на результаты интеллектуальной деятельности и средства индивидуализации), автором результата интеллектуальной деятельности признается гражданин, творческим трудом которого создан такой результат.

Не признаются авторами результата интеллектуальной деятельности граждане, не внесшие личного творческого вклада в создание такого результата, в том числе оказавшие его автору только техническое, консультационное, организационное или материальное содействие или помощь либо только способствовавшие оформлению прав на такой результат или его использованию, а также граждане, осуществлявшие контроль за выполнением соответствующих работ.

Правила оформления статей:

Сначала пишется **название статьи** заглавными буквами (шрифт 12 – жирный). Затем через 2 интер-

вала указываются **фамилии авторов, инициалы и должности** (шрифт 12 – жирный). Далее через 2 интервала пишется **название учреждения**, в котором выполнена работа. Затем через 2 интервала печатать **резюме на русском языке** (без написания слова «резюме»). Через 2 интервала указать до 7 **ключевых слов**. Затем через 2 интервала (шрифт – 12) пишется **заголовок на английском языке, фамилии, инициалы и должности автора (-ов), резюме** (без написания слов «abstract, summary») **и ключевые слова** (не более 7).

Затем через 3 интервала и с красной строки печатать **текст статьи** в следующем порядке: краткое **введение, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы, цитированная литература.**

Латинские названия грибов необходимо писать курсивом; если в заголовке названы род и вид гриба, то после него следует указывать автора, впервые писавшего вид (например, *Aspergillus fumigatus* Fres.); в тексте такая форма уже не повторяется и при повторном упоминании гриба название рода сокращают до первой буквы (например, при первом написании в тексте *Aspergillus fumigatus*, при повторениях - *A. fumigatus*).

Автор (-ы) вида должен (-ны) быть указан (-ы) не только в заголовке к статье, но и при первом упоминании в тексте (если нет этого в заголовке) и в возможном списке видов. В подписях к рисункам и в надписях к таблицам полные названия рода и вида приводятся один раз.

Названия учреждений при первом упоминании в тексте даются полностью, и сразу же в скобках приводят их принятые сокращения, которыми пользуются в последующем тексте статьи, например, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (ГБОУ ВПО СЗГМУ), Московская государственная медицинская академия им. И.М. Сеченова (ММА им. Сеченова) и т.д.

Четко писать и различать О, о, и 0 (ноль), 1 и I (единицу и заглавную латинскую И), I и J, q и g, заглавные буквы О по-русски и Q по-английски. Подстрочные примечания должны иметь сквозную нумерацию по всей статье. Содержание таблиц не должно дублировать текст. Таблицы должны иметь порядковые номера, если их больше одной. Текст таблиц печатать через 2 интервала.

Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и т.д.), названия лекарственных средств - Государственной Фармакопее, единицы физических величин - международной системе единиц (СИ).

В тексте при ссылке на работу иностранных авторов их фамилии приводятся в русском написании и рядом в скобках - в оригинальном написании с указанием года опубликования работы, например: «Штайб (Staub, 1992) наблюдал...». Ссылки на работы располагать в хронологическом порядке годов опубликования работ.

Литература, упоминаемая в тексте (не должна быть старше 10 лет), приводится списком в конце статьи **в том порядке, в котором она цитирована в тексте работы;** соответствующие номера статей проставляются в тексте в квадратных скобках.

Рисунки (фото) должны иметь порядковые номера, на которые следует ссылаться в тексте статьи. Рисунки (фото) прилагаются в отдельном конверте (фотоснимки - в двух экземплярах) или в электронном виде. На микрофотографиях изображается масштаб, в подписях к ним необходимо указывать собственные увеличения объектива и окуляра, и, возможно, коэффициент усиления увеличения за счет дополнительных оптических приспособлений (например, для некоторых бинокулярных микроскопов $\times 1,5$). На обороте рисунка указываются мягким карандашом без нажима фамилия автора, номер и желательное уменьшение рисунка (фото), верх рисунка.

