

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 20 №1



Problems in medical mycology

Vol.20 №1

2018

ЛОЦЕРИЛ® – СТИЛЬНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГРИБКА НОГТЕЙ

ТЕПЕРЬ ПО ЦЕНЕ
ДО

40%

НИЖЕ



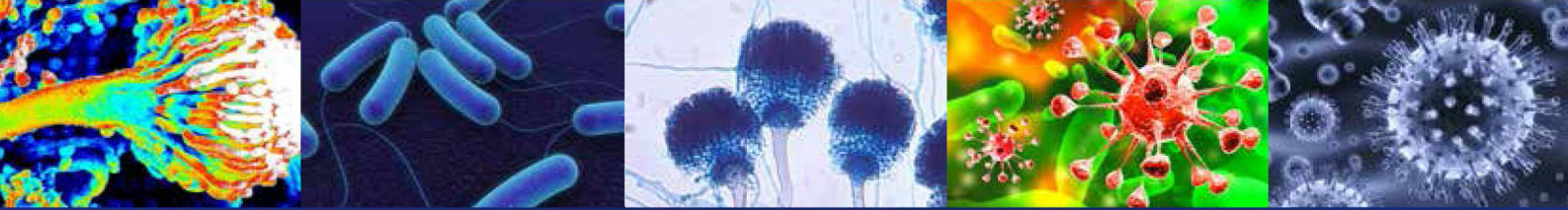
• GALDERMA | Галдерма

Рег. удостоверение N012558/01

* ООО Галдерма снижает отпускную цену на препарат Лоцерил® на 40% с 1 марта 2018 года.

** Снижение цены производителем не гарантирует снижение цены для потребителя

**ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
НЕОБХОДИМО ПРОКОНСУЛЬТИРОВАТЬСЯ СО СПЕЦИАЛИСТОМ**



РАСПИСАНИЕ ЦИКЛОВ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ МИКОЛОГИИ, БАКТЕРИОЛОГИИ И ВИРУСОЛОГИИ

РАСПИСАНИЕ ЦИКЛОВ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ, АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

КАФЕДРА МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ СЗГМУ ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА на 2018 год

Наименования кафедр и циклов	Кол-во часов	Сроки проведения
Бактериология (для биологов)	144	12.09 – 2.10
Бактериология. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для бактериологов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии и ЛПУ)	216	12.09 – 12.10 16.10 – 16.11 21.11 – 21.12
Острые кишечные инфекции. Современные подходы к микробиологической диагностике (модуль) (для бактериологов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии и ЛПУ)	36	13.12 – 19.12
Бактериология. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для лаборантов-бактериологов со средним медобразованием)	144	10.05 – 30.05
Лабораторная диагностика. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для лаборантов-бактериологов со средним медицинским образованием)	144	10.05 – 30.05
Лабораторное дело. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для лаборантов-бактериологов со средним медобразованием ФГУЗ Центров гигиены и эпидемиологии и ЛПУ)	144	10.05 – 30.05
Лабораторная диагностика микозов кожи (для врачей клинической лабораторной диагностики, бактериологов, микологов, дерматовенерологов)	144	14.05 – 2.06
Микология (модуль) (для врачей-бактериологов)	36	4.06 – 9.06
Лабораторная микология (для врачей клинической лабораторной диагностики, врачей-бактериологов, паразитологов, микологов, эпидемиологов, инфекционистов, дерматовенерологов, биологов)	144	3.09 – 22.09 24.09 – 13.10 15.10 – 3.11 12.11 – 1.12 3.12 – 22.12
Резистентность микроорганизмов (модуль) (для врачей-бактериологов)	36	13.12 – 19.12
Бактериология. Профессиональная переподготовка. Прием экзамена на диплом и сертификат специалиста (для вирусологов, инфекционистов, врачей клинической лабораторной диагностики, эпидемиологов, лабораторных микологов)	504	3.09 – 15.11
Вирусология. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для врачей-вирусологов, научных сотрудников, работающих в области вирусологии)	144	10.10 – 30.10

Для врачей, работающих в медицинских учреждениях Минздрава России, обучение бесплатное.

Место проведения циклов:

Лабораторная микология:

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28

Бактериология:

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41

Вирусология:

НИИ гриппа
Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17

Справки и прием заявок:

Лабораторная микология: <http://mycology.szgm.ru>
тел.: (812) 510-62-69, (812) 303-51-40, факс: (812) 510-62-77
e-mail: tatiyana.bogomolova@szgm.ru

Бактериология: тел.: (812) 275-19-04, (812) 275-19-46, (812) 303-50-00, e-mail: natalya.kalyanova@szgm.ru

Вирусология: тел.: (812) 499-15-71,
e-mail: irina.zhilinskaya@influenza.spb.ru

КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ, АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ СЗГМУ ИМ. И.И.МЕЧНИКОВА на 2018 год

Наименования кафедр и циклов	Кол-во часов	Сроки проведения
Аллергология и иммунология. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для аллергологов-иммунологов)	216	с 10.09 – 10.10
Оптимизация лечения внутрибольничных микозов (модуль) (для акушеров-гинекологов, терапевтов, пульмонологов, клинических фармакологов, педиатров, гематологов, инфекционистов)	36	24.09 – 29.09 22.10 – 27.10 17.12 – 22.12
Аллергология и иммунология. Профессиональная переподготовка. Прием экзамена на диплом и сертификат специалиста (для терапевтов, педиатров, врачей общей врачебной практики)	504	10.09 – 22.11
Актуальные проблемы аллергологии и иммунологии (модуль) (для аллергологов-иммунологов, терапевтов, педиатров)	36	23.04 – 28.04 10.12 – 15.12
Клиническая микология (для врачей лечебного профиля и педиатров)	144	15.10 – 3.11
Сестринское дело в аллергологии. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для медицинских сестер аллергологических кабинетов)	144	19.11 – 8.12

На циклах тематического усовершенствования могут обучаться врачи всех специальностей, желающие получить подготовку по вопросам аллергологии и иммунологии и клинической микологии, изучить особенности клинической картины и диагностики возбудителей инвазивных и поверхностных микозов: кандидоз, криптококкоз, аспергиллез, мукомикоз, дерматомикозы и др.; а также по актуальным вопросам аллергологии и иммунологии.

Для врачей, работающих в медицинских учреждениях Минздрава России, обучение бесплатное.

Место проведения циклов:

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина
Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28

Справки и прием заявок:

тел.: (812) 303-51-46

Зав. учебной частью: Мелехина Юлия Эммануиловна

e-mail: ulia.melekhina@szgm.ru

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. Kornisheva — M.D., 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), S.M. Ozerskaya — Ph.D. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), Ye.V. Pronina — 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. 20, № 1, 2018

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

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 20, № 1, 2018

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. Вивiani — 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. Корнишева — д.м.н., профессор
(Россия), В.Г. Кубас' — 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),
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), 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.И. 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 Microbiology — biology of pathogens, clinic, diagnostic, epidemiology, immunity, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

Хисматуллина З.Р., Харисова А.Р. Атипичные случаи микроспории (обзор) 3

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Корнишева В.Г., Вашкевич А.А., Серебрякова И.С. Осложнение кандидозной инфекцией афтозного стоматита при болезни Бехчета
Шагдилеева Е.В., Шадринова О.В., Забиров Н.С., Пятакова А.В., Соболев А.В., Шахова Л.В., Ермолова С.О.,
Борисов М.В., Калинина В.Ю., Терскова Т.В., Степанова А.А., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Выборнова
И.В., Авдеенко Ю.Л., Климко Н.Н. Сочетание инвазивного кандидоза и инвазивного аспергиллеза у больной с
цитопенией неясного генеза. Описание клинического случая и результаты проспективного исследования. 9

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Васильева Н.В., Степанова А.А. Электронно-микроскопическое изучение клеточной стенки и капсулы зрелых клеток слабо и
сильновирulentных штаммов *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* в ходе *in vitro*→*in vivo* трансформации 18
Носенко Т.Н., Рябинин И.А., Фокина М.И., Васильева Н.В., Денисюк И.Ю. Особенности организации колоний *Aspergillus*
spp. при росте в присутствии поливинилхлорида 25
Степанова А.А., Авдеенко Ю.Л., Подковальников С.Л. Сравнительный гистологический анализ двух клинических случаев
микотического риносинусита 33
Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Баранцевич Е.П. Антибиотикорезистентность возбудителей гнойно-септических инфекций
в многопрофильном стационаре 40
Степанов А.С., Богомолова К.А., Лакомова П.А., Васильева Н.В. Новые подходы к оценке биопленкообразующей
активности *Staphylococcus spp.* 49

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Медведева Т.В., Леина Л.М. XXVI Конгресс Европейской Академии Дерматологии и Венерологии (EADV) 55

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

Hismatullina Z.R., Kharisova A.R. Atypical case of microsporia (review) 3

CLINICAL MYCOLOGY

Kornisheva V.G., Vashkevich A.A., Serebryakova I.S. A complication of aphthous stomatitis by *Candida* infection at Behcet's disease 6
Shagdiileeva E.V., Shadrivova O.V., Zabirov N.S., Pyatakova A.V., Sobolev A.V., Shahova L.V., Ermolova S.O., Borisov
M.V., Kalinina, V.Y., Terskova T.V., Stepanova A.A., Bogomolova T.S., Ignatyeva S.M., Vybornova I.V., Avdeenko Y.L.,
Klimko N.N. Combination of invasive candidiasis and invasive aspergillosis in patient with unknown origin cytopenia. Description of
the clinical case and prospective study results. 9

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

Vasilyeva N.V., Stepanova A.A. Electron-microscopic investigation of the cell wall and capsules in mature cells of poorly and strongly
virulent strains of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* during *in vitro*→*in vivo* transformation 18
Nosenko T.N., Ryabinin I.A., Fokina M.I., Vasilyeva N.V., Denisjuk I.Y. Features of the organization of *Aspergillus spp.* colonies at
growth in the presence of polyvinyl chloride. 25
Stepanova A.A., Avdeenko Y.L., Podkovaalnikov S.L. Comparative histological analysis of two clinical cases of mikotic rinosinusitis 33
Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Barantsevich E.P. Antibioticoresistance in agents of nosocomial infections in a multidisciplinary
medical centre 40
Stepanov A.S., Bogomolova K.A., Lakomova P.A., Vasilyeva N.V. New approaches to the assessment of biofilm-forming activity of
Staphylococcus spp. 49

CHRONICLE AND INFORMATION

Medvedeva T.V., Leina L.M. The 26th Congress of European Academy of Dermatology and Venerology 55



АТИПИЧНЫЕ СЛУЧАИ МИКРОСПОРИИ (ОБЗОР)

Хисматуллина З.Р. (зав. кафедрой), Харисова А.Р. (аспирант)*

Башкирский государственный медицинский университет
МЗ РФ (кафедра дерматовенерологии с курсами
дерматовенерологии и косметологии ИДПО), Уфа, Россия

© Хисматуллина З.Р., Харисова А.Р., 2018

В обзоре литературы рассмотрены исследования последних лет, посвященные атипичным клиническим формам микроспории. Отмечено, что в настоящее время клинический полиморфизм часто приводит к трудностям в диагностике микроспории. Широкое применение топических глюкокортикостероидов и комбинированных наружных средств обуславливают атипичность клинического течения микроспории.

Ключевые слова: *Microsporum canis*, микроспория, атипичные формы микроспории

ATYPICAL CASE OF MICROSPORIA (REVIEW)

**Hismatullina Z.R. (head of the department),
Kharisova A.R. (postgraduate student)**

Bashkir State Medical University (Department of Dermatology
and Venereology), Ufa, Russia

© Hismatullina Z.R., Kharisova A.R. 2018

The researches of the last years devoted to atypical clinical forms of microsporia are considered in the review of literature. It is noted that currently clinical polymorphism often leads to difficulties in the diagnosis of microsporia. The widespread use of topical glucocorticosteroids and combined external agents cause atypia of the clinical course of microsporia.

Key words: *Microsporum canis*, microsporia, atypical forms of microsporia

Многие современные исследователи отмечают повышение уровня заболеваемости дерматомикозами в детском возрасте в связи с ухудшением экологической, социэкономической обстановки и изменившимся спектром возбудителей грибковых заболеваний [1-4]. Прослеживаются определенные клинические изменения в течении микотических инфекций, связанные с увеличением количества иммунодефицитных состояний [5].

По данным исследований, проведенных в Свердловской области в 2013-2015 гг., среди 570 пациентов 68 (12%) – имели атипичные формы микроспории. Были обнаружены следующие клинические формы: экссудативная, себорейная, инфильтративно-нагноительная, псориазиформная, трихофитоидная, волчаночноподобная и «трансформированная» микотическая инфекция, возникшая в результате применения наружных гормональных средств. Перечисленные атипичные, а также стертые и малосимптомные формы микроспории очень часто приводили к диагностическим ошибкам, позднему началу лечения и распространению грибковой инфекции [6].

Помимо атипичных форм микроспории, в научной литературе описывают также атипичные локализации поражений микоза (область паха, внутренняя поверхность ушной раковины, пограничная зона роста волос головы, лобковая область) [6, 7].

В другом исследовании доля атипичных форм микроспории составила 3,2% среди обследуемых детей. Авторы также указывают на ошибки в постановке диагноза при нетипичных формах локализации очагов поражения. Были выделены такие редкие клинические формы микроспории, как экссудативно-воспалительная, волчаночноподобная, себорейная и псориазиформная [1].

Зарубежные авторы также отмечают, что в настоящее время в клинической практике встречаются атипичные формы микроспории, но протекающие малосимптомно, со слабовыраженным воспалением и незначительным шелушением. Такая клиническая картина микроспории ошибочно принимается за другие хронические дерматозы [8, 9].

По данным авторов из Сибири, среди обследованных 1683 пациентов с микроспорией волосистой части головы и гладкой кожи у 4,7% наблюдали атипичную форму в виде стрептодермии и себорейного дерматита, что привело к запоздалой диагностике [10].

Интересной особенностью современного течения микроспории является увеличение количества случаев заболевания у детей грудного возраста. Так, в отечественном исследовании из 1167 больных микроспорией 20 детей (1,7%) были в возрасте от 1 месяца до года. Примечательно, что тридцать лет назад микроспорию у детей в возрасте от 1 месяца до года выявляли в 0,2-0,3% случаев. Отмечено, что в последние годы наблюдают хроническое течение микроспории, а также стали чаще регистрировать поражения волосистой части головы среди новорожденных [2].