Оформление списка литературы.

1. Для книг указываются фамилии и инициалы авторов, название книги, место издания (город), издательство, год, общее количество страниц, например: *Васильева Н.В., Елинов Н.П.* Микроорганизмы - контаминанты и патогены - индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей (учебное пособие) / Под ред. Н. П. Елинова. – СПб.: КОСТА, 2009. – 224 с.

2. Для статей, опубликованных в журналах, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы статьи, например: *Brinkman C., Vergidis P, Uhl J.* PCR-electrospray ionization mass spectrometry for direct detection of pathogens and antimicrobial resistance from heart valves in patients with infective endocarditis // *J.of Clin. Microbiol.* – 2013. – Vol. 51, №7. – P. 2040-2046.

3. Для статей, опубликованных в сборниках, ука-

зываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название сборника, место издания (город), издательство, год, первая и последняя страницы статьи, например: *Елинов Н.П.* Низшие микромицеты и вызываемые ими микозы – беспокойная проблема будущего // Материалы 3-го Всеросс. конгресса по мед. микологии. – М., 2005. – Т. VI. – С. 44-46.

Для авторефератов диссертаций, например: *Хабидулина Ф.М.* Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока европейской части России: Автореф. дисс... док. биол. наук. – Сыктывкар, 2009. – 40 с.

Редакция оставляет за собой право сокращать статьи и вносить редакционные исправления.

В случае возвращения автору рукописи статьи на переработку дата ее поступления сохраняется в течение 4 месяцев. При отклонении работы статья не подлежит возвращению автору.

В конце статьи, принятой к публикации, приводится фамилия рецензента.

Частота выпуска журнала: 1 номер в квартал, 1 том в год.

Все статьи публикуются бесплатно.

По вопросам размещения рекламы обращаться по адресу редакции (см. ниже).

Вся корреспонденция направляется по адресу: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28, НИИ ММ им.П.Н.Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Тел: (812) 303-51-45;

тел./факс: (812) 510-62-77

E-mail: mycobiota@szgmu.ru;

egukova@mail.ru

Заведующая редакцией: Гукова Елена Станиславовна

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ СТАТЕЙ!

Направляя статью для размещения в журнале ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (далее – Университет) «Проблемы медицинской микологии» автор статьи предоставляет Академии право использовать статью в любой форме и любым способом, предусмотренными п. 2 ст. 1270 Гражданского Кодекса Российской Федерации, в том числе: воспроизведение статьи; распространение статьи путем продажи или иного отчуждения его оригинала или экземпляров; сообщение в эфир; сообщение по кабелю; перевод или другая переработка статьи; доведение статьи до всеобщего сведения; передача права использования статьи третьим лицам (сублицензионный договор); извлечение и обработка метаданных статьи.

Автор статьи гарантирует, что он является обладателем передаваемых Университету прав (правообладателем).

Территория, на которой допускается использование прав на статью, не ограничена.

Передача прав на статью осуществляется без выплаты автору статьи вознаграждения.

Университет вправе использовать статью в течение срока действия исключительного права правообладателя на статью.

Автор предоставляет Университету право обработки своих персональных данных.

В связи с вышеизложенным, редакционная коллегия журнала «Проблемы медицинской микологии» просит авторов, **вместе с сопроводительным письмом от организации, присылать документ с текстом следующего содержания:**

«Направляя статью для размещения в журнале ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (далее – Университет) «Проблемы медицинской микологии» я (мы) _____ (указать ФИО) предоставляю (ем) Университету право использовать мою (нашу) статью _____ (название статьи) в любой форме и любым способом, указанном в «Правилах предоставления рукописей авторами» журнала «Проблемы медицинской микологии».

Сопроводительное письмо к статье должно быть написано и подписано собственноручно автором (авторами) статьи.



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

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

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»
Per. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780
Журнал включен 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 01.10.2014. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 12. Тираж 999 экз.