Медведева Т.В. и соавторы (2016) подтверждают важность настороженности у врачей в отношении микозов среди детей грудного возраста. Наблюдали 5 детей, больных микроспорией, в возрасте до 1 года. Клиническая картина заболевания характеризовалась многообразием: экссудативные формы, по типу «асбе-

* Контактное лицо: Харисова Алина Рифгатовна,
e-mail: xarisova91@bk.ru

стивидного лишая», стёртые формы с незначительным шелушением [11].

Описан случай микроспории у ребёнка 10 месяцев, которому ошибочно был выставлен диагноз «псориаз». Проводили безуспешное лечение антигистаминными препаратами и топическими стероидами [12].

Инфильтративно-нагноительные формы микроспории в настоящее время тоже не являются редкостью. Представлены случаи инфильтративно-нагноительной микроспории у детей, клинически отличающейся диссеминацией высыпаний на лице, туловище и волосистой части головы [13-15]. Было замечено, что при этих формах микроспория может полностью напоминать инфильтративно-нагноительную трихофитию волосистой части головы, дифференцировать от которой помогают результаты лабораторной диагностики – поражение волос по типу *microides ectothrix* и рост культуры *Microsporum canis* [13].

Другие авторы отмечают распространенность диагностических ошибок при атипичных формах микроспории и обычной локализации последней (кисти, крупные складки, лицо) со слабовыраженными проявлениями. Активное назначение топических глюкокортикостероидов при ошибочных диагнозах существенно осложняло течение микозов, ещё более затрудняя диагностику [16].

На фоне применения топических глюкокортикоидных средств происходит трансформация кожного процесса при микотических инфекциях. В частности, воспалительные явления становятся неяркими, с нечеткими границами, без характерного периферического валика [7].

Результаты лабораторной диагностики также затрудняют постановку диагноза. У мальчика 5 лет наблюдали классическую клиническую картину микроспории волосистой части головы. Культуральным методом выделен *M. canis*. Однако ранее при микроскопической диагностике было выявлено нетипичное поражение мозгового и коркового вещества волоса (*endothrix*), более характерного для трихофитии [17].

Японские исследователи описывают микроспорию лица и шеи по типу множественной эритемы и единичных эрозий у 55-летней женщины, которой был выставлен диагноз «пузырчатка». В течение двух месяцев были предприняты попытки противовоспалительного лечения, оказавшиеся безуспешными. Однако данные гистопатологического исследования и прямого имму-

нофлуоресцентного анализа не подтвердили первоначальный диагноз. При микроскопическом исследовании чешуек кожи были выявлены нити мицелия, но культуральное исследование не дало роста грибов-возбудителей. В описанном случае диагностическим методом, позволившим установить диагноз «микроспория», стал метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [18].

Исследования по атипичным формам микроспории проводили в Италии в период с 1990 г. по 2009 г. Были отобраны 46 больных микроспорией детей, основной локализацией очагов поражения было лицо. В 26% случаев наблюдали атипичные формы микроспории, имитирующие атопический дерматит, импетиго, красную волчанку и периоральный дерматит. Авторы указывают на сложности в постановке диагноза в подобных случаях [9].

Atzori L. и соавторы рассмотрели 154 случая атипичных форм дерматомикозов. Из них было выявлено 70 случаев микроспории разных клинических форм: экземоподобная (30), импетигоподобная (11), волчаночноподобная (6), по типу полиморфной сыпи (7), псориазоподобная (3), розацеаподобная (2), себорейная (2), по типу дискоидной красной волчанки (2), по типу простого герпеса (1), по типу опоясывающего лишая (1), по типу периорального дерматита (1). По мнению исследователей, клиническая атипичность микроспории у больных является следствием не только применения топических кортикостероидов. Предрасположенность к атипичному течению микоза присутствует в самом начале заболевания из-за вариативности инвазивной способности гриба – дерматомицета, его места внедрения, а также зависит от физиологического состояния макроорганизма [4].

Таким образом, в последние годы участились случаи клинического патоморфоза микроспории, обуславливающие трудности при диагностике микоза [1, 4, 6, 10, 15]. Клиническая картина микроспории в настоящее время может имитировать различные кожные заболевания. При микроскопическом исследовании материала могут отсутствовать характерные особенности возбудителя и рост культуры на средах. В связи с этим необходимо повышать клиническую настороженность у врачей-специалистов в отношении дерматомикозов и совершенствовать лабораторные методы диагностики.

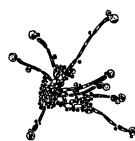
ЛИТЕРАТУРА

1. Мурашкин Н.Н., Материкин А.И. Атипичные формы микроспории в детском возрасте. Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (2): 114-115. [Murashkin N.N., Materikin A.I. Atipichnyie formy mikrosporii v detskom vozraste. Problemy meditsinskoj mikologii. 2010; 12 (2): 114-115 (In Russ)].
2. Степанова Ж.В. Клинические особенности и лечение микроспории в современных условиях. Вестн. дерматологии и венерологии. 2008; 6: 85-88. [Stepanova Zh.V. Klinicheskie osobennosti i lechenie mikrosporii v sovremennyih usloviyah. Vestn. dermatologii i venerologii. 2008; 6: 85-88 (In Russ)].
3. Хисматуллина З.Р., Шарифутдинова Н.Х., Габдуллина С.Р. Ошибки в диагностике зооантропонозных микотических инфекций. Практическая медицина. 2012; 1 (56): 135-136. [Hismatullina Z.R., Sharafutdinova N.H., Gabdullina S.R. Oshibki v diagnostike zooantropoznyih mikoticheskikh infektsiy. Prakticheskaya meditsina. 2012; 1 (56): 135-136 (In Russ)].
4. Atzori L. et al. Dermatophyte infections mimicking other skin diseases: a 154-person case survey of tinea atypica in the district of Cagliari (Italy). International journal of dermatology. 2012; 51 (4): 410-415.
5. Рукавишникова В.М. Современные особенности клиники микроспории. Леч. врач. 2001;4: 8-12. [Rukavishnikova V.M. Sovremennyye osobennosti kliniki mikrosporii. Lech. vrach. 2001;4: 8-12 (In Russ)].
6. Антонова С.Б. Современные особенности эпидемиологии и клиники микроспории в Свердловской области. Успехи медицинской микологии. 2016: 92-94. [Antonova S.B. Sovremennyye osobennosti epidemiologii i kliniki mikrosporii v Sverdlovskoy oblasti. Uspehi meditsinskoj mikologii. 2016: 92-94 (In Russ)].

7. Селютина О.В. Микроспория лобковой области, вопросы диагностики. Успехи медицинской микологии. 2016: 213-214. [Selyutina O.V. Mikrosporiya lobkovoy oblasti, voprosyi diagnostiki. Uspehi meditsinskoj mikologii. 2016: 213-214 (In Russ)].
8. Ansar A., Farshchian M., Nazeri H., Ghiasian S.A. Clinico-epidemiological and mycological aspects of tinea incognito in Iran: A 16-year study. Med Mycol J. 2011; 52 (1): 25-32.
9. Atzori L., Aste N., Pau M. Tinea faciei due to microsporum canis in children: a survey of 46 cases in the District of Cagliari (Italy). Pediatr Dermatol. 2012; 4: 409-413.
10. Ерзина Е.И., Позднякова О.Н. Микроспория: клинические особенности у детей и подростков. Медицина и образование в Сибири. 2012; 2: 19. [Erzina E.I., Pozdnyakova O.N., Mikrosporiya: klinicheskie osobennosti u detey i podrostkov. Meditsina i obrazovanie v Sibiri. 2012; 2: 19 (In Russ)].
11. Медведева Т.В., Чилина Г.А. Микроспория у детей первого года жизни: собственный опыт. Успехи медицинской микологии. 2016: 156-59. [Medvedeva T.V., Chilina G.A. Mikrosporiya u detey pervogo goda zhizni: sobstvennyiy opyt. Uspehi meditsinskoj mikologii. 2016: 156-59 (In Russ)].
12. Щелкунова О.А., Решетникова Т.Б. Микроспория у ребенка грудного возраста. Медицина и образование в Сибири. 2012; 1. [Schelkunova O.A., Reshetnikova T.B. Mikrosporiya u rebenka grudnogo vozrasta. Meditsina i obrazovanie v Sibiri. 2012; 1 (In Russ)].
13. Карибаева А.Т., Аскарова Г.К., Алимкулова А.И. Современные особенности дерматомикозов, индуцируемых Trichophyton spp. и Microsporum spp. Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (2): 93-94. [Karibaeva A.T., Askarova G.K., Alimkulova A.I. Sovremennyye osobennosti dermatomikozov, in-dutsiruemyih Trichophyton spp. i Microsporum spp. Problemy meditsinskoj mikologii. 2010; 12 (2): 93-94 (In Russ)].
14. Никулин Н.К., Мишина Ю.В., Шебашова Н.В. Случай хронической инфильтративно-нагноительной микроспории у ребенка 12 лет. Успехи медицинской микологии. 2004: 119-121. [Nikulin N.K., Mishina Yu.V., Shebashova N.V. Sluchay hronicheskoy infiltrativno-nagnoitelnoy mikrosporii u rebenka 12 let. Uspehi meditsinskoj mikologii. 2004: 119-121 (In Russ)].
15. Уфимцева М.А., Антонова С.Б., Струин Н.Л. и др. Инфильтративно-нагноительная микроспория у детей 7 и 9 лет. Клинические случаи. Современные проблемы науки и образования. 2016; 3: 125-125. [Ufimtseva M.A., Antonova S.B., Struin N.L. i dr. Infiltrativno-nagnoitel'naya mikrosporiya u detey 7 i 9 let. Klinicheskie sluchai. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2016; 3: 125-125 (In Russ)].
16. Бурцева Г.Н., Сергеев Ю.Ю. Диагностика tinea corporis et cruris в 2016 г. Успехи медицинской микологии. 2016: 205-208. [Burtseva G.N., Sergeev Yu.Yu. Diagnostika tinea corporis et cruris v 2016 g. Uspehi meditsinskoj mikologii. 2016: 205-208 (In Russ)].
17. Медведева Т.В., Чилина Г.А. Особенности лабораторной диагностики микроспории. Проблемы медицинской микологии. 2011; 13 (2): 90-91. [Medvedeva T.V., Chilina G.A. Osobennosti laboratornoy diagnostiki mikrosporii. Problemy meditsinskoj mikologii. 2011; 13 (2): 90-91 (In Russ)].
18. Amato H. et al. Microsporum canis infection mimics pemphigus erythematosus. Indian journal of dermatology. 2013; 58 (3): 243.

Поступила в редакцию журнала 25.01.2018

Рецензент: В.Г. Корнишева



ОСЛОЖНЕНИЕ КАНДИДОЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ АФТОЗНОГО СТОМАТИТА ПРИ БОЛЕЗНИ БЕХЧЕТА

**Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*,
Вашкевич А.А. (доцент кафедры),
Серебрякова И.С. (ассистент кафедры)**

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

©Коллектив авторов, 2018

Болезнь Бехчета – это системный васкулит. Этиология заболевания неизвестна. Предполагается роль различных этиологических факторов: инфекционных, гормональных, генетических, иммунологических нарушений. Описан случай болезни Бехчета у мужчины с длительностью заболевания – 1 год. Особенностью течения болезни было частое осложнение афтозного стоматита кандидозной инфекцией.

Ключевые слова: болезнь Бехчета, афтозный стоматит, кандидозная инфекция, *Candida* spp.

A COMPLICATION OF APHTHOUS STOMATITIS BY CANDIDA INFECTION AT BEHCET'S DISEASE

**Kornisheva V.G. (professor of the department),
Vashkevich A.A. (associate professor of the
department), Serebryakova I.S. (assistant of the
department)**

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

©Collective of authors, 2018

Behcet's disease is a systemic vasculitis. Etiology of the disease is unknown. The role of various etiological factors is assumed: infectious, hormonal, genetic, immunological disorders. The case of Behcet's disease in a man with duration of 1 year is described. A peculiarity of the disease course was a frequent complication of aphthous stomatitis with a candidal infection.

Key words: Behcet's disease, oral aphthosis, candidiasis, *Candida* spp.

Болезнь Бехчета (morbus Behcet; syn.: синдром Adamantiades-Behcet, синдром Gilbert-Behcet, aphthosis Touraine, болезнь «Шелкового Пути») – идиопатическое полисистемное заболевание, причиной которого является васкулит, поражающий артерии и вены разного калибра. Симптомы болезни Бехчета (ББ) полиморфны и могут включать слизисто-кожные, глазные, гастроинтестинальные, суставные, сосудистые, урогенитальные, неврологические проявления. Заболевание названо по имени турецкого врача профессора Haluci Behcet, который в 1937 г. описал триаду симптомов, представленную рецидивирующим афтозным стоматитом, язвами на половых органах и увеитом с гипопионом. Наибольшую распространенность ББ отмечают среди коренных жителей восточного Средиземноморья и Японии. Учитывая миграцию населения, заболевание может встречаться в любой стране мира, в том числе и в России [1, 2].

Алекберова З.С. (2016) провела опрос 180 больных с ББ в трех этнических группах. В результате исследования выявили, что повторные случаи рецидивирующего афтозного стоматита (РАС) имели место в 54 семьях (30%): чаще – среди дагестанцев (n=32), реже – у чеченцев (n=12) и у русских (n=10). Повторные случаи заболевания в семьях пробандов рассматриваются как аргумент в пользу генетической природы ББ [1].

Согласно критериям, разработанным Международной группой по изучению болезни Бехчета (International Study Group for Behcet's Disease — ISGBD), для постановки диагноза необходимо наличие рецидивирующего афтозного стоматита в сочетании с не менее чем с двумя из следующих проявлений: свежие или зарубцевавшиеся язвы на половых органах, поражение глаз (задний увеит, васкулит сетчатки), кожи (узловатая эритема, псевдофолликулит, акнеподобные высыпания), положительный тест патергии. В зависимости от поражённой системы или органа, различают несколько клинических типов болезни Бехчета: слизисто-кожный, суставной, неврологический и глазной. Специфические лабораторные тесты отсутствуют [1, 2].

В данной работе представлен пациент с болезнью Бехчета, особенностью которой было частое осложнение афтозного стоматита кандидозной инфекцией.

Описание случая

Больной, Б., 37 лет, русский, житель г. Якутска, поступил в микологическую клинику СЗГМУ им И.И.Мечникова с жалобами на высыпания (слизистая оболочка полости рта, губ, туловище, верхние конечности), осиплость голоса, отек век правого глаза, снижение остроты зрения, снижение массы тела на 20 кг за последний год.

Из анамнеза заболевания известно, что впервые пациент заболел год назад, когда после переохлаждения появились боль в горле, осиплость голоса и повышение температуры тела до 37,5 °С. Больной был осмотрен терапевтом и отоларингологом. По поводу лакунарной ангины получал ципрофлоксацин, метрогил. После обнаружения в отделяемом язв *Candida albicans* был проведен курс флуконазола. Через 5 месяцев вновь появились афты на слизистой оболочке губ и полости рта, а также белый налет на миндалинах. В посеве содержимого с поверхности язв получен рост колоний *C. albicans*. Больному был назначен курс тербинафина

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

(по 250 мг 1 раз в сутки, 21 день) и ингаляции с амфотерицином В, однако язвенные дефекты полости рта и губ сохранялись.

Через месяц у мужчины появились эрозивно-язвенные высыпания на головке и теле полового члена. В КВД пациент получил курс ацикловира, после проведения которого высыпания зарубцевались, но явления афтозного стоматита сохранялись. При бактериологическом исследовании отделяемого язв был получен рост *Streptococcus viridans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. Через 3 месяца вновь появились резкие боли в горле, беловатый налет на языке, миндалинах и глотке. Инфекционистом был назначен дексаметазон 8 мг в/м №4 с хорошим эффектом, который сохранялся неделю после окончания терапии.

В течение последующего месяца больной отмечал постепенное ухудшение самочувствия, появление свежих высыпаний в полости рта. Госпитализирован в инфекционную больницу (диагноз при поступлении: герпетическая инфекция, стоматит, гнойный баланопостит, вторичный иммунодефицит), где был осмотрен стоматологом (диагноз: хронический рецидивирующий афтозный стоматит), урологом (диагноз: гнойный баланопостит, вторичный иммунодефицит), терапевтом (диагноз: гнойно-язвенный стоматит, кандидоз, вторичный иммунодефицит), иммунологом (диагноз: инфекция, вызванная вирусом герпеса, вторичная иммунная недостаточность тяжелой степени). По поводу выявленных изменений в крови (лейк. – 11 тыс. $\times 10^9$ /л, лимф. – 21%, эозин. – 41%, СОЭ – 21мм/час) была выполнена стерильная пункция. Изменения в миелограмме расценены как лейкомоидная реакция эозинофильного типа. Осмотрен ревматологом, который заподозрил болезнь Чаржа-Строса (эозинофильный некротизирующий васкулит), в связи с чем больной госпитализирован в ревматологическое отделение, где был назначен преднизолон (15 мг/сутки в течение месяца). Выписан из стационара с улучшением, но разрешения афтозных элементов губ и слизистой оболочки полости рта не было. После выписки продолжил обследование у инфекциониста. Выявлены повышенные уровни антител к грибам рода *Candida*. После отмены преднизолона появились афты во рту, покраснение и боли в области правого глаза. Больной был направлен в микологическую клинику СЗГМУ им И.И. Мечникова с подозрением на кандидозное поражение слизистых оболочек полости рта.

Из анамнеза жизни известно, что у пациента с 5 лет бронхиальная астма, ремиссия – с 13 лет. Наследственность не отягощена. Аллергические реакции на пищу, лекарственные препараты в прошлом отрицает.

При поступлении в клинику общее состояние удовлетворительное, телосложение правильное, удовлетворительного питания. Периферические лимфоузлы не увеличены. Тоны сердца ритмичные, приглушены. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2 см, край ровный. Стул и диурез – без особенностей. Температура тела – 37,5 °С. Артериальное давление – 125/80 мм рт. ст.

При осмотре слизистых оболочек полости рта в области десен с переходом на слизистую губ наблюдали множественные язвы овальной формы, диаметром от 0,3 до 1,0 см, сливающиеся между собой, располагающиеся на застойно-гиперемизированном фоне слизи-

стых и покрытые белесоватым налетом (Рис.1).



Рис. 1. Сливающиеся афты на слизистой оболочке десны и нижней губы, покрытые белесоватым налетом, у пациента с болезнью Бехчета.

На задней поверхности полового члена на месте бывших высыпаний – рубцовые изменения (Рис.2).



Рис. 2. Рубцовые изменения на месте бывших высыпаний в области уздечки полового члена у пациента с болезнью Бехчета.

На коже разгибательной поверхности верхних конечностей – единичные акнеформные высыпания, окруженные венчиком гиперемии (Рис. 3).



Рис. 3. Псевдофолликулиты на наружной поверхности плеча у пациента с болезнью Бехчета.

Нижнее и верхнее веки правого глаза слегка опечены и гиперемированы. Осмотрен окулистом, диагноз: острый конъюнктивит, миопия 1 степени, нейропатия, ангиопатия сетчатки, правосторонний увеит.

В клиническом анализе крови количество лейкоцитов – $11,5 \cdot 10^9/\text{л}$, эозинофилов – 41%, СОЭ – 31 мм/час. Биохимические показатели, анализ мочи в пределах нормы. При микологическом обследовании в соскобах с язв полости рта, слизистых оболочек губ, десен, зева грибы не обнаружены. Пациент осмотрен ревматологом, который поставил диагноз «болезнь Бехчета». Больной был переведен в ревматологическое отделение.

ОБСУЖДЕНИЕ

Болезнь Бехчета встречается сравнительно редко, его диагностика представляет определенные трудности; поражает наиболее трудоспособный контингент – пик заболеваемости приходится на третью декаду жизни, причем мужчины болеют чаще женщин. Этиология ББ в настоящее время неизвестна. Предполагается роль различных этиологических факторов: инфекционных, гормональных, генетических, иммунологических нарушений [2, 3]. Представленный пациент был болен до момента постановки правильного диагноза в течение года. Заболевание постоянно рецидивировало, ремиссии были кратковременными.

Клинические проявления ББ многообразны и носят системный характер. Одним из самых ранних симптомов проявления ББ считают афтозный стоматит. При этом на деснах, боковых поверхностях и уздечке языка, а также на слизистой оболочке щек и губ образуются мелкие везикулы, заполненные непрозрачным содержимым, которые затем превращаются в язвочки ярко-розового цвета диаметром от 2 до 10-20 мм. Язвы склонны к слиянию. Эти проявления обычно проходят за 10 дней без рубцевания. Единичные афты редки. Заживление язвенного стоматита при болезни Бехчета занимает от 10 дней до 1 месяца, однако его рецидивы возникают 3-4 раза в год. Генитальные язвочки локализуются у мужчин в области головки полового члена и мошонки, у женщин – на слизистой оболочке вульвы

и влагалища. Язвочки на слизистых оболочках ротовой полости и гениталий болезненны, сливаясь между собой, образуют сплошные эрозивные поверхности. Генитальные язвы рецидивируют и оставляют рубцы. Поражение глаз является первым симптомом болезни примерно у 10% пациентов, но чаще развивается после афтозного стоматита. Характерный признак болезни Бехчета – гипопион-увеит [2].

Особенностью представленного нами случая было постоянное осложнение язвенного стоматита кандидозной инфекцией, что явилось причиной направления пациента в микологическую клинику. В литературе описан случай осложнения течения ББ кандидозным эндокардитом у мужчины 39 лет, который был болен в течение 7 лет. Диагноз ББ был поставлен на основании наличия биполярного афтоза, псевдофолликулитов на коже и положительного теста на патергию. Больной госпитализирован с тромбозом бедренной вены. При поступлении была выявлена еще и суперинфекция левой верхней конечности, связанная с кандидозной инфекцией полости рта на фоне афтоза [4].

Этиология болезни Бехчета не ясна. Инфекционная теория (провоцирующая роль герпетической инфекции, вирусов, стрептококков) – это одна из теорий развития патологии. Роль грибов *Candida* в патогенезе ББ не изучена. В 1993 году было показано, что метаболиты *Candida* spp. связаны с активной фазой ББ. Соотношение d-арабинитола (большого метаболита *Candida* spp.) к креатинину было выше у больных ББ с обострением, по сравнению с нормой и показателями у больных ББ в ремиссии [5]. Каждое обострение заболевания у представленного пациента сопровождалось кандидозной инфекцией, и с каждым новым обострением появлялись новые проявления ББ с постепенным вовлечением в патологический процесс слизистых оболочек гениталий, кожи, глаз.

Таким образом, можно предположить, что у данного больного провоцирующим фактором прогрессирования ББ было осложнение афтозного стоматита кандидозной инфекцией.

Изучение влияния *Candida* spp. на течение болезни Бехчета подлежит дальнейшему изучению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алекберова З.С. Болезнь Бехчета: этнос и семейная агрегация. Научно-практическая ревматология. 2016; 54 (3): 244-246. [Alekberova Z.S. Bolezn Behcheta: etnos i semeynaya agregatsiya. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2016; 54 (3): 244-246 (In Russ)].
2. Хлюстова Л.В., Петраевский А.В. Болезнь Бехчета: варианты офтальмологической симптоматики, развившейся вслед за афтозным стоматитом. Вестник ВолГМУ. 2015; 55 (3): 136-137. [Hlyustova L.V., Petraevskiy A.V. Bolezn Behcheta: variantyi oftalmologicheskoy simptomatiki, razvivsheysya vsled za aftoznyim stomatitom. Vestnik VolgGMU. 2015; 55 (3): 136-137 (In Russ)].
3. Хамитов Р.Ф., Пальмова Л.Ю., Якупова З.Н., Хасанова Э.Р. Болезнь Бехчета в терапевтической клинической практике. Казанский медицинский журнал. 2013; 94 (4): 545-548. [Hamitov R.F., Palmova L.Yu., Yakupova Z.N., Hasanova E.R. Bolezn Behcheta v terapevticheskoy klinicheskoy praktike. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal. 2013; 94 (4): 545-548 (In Russ)].
4. Mahfoudhi M., Khaled K. Endocardite a *Candida albicans* compliquant une maladie de Behcet. Pan African Medical Journal. 2015; 20: 441.
5. Hayasaka S., Noda S., Setogawa T. Increased D-arabinitol/creatinine ratio in sera of patients with Behçet's disease during an active phase. Br. J. Ophthalmol. 1993; 77 (1): 39-40.

Поступила в редакцию журнала 15.02.2018

Рецензент: М.А. Шевяков



СОЧЕТАНИЕ ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА И ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНОЙ С ЦИТОПЕНИЕЙ НЕЯСНОГО ГЕНЕЗА. ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

¹Шагдилеева Е.В. (ассистент кафедры),
¹Шадринова О.В. (ассистент кафедры)*, ¹Забиров Н.С. (клин. ординатор), Пятакова А.В. (клин. ординатор), ¹Соболев А.В. (профессор кафедры),
²Шахова Л.В. (пульмонолог), ²Ермолова С.О. (зав. отд.), ²Борисов М.В. (зав. отд.), ²Калинина В.Ю. (врач-патологоанатом), ²Терскова Т.В. (зав. отд.),
¹Степанова А.А. (зав. лаб.), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Игнатьева С.М. (в.н.с.), ¹Выборнова И.В. (н.с.), ¹Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Северо-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, 2018

В статье представлены описание клинического случая сочетания инвазивного кандидоза (ИК) и инвазивного аспергиллеза (ИА) у пациентки с цитопенией неясного генеза, анализ данных регистра больных ИА и обзор литературы.

Инвазивный кандидоз выявили у 1,4% пациентов с ИА. Установили, что сочетание ИК и ИА развивается у онкогематологических больных, преимущественно на фоне острого лейкоза (60%). Основные факторы риска: агранулоцитоз (90%), лимфоцитопения (70%), нахождение в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ – 50%), а также терапия системными глюкокортикостероидами (40%). Основной возбудитель ИА при сочетанной инфекции – *Aspergillus flavus*, ИК – *Candida parapsilosis* и *C. krusei*. При ИА поражение легких наблюдали в 100% случаев, основным клиническим вариантом ИК была кандидемия – 90%. Для сочетания ИК и ИА характерна высокая общая летальность в течение 12 недель – 60%.

Ключевые слова: сочетанный инвазивный микоз, инвазивный аспергиллез, инвазивный кандидоз, диссеминированный микоз, кандидемия

COMBINATION OF INVASIVE CANDIDIASIS AND INVASIVE ASPERGILLOSIS IN PATIENT WITH UNKNOWN ORIGIN CYTOPENIA. DESCRIPTION OF THE CLINICAL CASE AND PROSPECTIVE STUDY RESULTS

¹Shagdileeva E.V. (assistant of the department),
¹Shadrivova O.V. (assistant of the department),
¹Zabirov N.S. (clinical physician), ¹Pyatakova A.V.

* Контактное лицо: Шадринова Ольга Витальевна,
 e-mail: Olga.Shadrivova@szgmu.ru

(clinical physician), ¹Sobolev A.V. (professor of the department), ²Shahova L.V. (pulmonologist),
²Ermolova S.O. (head of the clinical department),
²Borisov M.V. (head of the clinical department),
²Kalinina, V.Y. (pathoanatomist), ²Terskova T.V. (head of the clinical department), ¹Stepanova A.A. (head of the laboratory), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Ignatyeva S.M. (leading scientific collaborator), ¹Vybornova I.V. (scientific collaborator), ¹Avdeenko Y.L. (senior scientific collaborator), ¹Klimko N.N. (head of the department)

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

©Collective of authors, 2018

A clinical case description of the invasive aspergillosis (IA) and invasive candidiasis (IC) combination in a patient with unknown origin cytopenia, as well as data analysis of the register of patients with invasive aspergillosis, and a literature review have been presented in the article.

IC was revealed in 1.4% of patients with IA. It was found that the combination of IR and IA develops in oncogematological patients, mainly against the background of acute leukemia – 60%. The main risk factors: agranulocytosis – 90%, lymphocytopenia – 70%, stay in intensive care units (ICU) – 50%, systemic glucocorticosteroid using – 40%. The main etiological agent of IA was *Aspergillus flavus*, IC – *Candida parapsilosis* and *C. krusei*. Lungs involvement was observed in 100% of IA cases, the main clinical variant of the IC was candidemia – 90%. The combination of IR and IA are characterized by a high overall mortality within 12 weeks – 60%.

Key words: combined invasive mycosis, invasive aspergillosis, invasive candidiasis, disseminated mycosis, candidemia

ВВЕДЕНИЕ

Aspergillus и *Candida* spp. остаются основными возбудителями внутрибольничных инвазивных микозов (ИМ). Вместе с тем, в последнее время наблюдают нарастание числа ИМ смешанной этиологии, что может быть связано с увеличением интенсивности протоколов химиотерапии онкогематологических заболеваний и ростом количества пациентов с выраженным иммунодефицитом [1]. Для успешного лечения таких ИМ необходимы своевременная диагностика и адекватная антифунгальная терапия. Однако диагностика сочетанных ИМ является сложной задачей. Клинические признаки таких ИМ часто неспецифичны, особенно у лиц с выраженными дефектами иммунной системы, и не отличаются от проявлений моноинфекции. Лабораторное подтверждение ИМ смешанной этиологии требует забора материала из очага поражения, что нередко затруднено из-за локализации процесса, высокого риска кровотечений или тяжести состояния больного. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в настоящее время не применяют в рутинной клинической практике, так как до сих пор не определено его диагностическое значение при ИМ и нет единой методики его проведения. Однако в сочетании с серологическими и микологическими методами ПЦР, несомненно, может быть полезным [2, 3].

До настоящего времени число публикаций, посвященных описанию сочетанных ИМ, остается ограниченным. Микст-инфекции, обусловленные *Candida* spp. и *Aspergillus* spp., представлены в единичных публикациях [3-6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное многоцентровое исследование

(1998-2017 гг.) включили 700 больных «доказанным» и «вероятным» ИА. Из них у 10 пациентов (1,4%) выявили сочетание ИА и инвазивного кандидоза. Диагностировали ИМ и оценивали эффективность антифунгальной терапии на основании критериев, предложенных Европейской организацией по изучению и лечению рака (EORTC) и группы изучения микозов (MSG) Национального института алергологии и инфекционных заболеваний (NIAID) США 2008 г. [7]. Для диагностики ИМ всем пациентам проводили компьютерную томографию органов грудной клетки (КТ ОГК) легких в режиме высокого разрешения, по показаниям – КТ придаточных пазух носа (ППН), магнитную резонансную томографию, фибробронхоскопию (ФБС), плевральные и люмбальные пункции, пункции ППН, а также биопсию тканей и патоморфологические исследования.

Лабораторная диагностика включала серологическое, микроскопическое и культуральное исследования. Наличие галактоманнана (ГМ) в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) и сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием специфической диагностической тест-системы PLATELIA® *Aspergillus* (BIO-RAD Laboratories, США). Диагностически значимым считали индекс выше «0,5» в сыворотке крови и выше «1,0» – в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ). Из образцов биосубстратов (мокрота, БАЛ, отделяемое из ППН и др.) готовили препараты в просветляющей жидкости (10% раствор КОН в 10% водном растворе глицерина) с добавлением флуоресцирующего маркера (калькофлуор белый). Окрашенный препарат просматривали в люминесцентном микроскопе, отмечали наличие нитей несептированного мицелия, ветвящихся под углом 90°, или септированного мицелия, ветвящегося под острым углом.

Для гистологических исследований материала, полученного на аутопсии, кусочки легких, мозга, сердца, печени, почек и селезенки, полученные при аутопсии, располагали в биопсийные кассеты, затем фиксировали 6 часов 10%-м забуференным раствором формалина. В дальнейшем, срезы окрашивали гематоксилином-эозином, проводили PAS-реакцию и окраску по методу Гомори-Грокотт для выявления элементов гриба в тканях. После этого биопсийные кассеты с материалом помещали в аппарат для гистологической обработки биологических тканей Tissue-Tek®VIRTМ 5Jr. (фирма Sakura, Япония) для проведения проводки через серию изопропанола (IsoPrep). Последующую заливку в среду Biomix осуществляли с помощью модульной системы заливки Tissue-Tek®TECTM (фирма Sakura, Япония). Срезы толщиной 3 мкм получали на санном микротоме Slide 2003 (группа компаний Stormoff) и монтировали на предметные стекла с помощью адгезивной жидкости фирмы Biovitrum. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином (Г-Э) для описания характера воспалительной реакции и выявления элементов гриба – по методу ПАС. Окрашенные срезы заключали в заливочную среду Bio Mount (фирмы Bio-Optica). Препараты изучали и фотографировали в световом микроскопе AxioLab.A1 (фирма Zeiss, Германия).

Для молекулярно-генетического исследования геномную ДНК выделяли с помощью оригинальной методики, предусматривающей отмывку блоков от парафина и хлороформ-изоамиловую экстракцию

[8]. Исследовали 5 образцов аутопсийного материала, заключенного в парафиновые блоки, с помощью мультиплексной ПЦР-тест-системы «Zygo-Asp-HRM», разработанной в НИЛ молекулярно-генетической микробиологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова. ПЦР в режиме реального времени с анализом кривых плавления с высоким разрешением (HRM, high-resolution melt) с аспергилл-специфичными и мукоромицет-специфичными праймерами проводили на термоциклере RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия) с функцией HRM в соответствии с авторской методикой [9]. При амплификации использовали «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии EvaGreen» (Синтол, Москва) согласно инструкциям производителя. Результаты ПЦР оценивали по наличию/отсутствию пиков плавления для ДНК *Aspergillus* spp. в районе 76,85-77,67 °С и ДНК мукоромицетов – от 83,18 до 85,94 °С.

Также авторы провели анализ данных из научной литературы, используя базы PubMed и eLibrary (январь 2018 г.).

Описание клинического случая. Больная Н., 37 лет, 17.06.2015 г. поступила в терапевтическое ОРИТ Ленинградской областной клинической больницы (ЛОКБ) в тяжелом состоянии, на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) вследствие выраженной дыхательной недостаточности (ДН-III, Sat O₂ – 99%, FiO₂ – 45%).

При объективном осмотре: состояние тяжелое, кожные покровы бледные, сухие. Язык влажный, обложен белым налетом. Лимфатические узлы не увеличены. Живот при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтические шумы отсутствуют, нижний край печени у края реберной дуги, поверхность печени гладкая, селезенка не увеличена. Периферических отеков нет. Ригидность затылочных мышц, тремор отсутствуют. Над областью легких дыхание жесткое, проводится во все отделы, хрипов нет, голосовое дрожание симметричное. Частота дыхательных движений – 90 в минуту. При аускультации: тоны сердца приглушены, ритмичные, шумов нет. Артериальное давление (АД) – 130/80 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений – 90 в минуту, ритм правильный. Температура тела – 37,3 °С. Физиологические отправления в норме.

Анамнез заболевания. Из сопутствующей выписки известно, что 04.06.15 г. пациентка обратилась к участковому терапевту с жалобами на нарастающую общую слабость, одышку и повышение температуры тела до субфебрильных цифр. Было выполнено рентгенологическое исследование легких, при котором выявили интерстициальные изменения по типу «матового стекла». Диагностировали внебольничную двустороннюю полисегментарную пневмонию, большую госпитализировали в Кировскую центральную районную больницу. Начата антибактериальная и дезинтоксикационная терапия. На КТ ОГК от 10.06.15 г. наблюдали двусторонние интерстициально-альвеолярные изменения. Несмотря на проводимую антибактериальную терапию (бисептол, цефтриаксон, ципрофлоксацин, метронидазол, меропенем), отмечали отрицательную клиническую динамику в виде нарастания ДН, в связи с чем пациентку перевели на ИВЛ. Спустя неделю стационарного лечения, температура тела повысилась до

39°С, появились боли в животе опоясывающего характера. В анализе мокроты обнаружили примесь крови. 17.06.15 г. женщина в тяжелом состоянии была переведена в терапевтическое ОРИТ ЛОКБ. Диагноз при поступлении: внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония, тяжелое течение. Осложнение: ДН III ст. ИВЛ от 11.06.15 г. Сопутствующие: желчно-каменная болезнь; эрозивный гастрит; железодефицитная анемия.

При поступлении в клиническом анализе крови выявили нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом до метамиелоцитов и лимфоцитопению ($12,8 \cdot 10^9/\text{л}$, метамиелоциты – 2%, нейтрофилы – $11,66 \cdot 10^9/\text{л}$, лимфоциты – $0,46 \cdot 10^9/\text{л}$, моноциты – $0,7 \cdot 10^9/\text{л}$, эозинофилы – $0 \cdot 10^9/\text{л}$, базофилы – $0 \cdot 10^9/\text{л}$), а также гипохромную анемию (эритроциты – $2,27 \cdot 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 56 г/л). В биохимическом анализе крови отмечали повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) – 218 г/л, АСТ – 57,27 Е/л, АЛТ – 14,68 Е/л, креатинина крови – 271,76 мкмоль/л, мочевины крови – 25,41 ммоль/л, уровня прокальцитонина – 14,9 нг/мл (норма 0-0,5 нг/мл). На основании полученных лабораторных данных диагностировали сепсис. В связи с ДН III ст. (PO_2 45%) продолжали ИВЛ.

В день поступления была выполнена ФБС с забором БАЛ. Заключение: эндоскопические признаки эрозивного трахеита, распространенного эндобронхита с умеренно-выраженным гнойно-геморрагическим компонентом.

На КТ от 18.06.15 г. определяли признаки двусторонней полисегментарной пневмонии (зоны плотной инфильтрации в нижней доле правого легкого, в верхних долях легких, S9 левого легкого, малый правосторонний гидроторакс) (Рис 1.).

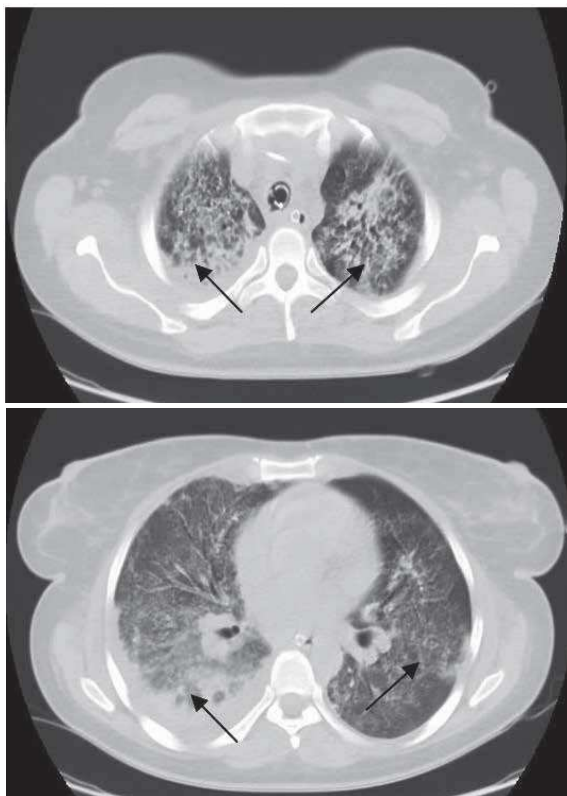


Рис. 1. КТ ОГК от 18.06.2015 г. Двусторонняя полисегментарная пневмония, правосторонний гидроторакс.

На КТ ППН – признаки воспалительных изменений в левой верхнечелюстной пазухе (горизонтальный уровень вдоль задней стенки в отдельных ячейках соцевидных отростков с двух сторон), в левой лобной пазухе обнаружили плотное содержимое (Рис 2.).



Рис. 2. Воспалительные изменения в левой верхнечелюстной пазухе.

На КТ головного мозга – патологии не выявлено. На КТ органов брюшной полости отмечали гепатомегалию, увеличение размеров желчного пузыря, узелковую гиперплазию левого надпочечника, увеличение размеров и утолщение паренхимы обеих почек (картина отека).

При фиброгастродуоденоскопии (ФГДС) от 18.06.15 г. установлены эндоскопические признаки поверхностного антрального гастрита без признаков кровоточивости.

ФБС 19.06.15 г.: эндоскопические признаки эрозивного трахеита, распространенного эндобронхита с умеренно-выраженным гнойно-геморрагическим компонентом. Частичная обтурация трахеи слизистогнойным слепком. Выполнена санация трахеобронхиального дерева, инструментальное восстановление проходимости трахеи.

При посеве БАЛ от 17.06.15 г. – рост *S. albicans* и *S. glabrata*, роста бактериальной биоты и мицелиальных грибов нет. ГМ в БАЛ не определяли. При повторных посевах крови и БАЛ роста микробиоты не наблюдали.

Проводили терапию: левофлоксацин – 500 мг, имипенем – 500 мг, бисептол – 15 мг/кг/сутки.

В связи с выявленным при КТ-исследовании поражением легких, почек, ППН исключали системное заболевание соединительной ткани, были выполнены анализы крови на антинуклеарный фактор (АНФ), антитела к цитоплазме нейтрофилов (АНЦА), антитела к базальной мембране клубочков (анти-БМК) и биопсия ППН. Пациентка проконсультирована ревматологом, на основании результатов обследования данных за системное заболевание не получено.

В связи с выраженной анемией и положительной пробой Кумбса больная получила консультацию гематолога, выполнили стерильную пункцию, данных за аутоиммунную гемолитическую анемию не было.

Провели коррекцию антибактериальной терапии: левофлоксацин – 500 мг, линезолид – 600 мг, ванкомицин – 1,0 г с интервалом 2 дня, также были выполне-

ны гемотрансфузии. На фоне проводимой терапии отмечали умеренную положительную динамику в виде уменьшения ДН, купирования лихорадки и улучшения показателей крови (снижение С-реактивного белка до 66,61 г/л, уровня лейкоцитов – до $8,99 \cdot 10^9/\text{л}$, прокальцитонина – 1,19 нг/мл). Однако прогрессивно нарастала острая почечная недостаточность (ОПН), что потребовало проведения экстренного гемодиализа с 22.06.15 г. С 23.06.15 г. пациентку перевели на парентеральное питание. В этот же день выполнили трахеостомию.

Отмечали выраженную кровоточивость (кровотечение из трахеостомы, гематурия, кровоточивость слизистой оболочки носа после биопсии, множественные подкожные гематомы в местах инъекций). Была выполнена ФГДС, больная осмотрена гематологом, хирургом, нефрологом, ревматологом, пульмонологом, гинекологом. Причина кровотечений не установлена.

При посеве крови от 29.06.15 г. – однократно рост *Acinetobacter baumannii*. Продолжена антибактериальная терапия в прежнем объеме.

На контрольной КТ ОГК от 30.06.15 г. в паренхиме обоих легких полисегментарно на фоне нарастающей диффузной интерстициальной инфильтрации сохранялись множественные фокусы альвеолярной инфильтрации справа S1-S3, слева S1+2, в субплевральных отделах S6, S9-10 правого легкого – уменьшение объема и интенсивности альвеолярного компонента, сохранялся малый правосторонний гидроторакс (Рис. 3.).

Изменения в легких расценены, как аутоиммунный альвеолит. Прогрессировала тромбоцитопения ($63 \cdot 10^9/\text{л}$), анемия ($1,64 \cdot 10^{12}/\text{л}$) и азотемия. 1.07.15. диагностировали гемолитико-уремический синдром, провели 3 пульс-терапии глюкокортикостероидами (ГКС).

Также выполнили повторные посевы крови, патологической биоты не выявили.

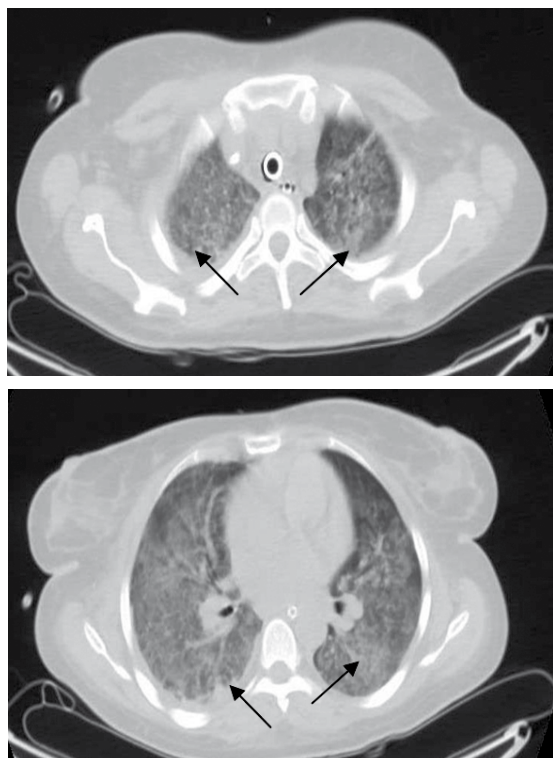


Рис. 3. Множественные фокусы альвеолярной инфильтрации в субплевральных отделах, S9-10 правого легкого.

5.07.15 г. у пациентки развилось диффузное легочное кровотечение. Выполнили трансфузию фактора свертывания VIIa, терапию преднизолоном – 3 мг/кг/сут. На фоне терапии наблюдали прекращение кровотечения, нарастание количества тромбоцитов ($100 \cdot 10^9/\text{л}$), эритроцитов ($2,55 \cdot 10^{12}/\text{л}$), гемоглобина (78 г/л), а также уменьшение азотемии. Больная переведена на самостоятельное дыхание и питание, снижена доза преднизолон до 1 мг/кг/сут. Неоднократно проводили ФБС с целью эндоскопической санации трахеобронхиального дерева.

7.07.15 г. была скорректирована антибактериальная терапия, назначены цефоперазон/сульбактам – 4 г/сут и тигециклин – 100 мг/сут.

При посеве дистального фрагмента ЦВК от 13.07.15 г. отмечали рост *Candida krusei*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*. При последующих посевах крови и дистальных концов катетеров роста биоты не было. К терапии был добавлен флуконазол – 250 мг 1 раз в сутки. С 14.07.15 г. снижена доза ГКС (преднизолон – 0,5 мг/кг в сутки в/в).

19.07.15 г. произошел рецидив диффузного легочного кровотечения, пациентка вновь была переведена на ИВЛ с Fi O_2 – 100%. Наблюдали повышение температуры тела до фебрильных цифр, лейкопению – $5,83 \cdot 10^9/\text{л}$ с палочкоядерным сдвигом (метамиелоциты – 1%) и лимфоцитопенией, тромбоцитопению – $85 \cdot 10^9/\text{л}$, анемию (эритроциты – $2,81 \cdot 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 84 г/л), гипергликемию – 10,7 ммоль/л, а также нарастание уровня лактатдегидрогеназы (568 Е/л до 904 Е/л) и С-реактивного белка (30 мг/л до 243 мг/л).

20.07.15 г. зафиксировали угнетение сознания, отсутствие реакции на болевые раздражители, тотальную мышечную гипотонию, арефлексию, отсутствие краниальных рефлексов, фотореакции зрачков. По данным КТ ОГК отмечали нарастание альвеолярно-интерстициальных изменений. На КТ головного мозга выявили патологическое образование левой височно-теменной области с наличием свежего кровоизлияния вокруг, гемовентрикулии, аксиального вклинения; отек головного мозга (Рис. 4.).

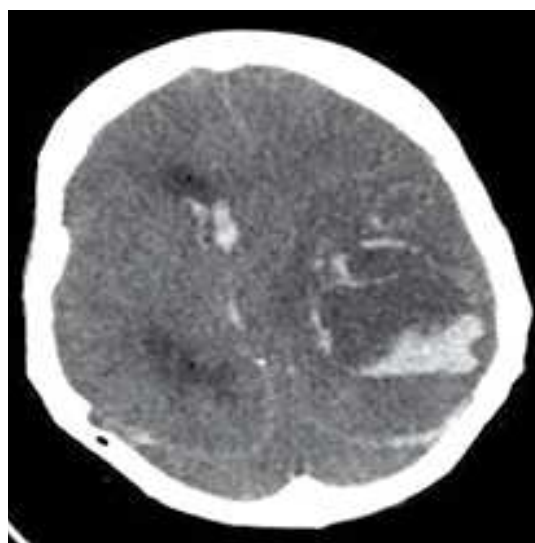


Рис. 4. КТ головного мозга от 20.07.15 г. Патологическое образование левой височно-теменной области.

Диагностировали острое нарушение мозгового кровообращения на фоне тромбоцитопении ($12 \cdot 10^9/\text{л}$).

21.07.15 г. пациентка была осмотрена нейрохирургом. Неврологический статус: уровень сознания – кома III, зрачки D=S, широкие, фотореакция отсутствует, атония, арефлексия. На основании осмотра и данных КТ головного мозга установлена атоническая кома, патологическое образование левой височно-теменной области расценено как опухоль или абсцесс с кровоизлиянием в мозговое вещество и желудочковую систему. В клиническом анализе крови: лейкопения – $4,56 \cdot 10^9/\text{л}$, лимфоцитопения – $0,41 \cdot 10^9/\text{л}$, анемия (эритроциты – $2,34 \cdot 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 70 г/л), тромбоцитопения – $34 \cdot 10^9/\text{л}$. Учитывая терминальное состояние пациентки, нестабильность гемодинамики и высокий риск повторного кровоизлияния, оперативное лечение было признано нецелесообразным.

22.07.15 г. состояние резко ухудшилось – зафиксирована остановка кровообращения (асистолия по кардиомонитору). Был проведен полный комплекс реанимационных мероприятий без эффекта. 27.07.15 г. в 7.30 констатировали биологическую смерть.

По данным аутопсии был установлен патологоанатомический диагноз «генерализованный аспергиллез: двусторонняя аспергиллезная пневмония, аспергиллезный очаговый некротический менигоэнцефалит». Осложнения: левосторонний гидроторакс (слева – 300 мл), отек легких, отек головного мозга. Инфекционно-токсический шок. Паренхиматозная дистрофия вну-

тренних органов, острый канальцевый некроз. Острая почечная недостаточность. Гемодиализ с 22.06.15 г. ИВЛ от 11.06.15 г. Трахеостомия 23.06.15 г., фибринозный трахеит. Сопутствующие заболевания: ЖКБ, хронический калькулезный холецистит, вне обострения.

Аутопсийные материалы были направлены в НИИ медицинской микологии им П.Н. Кашкина для пересмотра. При повторном гистологическом исследовании с использованием специфической окраски на грибы (ПАС, Гомори-Грокотт) выявили наличие элементов гриба, морфологически сходных с аспергиллами, в тканях легких и головного мозга. В паренхиме легких отмечали многочисленные скопления гиф гриба в виде палисады (кустообразное разрастание) (Рис. 5а) и редкие очаги радиального роста разного диаметра (Рис. 5б). Установлена картина активного роста мицелия гриба непосредственно на плевре с четко выраженным тропизмом гиф гриба в сторону плевральной полости (Рис. 5 в, стрелка). Гифы гриба септированные, со средним диаметром 5-6 мкм. Картины латерального ветвления под острым углом приурочены к маргинальной части скопления (Рис. 5 а, стрелка). В тканях головного мозга наблюдали эмболы с вегетациями гриба, а также формирование крупного очага некроза. Гифы гриба встречались редко, септированные, тонкие (2-3 мкм), слабоокрашенные, хаотично ориентированные и ветвящиеся под острым углом.

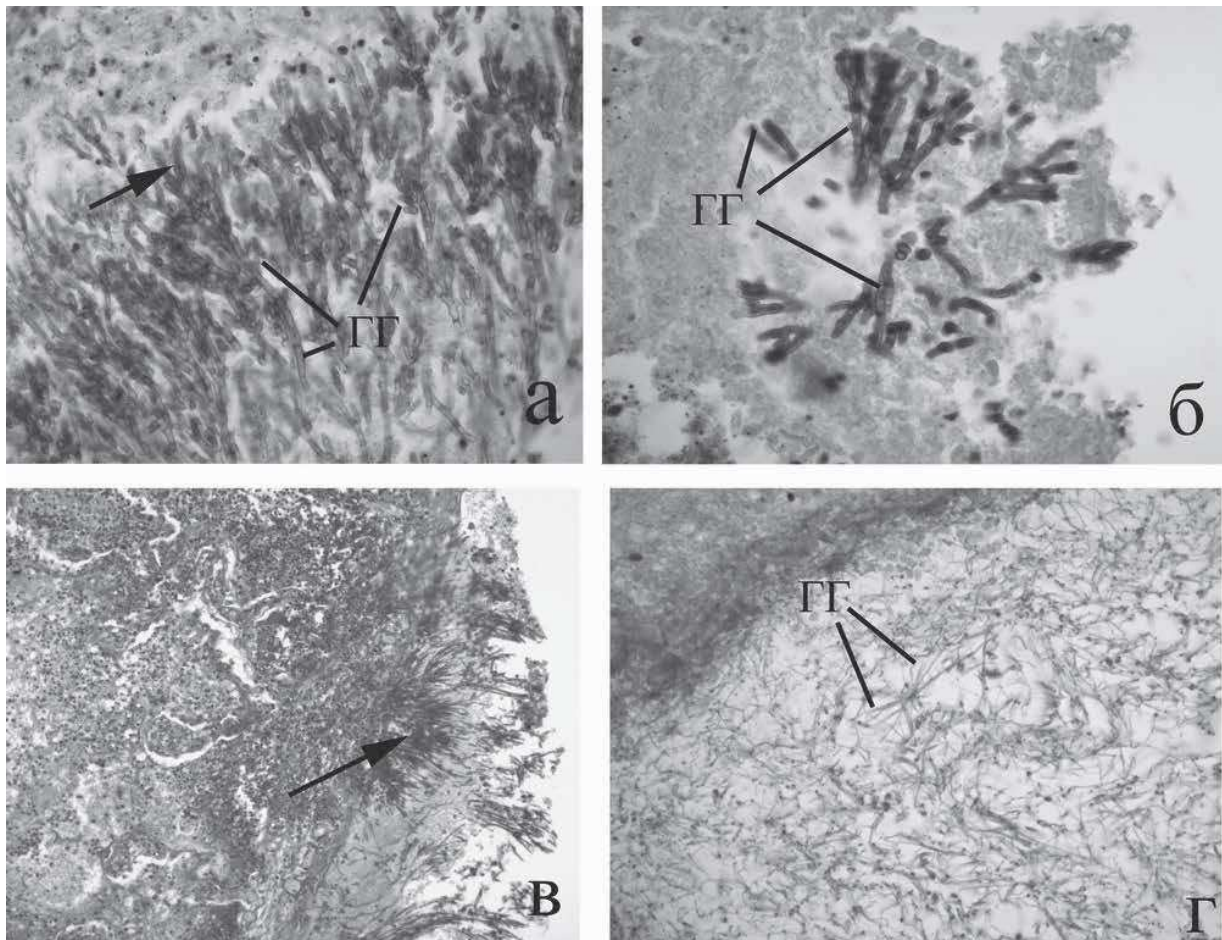


Рис. 5. Поражение тканей легкого (а-в) и головного мозга (г). а, б – Г-Э, в, г – ПАС. а, б, г – х 400, в – х 100. ГГ – гифы гриба.

Скопления гиф гриба с признаками инвазии в ткани наблюдали также в просвете бронхиол, альвеол и кровеносных сосудов. В почке, селезенке, печени и щитовидной железе гифы не установлены.

При молекулярном исследовании клинического аутопсийного материала пациентки с помощью тест-системы «Zygo-Asp-HRM» была выявлена ДНК *Aspergillus* spp. в нескольких тканях: головном мозге, легком, селезенке и печени. При анализе ткани сердца – ДНК *Aspergillus* spp. не обнаружена (Рис. 6).

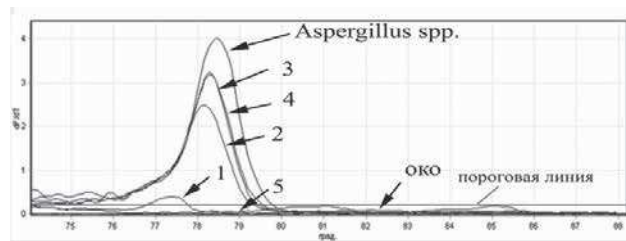


Рис. 6. Кривые плавления ПЦР-продуктов ДНК *Aspergillus* spp., выделенной из парафиновых блоков разных органов больной Н.: 1 – печень, 2 – селезенка, 3 – легкое, 4 – головной мозг, 5 – сердце; *Aspergillus* spp. – ДНК культуры (положительный контроль), ОКО – отрицательный контрольный образец.

Как видно из рисунка 6, мы получили пики плавления ДНК образцов микромицетов только в зоне 77,5-78,3 °С, характерной для *Aspergillus* spp., тогда как в зоне мукоромицетов (83,18-85,94 °С) они отсутствовали. Уровень флуоресценции пиков плавления для образцов разных органов различался: наибольшая интенсивность флуоресцентного сигнала зарегистрирована в тканях головного мозга, легкого и селезенки, а кривая плавления ДНК образца печени лишь незначительно превышала пороговую линию «cut-off».

Таким образом, использование молекулярного анализа аутопсийного материала с применением ПЦР в реальном времени с функцией высокого разрешения (HRM) позволило идентифицировать *Aspergillus* spp. в тканях легкого и головного мозга, а также выявить диссеминацию аспергиллезного процесса с поражением печени и селезенки.

Анализ данных регистра. С 1998 по 2017 гг. мы наблюдали 10 пациентов с сочетанием ИА и ИК, что составило 1,4% от общего числа больных ИА.

Среди пациентов с сочетанным микозом преобладали лица мужского пола – 60%. Возраст больных составил от 18 до 59 лет (медиана – 37). У всех пациентов ИМ развился на фоне онкогематологического заболевания, более половины из которых составили острые лейкозы – 60% (табл.1).

При анализе факторов риска установлено, что у большинства пациентов (90%) сочетанная микотическая инфекция развилась на фоне предшествующего агранулоцитоза, длительность которого составляла от 7 до 60 дней (медиана – 10 дней). Вторым по частоте фактором риска была лимфоцитопения, которую отмечали у 70% больных, длительность – от 6 до 30 дней (медиана – 19 дней). В ОРИТ находились 50% пациентов, терапию системными стероидами получали 40%. Реципиентов алло-ТГСК было 20%, РТПХ наблюдали у 10%. Период времени от развития ИА до микстинфекции составлял от 0 до 120 дней. У половины больных (50%) ИК развился одновременно с ИА.

Первичным очагом аспергиллезной инфекции во всех случаях были легкие (табл.2). В дальнейшем диссеминацию процесса отмечали у 40% пациентов.

Таблица 1

Характеристика больных и факторы риска развития сочетанного микоза

№ п/п	пол/возраст	фоновое состояние	факторы риска					период развития ИК после ИА (дни)
			пребывание в ОРИТ	терапия ГКС	длительность нейтропении (дни)	длительность лимфоцитопении (дни)	алло-ТГСК	
1	ж/37	лимфоцитопения неясного генеза	+	+	-	>30	-	-
2	ж/21	АА	+	+	20	19	+	120
3	м/23	НХЛ	-	-	10	-	+	25
4	м/58	НХЛ	+	-	7	6	-	-
5	м/37	ОЛЛ	-	+	10	нет данных	-	нет данных
6	м/18	ОМЛ	-	-	60	20	-	-
7	ж/36	ОМЛ	+	-	22	12	-	-
8	ж/41	ОМЛ	+	-	10	-	-	44
9	м/48	ОМЛ	-	+	8	8	-	нет данных
10	м/59	ОМЛ	-	-	23	23	-	-

АА – апластическая анемия, НХЛ – неходжкинская лимфома, ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ – острый миелоидный лейкоз, РТПХ – «реакция трансплантат против хозяина».

Таблица 2

Диагностика инвазивного микоза

№ п/п	локализация очага поражения		ГМ БАЛ/кровь (ИОП)	микроскопия	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	Другая сопутствующая инфекция
	ИА	ИК					
1	легкие, ГМ, селезенка, печень	кандидемия	-	+	-	<i>C. krusei</i>	<i>E. faecium</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i>
2	легкие	кандидемия	3,7/-	-	<i>A. flavus</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>Mucor</i>
3	легкие, сепсис	кандидемия	1,9/0,51	-	-	<i>Candida non-albicans</i>	-
4	легкие, ППН, мягкие ткани носа	кандидемия	-/0,36	+	<i>A. flavus</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
5	легкие, ППН	кандидемия	-/0,5	-	-	<i>Candida</i> spp.	-
6	легкие	кандидемия	1,1/-	-	-	<i>C. parapsilosis</i>	-
7	легкие, ЦНС	кандидемия	-/1,59	-	-	<i>Candida</i> spp.	-
8	легкие	ОДК/печень, селезенка	1,0/-	-	-	<i>C. parapsilosis</i>	-
9	легкие	кандидемия	1,1/-	-	-	<i>Candida</i> spp.	<i>K.pneumoniae</i>
10	легкие	кандидемия	1,0/-	-	-	<i>C. krusei</i>	<i>K.pneumoniae</i>

ОДК – острый диссеминированный кандидоз; ГМ – головной мозг; ЦНС – центральная нервная система

При жизни диагноз ИА был установлен у 90% больных. В 80% случаев ИА был верифицирован серологическими исследованиями БАЛ и/или сыворотки крови. Микологическое подтверждение (наличие септированного мицелия при микроскопии биосубстратов или получение культуры *Aspergillus sp.* при посеве) получили у 30% пациентов. Во всех случаях возбудителем был *A. flavus*. В соответствии с критериями EORTC, «доказанный» ИА установлен у 30% больных, из них у двух – диагноз доказан при аутопсии.

На момент выявления ИК длительность нахождения пациентов на отделениях многопрофильного стационара варьировала от трех до 86 суток. Медиана составила 15,5 дней. Основным вариантом была кандидемия – 90%, ОДК с поражением других органов и систем развилась у одного больного.

Микологическое подтверждение ИК было основано на выявлении возбудителей в крови. Во всех случаях диагноз был верифицирован культуральным исследованием. В большинстве случаев ИК был обусловлен *Candida non-albicans* видами (70 %). *C. parapsilosis* и *C. krusei* выявили у 30% больных каждый. 40% культур *Candida spp.* были идентифицированы только до рода.

У одного пациента грибковая микст-инфекция была вызвана тремя патогенами – *A. flavus*, *C. parapsilosis* и *Mucor*. Сопутствующую бактериальную инфекцию отмечали у 40% больных.

Все пациенты получали антифунгальную терапию. Однако в приведенном клиническом случае больная не получала средства, активные против плесневых грибов, так как ИА был диагностирован посмертно. Основными антифунгальными препаратами были амфотерицин В и вориконазол, использовавшиеся в 60% случаев каждый (табл. 3).

Таблица 3

Терапия и общая выживаемость больных сочетанным ИМ			
№ п/п	Антимикотическая терапия препараты	Общая продолжительность терапии ИМ (дни)	Показатели 12-недельной летальности после микст-инфекции
1	флуконазол	10	умер
2	амфолип амфотерицин В вориконазол позаконазол	149	умер
3	вориконазол позаконазол	360	жив
4	амфотерицин В вориконазол флуконазол	106	умер
5	амфотерицин В вориконазол	50	жив
6	амфотерицин В итраконазол	46	умер
7	амфолип вориконазол	10	умер
8	вориконазол каспофунгин флуконазол	149	жив
9	амфотерицин В	26	жив
10	амфотерицин В	27	умер

Несмотря на проводимую антимикотическую терапию, для пациентов с сочетанной грибковой инфекцией была характерна высокая смертность. Общая летальность больных ИА и ИК в течение 30-ти дней составила 40%, 12 недель – 60%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Среди «оппортунистических» инфекций наиболее многочисленную группу составляют микозы, воз-

будителями которых являются условно-патогенные дрожжеподобные и плесневые грибы. Большинство из них относятся к представителям естественной микробиоты кожных и слизистых покровов, а реализация их патогенного потенциала и инвазия в ткани и органы возможна только при нарушении механизмов иммунной защиты. ИА возникает преимущественно у онкогематологических больных во время цитостатической и иммуносупрессивной терапии, реципиентов аллотКСК, а также на фоне длительного применения стероидов [1, 10]. Однако отмечено появление когорты больных, у которых ИА развивается на фоне длительной лимфоцитопении, а также в отсутствии четких факторов риска [11-13].

Известно, что *Candida spp.* являются наиболее распространенными возбудителями ИМ у пациентов, находящихся в ОРИТ. По данным национального комитета безопасности здоровья (National Healthcare Safety Network) США, *Candida spp.* занимают пятое место среди всех возбудителей внутрибольничных инфекций и четвертое место – среди возбудителей, выделяемых из крови [14]. При анализе данных более 60 тыс. пациентов, госпитализированных в ОРИТ в период с 2009 по 2011 гг., установлено, что частота возникновения ИМ составила 4,7 случаев на 1000 человек [15]. В большинстве случаев ИК – внутрибольничная инфекция, основными факторами риска которой являются использование ЦВК, длительное применение антибиотиков широкого спектра действия, ИВЛ, хирургическое лечение или перфорация желудочно-кишечного тракта, полное парентеральное питание, сахарный диабет, применение системных стероидов и иммуносупрессоров [16-18].

Согласно модели расчета, предложенной обществом LIFE (Leading international fungal education), заболеваемость инвазивным кандидозом в Российской Федерации составляет 8,29, инвазивным аспергиллезом – 2,24 на 100000 человек [19].

В литературе мы нашли лишь единичные описания клинических случаев сочетания ИК и ИА (табл.4).

Таблица 4

Анализ клинических случаев, основанный на литературных данных

Ссылка на источник	Пол/возраст	Фоновое состояние	Локализация	Доказанный / вероятный ИМ	АМТ	Исход
[3]	ж/71	ОМЛ сахарный диабет	легкие, печень, селезенка, почки	доказанный	не проводили	выживаемость < 30 дней
[4]	м/28	тяжелая травма руки	кисть	доказанный	амфотерицин В	жив
[5]	ж/53	сахарный диабет	легкие	доказанный	+ нет данных о препарате	выживаемость < 30 дней
[6]	м/18	ОЛЛ	нет данных	нет данных	+ нет данных о препарате	выживаемость < 30 дней

Как правило, клинические данные ограничены. Сведения о частоте сочетанных ИМ базируются на результатах аутопсий. Так, по материалам многоцентрового исследования, включающего анализ 193095 аутопсий, проведенных в период с 2003 по 2008 гг., менее половины инвазивных грибковых инфекций диагно-

стируют прижизненно (12-60%) [20]. Распространенность ИМ имела широкий диапазон в разных центрах – от 1,4 до 30,6 на 100 аутопсий (медиана – 8,7 на 100 аутопсий). В этих же исследованиях установлена распространенность сочетанных ИМ, которая составила 4,4 на 100 аутопсий. Отметим, что в онкогематологической когорте больных распространенность ИМ значительно выше, чем в общей популяции, и составляет 25 на 100 аутопсий. Наиболее частыми возбудителями ИМ были *Aspergillus* spp. (55,5%) и *Candida* spp. (28,5%) [21, 22].

Для ИА наиболее характерно поражение легких, которое выявляют у 80-90% больных. По результатам клинических исследований, проведенных в Италии [23], легочную локализацию ИА наблюдали у 90% пациентов с ОМЛ, что совпадает и с результатами наших предыдущих исследований [24]. У больных с сочетанным микозом, включенных в настоящее исследование, первичным очагом аспергиллезной инфекции во всех случаях также были легкие. Известно, что аспергиллез ЦНС развивается преимущественно вследствие гематогенной диссеминации, частота данного осложнения зависит от выраженности иммуносупрессии, варьирует от 3 до 30% у различных категорий больных и ассоциирована с неблагоприятным прогнозом (летальность – 40-90%) [16]. При генерализации инфекции вторичные очаги поражения обнаруживают в костной ткани, реже – в почках, печени, селезенке, щитовидной железе, эндокарде, глазном яблоке, органах желудочно-кишечного тракта. У пациентов с сочетанием ИА и ИК диссеминация аспергиллезной инфекции возникла в 40% случаев.

По данным проведенного в Санкт-Петербурге многоцентрового исследования, наиболее частыми клиническими формами ИК являются кандидемия (81%) и кандидозный перитонит (17%). Общая выживаемость у больных ИК в течение 30 суток составляет 53%. Атрибутивная летальность при ИК остается высокой – 10-47% [16, 25]. В нашем исследовании подтверждено, что сочетанная микотическая инфекция является прогностически неблагоприятным фактором. Летальность в течение 12 недель составила 60%.

В описанном нами клиническом случае у пациентки не было диагностировано онкогематологическое заболевание. На протяжении всего периода госпитализации у больной отмечали лимфоцитопению, а затем и панцитопению, причину которой выяснить не удалось. На фоне отрицательных результатов микологических

исследований крови и БАЛ на мицелиальные грибы ИА не был диагностирован прижизненно. Генерализованный характер ИА удалось подтвердить только при исследовании аутопсийного материала. Примечательно, что в гистологических образцах непосредственно на плевре был выявлен мицелий гриба, сходного с аспергиллами, с признаками активного роста. Периферические активно растущие участки скоплений гиф гриба отличались более интенсивной базофилией (Г-Э). При гистологическом исследовании выявили четкие различия гиф гриба в зависимости от локализации: в тканях легких ширина гиф была в 2 раза больше, чем в головном мозге. Эти особенности ранее уже отмечали другие авторы [26,27]. Кроме того, в тканях мозга не увидели выраженной воспалительной клеточной реакции, тогда как в легочной ткани вблизи обильных скоплений гиф гриба наблюдали зоны некроза легочной ткани с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией и большим числом распадающихся нейтрофилов.

При молекулярном исследовании аутопсийного материала методом ПЦР выявили наличие ДНК *Aspergillus* spp. в головном мозге, легком, селезенке и печени. Применение молекулярных методов диагностики при смешанной этиологии грибковых инфекций может быть полезно для идентификации возбудителя и определения тактики антифунгальной терапии [3].

ВЫВОДЫ

Пациенты с сочетанием инвазивного кандидоза и инвазивного аспергиллеза составляют 1,4% от общего числа больных инвазивным аспергиллезом.

Сочетание инвазивного кандидоза и инвазивного аспергиллеза развивается у онкогематологических пациентов, преимущественно на фоне острого лейкоза (60%).

Основные факторы риска: агранулоцитоз (90%), лимфоцитопения (70%), нахождение в ОРИТ (50%), а также терапия системными глюкокортикостероидами (40%).

При сочетанной инфекции основной возбудитель инвазивного аспергиллеза – *A. flavus*, инвазивного кандидоза – *C. parapsilosis* и *C. krusei*.

При сочетанной инфекции первичным очагом аспергиллезной инфекции были легкие (100%), основной клинический вариант инвазивного кандидоза – кандидемия (90%).

Сочетание инвазивного кандидоза и инвазивного аспергиллеза характеризуется высокой общей 12-недельной летальностью – 60%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herbrecht R., Bories P., Moulin J.C., Ledoux M.P. Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Annals N.Y. Acad.Sci.* 2012; 1272: 23-30.
2. Patterson T.F., Thompson G.R., Denning D.W. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63 (4): e1-e60.
3. Rickerts V., Cormick Smith Mc., Mousset S., et al. Deciphering the etiology of a mixed fungal infection by broad-range PCR with sequencing and fluorescence in situ hybridization. *Mycosis Case report.* 2013; 56 (6): 681-686.
4. Obradovic-Tomasevic M., Popovic A., Vuckovic N., Jovanovic M. Mixed Fungal Infection (*Aspergillus*, *Mucor*, and *Candida*) of Severe Hand Injury. *Hindawi Publishing Corporation Case Rep. Infect. Dis.* 2014; Article ID 954186: 4. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/954186>
5. Java S., Vipparthi Harithna. Mixed fungal lung infection with *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* in a immunocompromised patient: Case report. *JCDR.* 2014; 8 (4): 8-10.
6. Fujita K. et al. Mixed invasive aspergillosis and candidiasis in fatal case of leukemia. *Pediatrics International.* 1991; 33(2): 191-194.
7. 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; 46 (12): 1813-21.
8. Белоцерковская Е.В., Михайлова Ю.В., Авдеенко Ю.Л., Полищук А.Г. Детекция и идентификация аспергиллов и зигомизетов в образцах тканей, заключенных в парафин, с помощью новой мультиплексной ПЦР в реальном времени. Успехи медицинской микологии. 2014; XIII: 6-7. [Belotserkovskaya E.V., Mihaylova Yu.V., Avdeenko Yu.L., Polischuk A.G. Detektsiya i identifikatsiya aspergillov i zigomitsetov v obraztsah tkaney, zaklyuchennykh v parafin, s pomoschyu novoy multipleksnoy PTsR v realnom vremeni. Uspеhi meditsinskoй mikologii. 2014; XIII: 6-7 (In Russ)].
 9. Михайлова Ю.В., Чилина Г.А., Полищук А.Г. Молекулярная идентификация представителей *Aspergillus* spp. из Российской коллекции патогенных грибов по нуклеотидным последовательностям рДНК. Проблемы медицинской микологии. 2012; 14 (4): 46-49. [Mihaylova Yu.V., Chilina G.A., Polischuk A.G. Molekulyarnaya identifikatsiya predstaviteley *Aspergillus* spp. iz Rossiyskoy kollektcii patogennykh gribov po nukleotidnyim posledovatel'nostyam rDNK. Problemy meditsinskoй mikologii. 2012; 14 (4): 46-49 (In Russ)].
 10. Girmenia C., A. Micozzi, A. Piciocchi, et al. Invasive fungal diseases during first induction chemotherapy affect complete remission achievement and long-term survival of patients with acute myeloid leukemia. Leuk. Res. 2014; 38: 469-474.
 11. Saini J., Gupta A. K., Jolapara M. B., et al. Imaging findings in intracranial *Aspergillus* infection in immunocompetent patients. World Neurosurgery. 2010; 74 (6): 661-670.
 12. Шадривова О. В., Фролова Е. В., Филиппова Л. В. и др. Клинико-иммунологические особенности инвазивного аспергиллеза у больных с лимфомой Ходжкина. Клиническая онкогематология. 2014; 2: 233-238.
 13. Moreno-González G., Ricart de Mesones A., Tazi-Mezalek R., et al. Invasive pulmonary aspergillosis with disseminated infection in immunocompetent patient. Can. Respir. J. 2016; Article ID 7984032: 5.
 14. Sievert D. M., Ricks P., Edwards J. R., et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) Team and Participating NHSN Facilities Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention 2009-2010. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2013; 34(1): 1-14.
 15. Fabio Silvio Taccone, Anne-Marie Van den Abeele, Pierre Bulpa, et al. Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes. Critical Care. 2015; 19: 7.
 16. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские рекомендации / под ред. Н. Н. Климко. ООО «Фармтек». 2015: 95. [Diagnostika i lechenie mikofov v otdeleniyah reanimatsii i intensivnoy terapii. Rossiyskie rekomendatsii / pod red. – N. N. Klimko. ООО «Farmtek». 2015: 95 (In Russ)].
 17. Muskett H., Shahin J., Eyles G., et al. Risk factors for invasive fungal disease in critically ill adult patients: a systematic review. Crit. Care Med. 2011;15: 287-287.
 18. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. 3-е изд. перераб. и доп. – М.: Фармтек, 2017: 272 с. [Klimko N.N. Mikozyi: diagnostika i lechenie. Rukovodstvo dlya vrachey. 3-e izd. pererab. i dop. – M.: Farmtek, 2017: 272 s. (In Russ)].
 19. Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., et al. The burden of serious fungal diseases in Russia. Mycoses. 2015; 58 (S5): 58-62.
 20. Dignani M. C. Epidemiology of invasive fungal diseases on the basis of autopsy reports. F1000Prime Reports. 2014; 6: 81.
 21. Donhuijsen K, Petersen P, Schmid W.K. Trend reversal in the frequency of mycoses in hematological neoplasias: autopsy results from 1976 to 2005. Dtsch Arztebl Int. 2008; 105: 501-6.
 22. Lewis R.E., Cahyame-Zuniga L., Leventakos K., et al. Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20- year autopsy study. Mycoses 2013, 56: 638-45.
 23. Pagano L., Caira M., Candoni A., et al. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study. Haematologica. 2010; 95 (4): 644-650.
 24. Климко Н.Н., Шадривова О.В., Хостелиди С.Н. и др. Инвазивный аспергиллез: результаты многоцентрового исследования. Онкогематология. 2014; 2: 13-19. [Klimko N.N., Shadrivova O.V., Khostelidi S.N. i dr. Invazivnyiy aspergillez: rezultaty mnogo-tsentrovogo issledovaniya. Onkogematologiya. 2014; 2: 13-19 (In Russ)].
 25. Шагдилеева Е.В. Клинико-лабораторные особенности инвазивного кандидоза: дисс... канд. мед. наук. Спб., 2014: 122. [Shagdileeva E.V. Kliniko-laboratornyie osobennosti invazivnogo kandidoza: diss... kand. med. nauk. SPb., 2014: 122 (In Russ)].
 26. Кораблина И.М., Цинзерлинг В.А., Аравийский Р.А. Аспергиллез по данным аутопсий в Ленинградской областной клинической больнице с 2001 по 2010 гг. Проблемы медицинской микологии. 2011; 13 (5): 45-49. [Korablina I.M., Tsinzerling V.A., Araviyskiy R.A. Aspergillez po dannym autopsiy v Leningradskoy oblastnoy klinicheskoy bolnitse s 2001 po 2010 gg. Problemy meditsinskoй mikologii. 2011; 13 (5): 45-49 (In Russ)].
 27. Цинзерлинг В.А., Аравийский Р.А., Васильева М.В. и др. Наблюдение аспергиллезного сепсиса при ВИЧ-инфекции в стадии СПИД. Проблемы медицинской микологии. 2008: 10 (4): 6-8. [Tsinzerling V.A., Araviyskiy R.A., Vasileva M.V. i dr. Nablyudenie aspergillezno go sepsisa pri VICH-infektsii v stadii SPID. Problemy meditsinskoй mikologii. 2008: 10 (4): 6-8 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 12.02.2018 г.

Рецензент: С.Н. Хостелиди



ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ И КАПСУЛЫ ЗРЕЛЫХ КЛЕТОК СЛАБО И СИЛЬНОВИРУЛЕНТНЫХ ШТАММОВ *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* VAR. *NEOFORMANS* В ХОДЕ *IN VITRO*→*IN VIVO* ТРАНСФОРМАЦИИ

Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), Степанова А.А. (зав. лаб.)*

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

© Коллектив авторов, 2018

На примере зрелых дрожжевых клеток 14 штаммов *C. neoformans*, выращенных *in vitro*, и 13 штаммов, размножившихся *in vivo* (в легких и мозге мышей в ходе моделирования экспериментального криптококкоза), приведены данные по строению клеточной стенки и полисахаридной капсулы. Показано, что зрелые дрожжевые клетки гриба *in vitro* и *in vivo* различались между собой по толщине и строению полисахаридной капсулы, однако эти признаки не были связаны со степенью их вирулентности. Ультраструктура полисахаридной капсулы зрелых клеток у разных штаммов *C. neoformans* подвергалась изменениям при смене условий *in vitro*→*in vivo*. Выявлено для зрелых дрожжевых клеток 14 штаммов *in vitro* 4 типа тонкого строения капсулы и для 13 штаммов *in vivo* (в легких и мозге мышей) также 4 типа, но принципиально другого строения.

Ключевые слова: *Cryptococcus neoformans*, *in vitro*, *in vivo*, легкие и мозг мышей, полисахаридная капсула, ультраструктура, экспериментальный криптококкоз

ELECTRON-MICROSCOPIC INVESTIGATION OF THE CELL WALL AND CAPSULES IN MATURE CELLS OF POORLY AND STRONGLY VIRULENT STRAINS OF *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* VAR. *NEOFORMANS* DURING *IN VITRO*→*IN VIVO* TRANSFORMATION

Vasilyeva N.V. (director of institute, head of the department), Stepanova A.A. (head of the laboratory)

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

© Collective of authors, 2018

* Контактное лицо: Степанова Амалия Аркадьевна, e-mail: amaliya.stepanova@szgmu.ru

On the example the mature yeast cells of 14 *C. neoformans* strains growing *in vitro* and 13 strains reproduced *in vivo* in mouse lung and brain during modeling of experimental cryptococcosis the data according the transformation of cell walls and capsular polysaccharide ultrastructure were carry out. It was revealed that the mature fungal yeast cells *in vitro* and *in vivo* differ with cell wall thickness and capsular polysaccharide structure, however, this could signs not be interrelated with the degree of their virulence. The capsular polysaccharide ultrastructure of the mature cells strains of *C. neoformans* undergoes the changes during *in vitro*→*in vivo* transformation. It was revealed 4 types of a fine structure of the mature yeast cells capsules for 14 strains and for 13 strains *in vivo* (in lung and a brain of mice) also 4 types, but completely other structure.

Key words: capsular polysaccharide, *Cryptococcus neoformans*, experimental cryptococcosis, *in vitro*, *in vivo*, mouse lung and brain, ultrastructure

ВВЕДЕНИЕ

Капсулообразование – видовой признак *C. neoformans*. Полисахаридная капсула также выполняет функцию физического барьера, препятствующего фагоцитозу, оказывает многоплановое влияние на иммунную систему хозяина [1].

Особенности ультраструктуры полисахаридной капсулы дрожжевых клеток *C. neoformans* описаны в небольшом числе работ [2-4], главным образом, на примере культур гриба, выращенных *in vitro*. Однако до сих пор малоизученными оставались характер изменений ультраструктуры клеточной стенки и полисахаридной капсулы у зрелых клеток криптококка, в частности, у штаммов разной вирулентности в условиях *in vitro* и *in vivo*, что и стало задачей настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали штаммы из Российской коллекции патогенных грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова. С помощью методов трансмиссионной электронной микроскопии изучали особенности строения стенок и капсул зрелых клеток 14 штаммов разной вирулентности (РКПГУ-719, 1063, 1067, 1085, 1088, 1091, 1093, 1095, 1113, 1166, 1176, 1178, 1180 и 1175) *C. neoformans*, выращенных *in vitro* на среде Сабуро, и 13 штаммов разной вирулентности (РКПГУ-881, 1067, 1090, 1093, 1095, 1096, 1105, 1106, 1165, 1176, 1178, 1180 и 1181) – в тканях легких и мозга через семь суток после внутривенного введения мышам культур этих штаммов. У семи штаммов (РКПГУ-852, 853, 1085, 1088, 1089, 1113 и 1164) эти цитологические характеристики изучали только в тканях мозга мышей, поскольку в легких в это время мы их не обнаруживали. Культуры гриба выращивали 72 часа при 37 °С на агаре Сабуро (рН 5,7).

Материал фиксировали и обрабатывали по методике, описанной нами ранее [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ультраструктура стенки и полисахаридной капсулы зрелых дрожжевых клеток у штаммов *C. neoformans* разной вирулентности, выращенных *in vitro*. В составе стенки зрелой дрожжевой клетки гриба имеется рубчик, образовавшийся после отделения почки от материнской клетки. Снаружи клеточная стенка покрыта хорошо развитым слоем полисахаридной капсулы (Рис. 1, 2).

На основании анализа средних значений толщины клеточной стенки зрелых клеток *C. neoformans*

выделены три группы штаммов: с толстыми (в пределах от 0,40 до 0,43 мкм), средней толщины (от 0,21 до 0,23 мкм) и тонкими (от 0,10 до 0,18 мкм) стенками. Для зрелых клеток исследованных штаммов были характерны однослойные темные клеточные стенки, состоящие из высококонтрастных микрофибрилл (Рис. 1). Мы не обнаружили статистически значимых различий в толщине стенок зрелых клеток гриба в зависимости от степени вирулентности штаммов, выращенных *in vitro*. Клетки сильно-, средне- и слабовирулентных штаммов могли иметь как толстые, так и средней толщины и тонкие стенки.

С целью выявления общего и наиболее типичного плана строения капсулы мы изучали ее строение на всех стадиях развития клетки *S. neoformans*. Установлено, что для зрелых клеток исследованных штаммов гриба, выращенных *in vitro*, характерно наличие 4-х основных типов строения капсулы.

Так, зрелые клетки культур штаммов РКПГУ-1067 и 1113 имели наиболее просто устроенный 1-ый тип строения полисахаридной капсулы (Рис. 1 а, б). В составе капсулы этого типа различимы три слоя: первый, непосредственно прилегающий к клеточной стенке, – тонкий, светлый и тонко-гранулярный; второй – также тонкий, темный, состоящий из беспорядочно ориентированных светлых и темных микрофибрилл. Третий слой в составе капсулы 1-го типа светлый, аморфный.

Второй тип строения полисахаридной капсулы был описан для зрелых клеток штаммов РКПГУ-719, 1063, 1091, 1095 и 1180 (Рис. 1 в, г). Первый ее слой – тонкий, светлый, умеренной плотности, гранулярно-фибрилярный, с мелкими темными глыбками неправильной формы в верхней половине, плотность расположения которых возрастала в центробежном направлении. Второй слой – более плотный, имел грубо-фибрилярное строение; внутри него и на поверхности встречались мелкие и более крупные электронно-плотные глыбки разной формы и размеров, а также мелкие светлые включения, в основном, сконцентрированные в нижней его части. Третий слой у капсулы этого типа, как и в таковой 1-го типа, был светлым и аморфным.

Третий тип строения капсулы был выявлен для зрелых клеток штаммов РКПГУ-1088, 1093 и 1176 (Рис. 1 д, е). Первый ее слой в 2 раза толще, чем в капсулах первых 2-х типов, электронно-светлый, с редкими, едва различимыми микрофибриллами. Отличительной особенностью строения полисахаридной капсулы третьего типа было то, что 2-ой (на схеме 2) слой был в 2-3 раза тоньше, чем аналогичный у капсулы 2-го типа, имел умеренную электронную плотность и однородную текстуру. В его верхнем слое наблюдали более крупные электронно-плотные глыбки различной морфологии. Третий (на схеме 3) слой у капсулы этого типа по электронной плотности и особенностям строения сходен с таковым капсул 1-го и 2-го типов тонкого строения.

Четвертый тип строения капсулы был характерен для зрелых клеток штаммов РКПГУ-1085, 1166, 1175 и 1178 (Рис. 1 ж, з). Первый (на схеме 1) слой капсулы – чрезвычайно тонкий, светлый, 2-ой (на схеме 1а) – толстый, также светлый, фестончатой формы, пронизанный многочисленными радиально ориентированными микрофибриллами. Снаружи он покрыт 3-им

(на схеме 2) плотным грубо-гранулярным слоем, имеющим также неровный внешний контур. Последний, 4-ый (на схеме 3) слой капсулы у зрелых клеток этих штаммов имел строение, сходное с капсулами первых трех типов.

Ультраструктура клеточной стенки и полисахаридной капсулы зрелых дрожжевых клеток штаммов *S. neoformans* разной вирулентности *in vivo*. В ходе экспериментального моделирования криптококкоза, через 7 суток после внутривенного введения патогенов мышам, клетки 11-ти штаммов (РКПГУ-881, 1067, 1090, 1093, 1095, 1096, 1106, 1176, 1178, 1180 и 1181) гриба наблюдали в тканях легких и мозга. Клетки 7-ми штаммов (РКПГУ-852, 853, 1085, 1088, 1089, 1113 и 1164) выявляли в тканях мозга, а в легких они отсутствовали. Клетки культур гриба 4-х штаммов (РКПГУ-719, 856, 1091 и 1171) в тканях легких и мозга инфицированных мышей не обнаружили.

В группе сильновирулентных штаммов клетки 7-ми штаммов (РКПГУ-1090, 1093, 1095, 1096, 1106, 1180, 1181) наблюдали в тканях легких и мозга, тогда как остальных 4-х (РКПГУ-1085, 1088, 1089, 1113) – только в тканях мозга. Клетки 2-х из средневирулентных штаммов (РКПГУ – 1067 и 1176) отмечали в тканях легких и мозга, 2-х (РКПГУ- 852, 1164) – только мозга и 1-го (РКПГУ-1091) – не были выявлены в этих органах. Клетки слабовирулентных штаммов (РКПГУ-881 и 1178) определяли в тканях легких и мозга, РКПГУ-853 – только в тканях мозга, а РКПГУ-719, 856 и 1171 – в анализируемых органах не найдены.

Иными словами, мы не обнаружили взаимосвязи между встречаемостью клеток гриба в том или ином типе органа мышей и степенью вирулентности штаммов. При сравнении толщины стенки зрелых клеток гриба установлено, что она была разной в зависимости от типа органа мышей. Так, в тканях легких зрелые клетки гриба имели значительно более толстые стенки, чем в тканях мозга. Наиболее сильно (в 4,6 раза) эти различия были очевидны для зрелых клеток сильновирулентного штамма РКПГУ-1093, а наиболее слабо (1,3 раза) – для таковых слабовирулентного – РКПГУ-1178. По толщине стенки клеток, инфицирующих ткани легких, анализируемые штаммы разделили на три группы. В первую группу включили только один штамм – РКПГУ-1093, клетки которого характеризовались наличием самых толстых клеточных стенок (0,60 мкм). Вторую группу составили шесть штаммов (РКПГУ-1067, 1096, 1106, 1176, 1180 и 1181), зрелые клетки которых имели стенки, толщина которых варьировала в пределах 0,30-0,46 мкм (разница – 0,16). В третью группу вошли 4 штамма (РКПГУ-881, 1090, 1095 и 1178), у клеток которых толщина стенок находилась в пределах от 0,12 до 0,24 мкм (разница – 0,1).

При анализе взаимосвязи толщины стенки зрелых клеток и степени вирулентности штаммов показано, что в группе сильновирулентных штаммов толщина клеточной стенки колебалась в пределах от 0,10 до 0,18 мкм (разница – 0,08), средневирулентных – 0,10-0,14 (разница – 0,04), а слабовирулентных – 0,09-0,12 мкм (разница – 0,03). В группе сильновирулентных штаммов пределы варьирования значений толщины клеточной стенки были самыми высокими, слабовирулентных – самыми низкими. Группа средневирулентных штаммов по этому показателю занимала промежуточ-

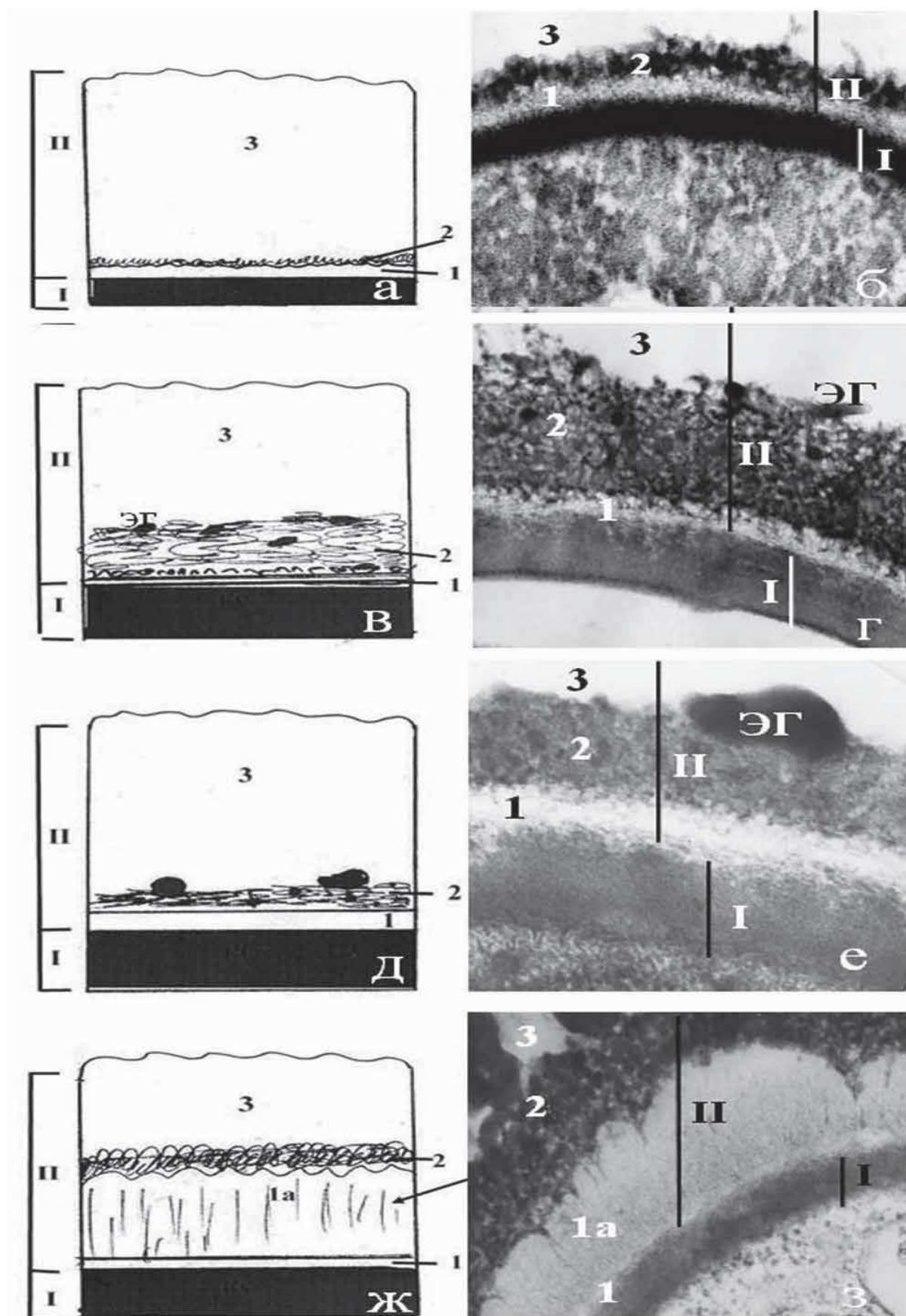


Рис. 1. Ультраструктура клеточных стенок и капсулы первого (а, б - шт. 1067, 1113), второго (в, г - шт. 719, 1063, 1091, 1095, 1180), третьего (д, е - шт. 1088, 1093, 1176) и четвертого (ж, з - шт. 1085, 1166, 1175, 1178) типов у зрелых клеток *S. neoformans*, выращенных *in vitro*. а, в, д, ж - схемы; б, г, е, з - электронограммы (ув.: х 60000). Условные обозначения здесь и на Рис. 2: I - клеточная стенка, II- капсула. Мф - микрофибриллы первого порядка, ЭГ - электронно-плотная глыбка. Стрелкой показана микрофибрилла первого порядка.

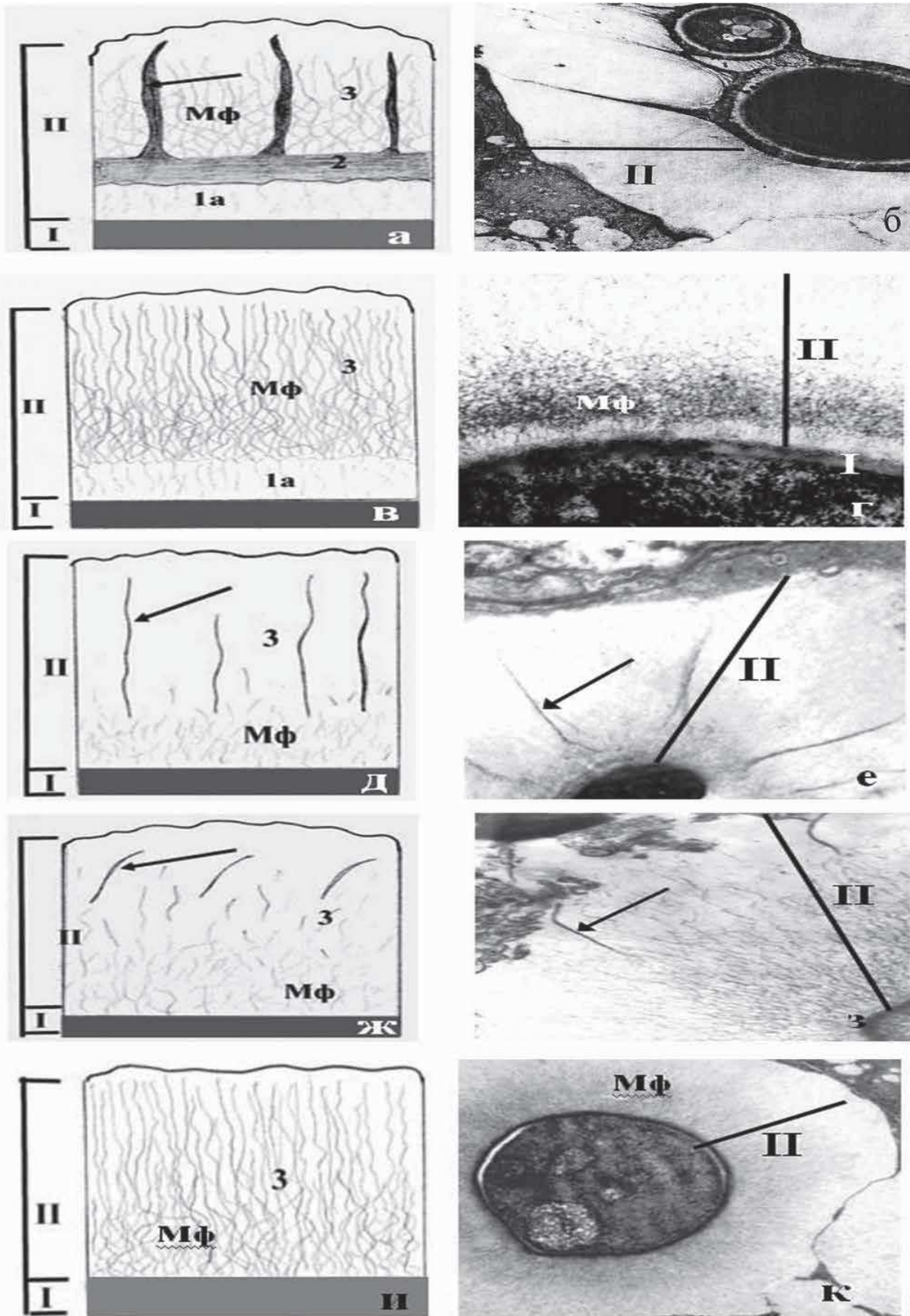


Рис. 2. Ультраструктура клеточных стенок и четыре типа строения капсулы зрелых клеток *C. neoformans* в тканях легких и мозга мышей через семь суток после начала эксперимента: а, б – 5-ый тип (шт. 1095, 1178); в, г – 6-ой тип (шт. 852, 1088, 1089, 1096, 1106, 1113, 1176); д-з – 7-ой тип (шт. 881, 1067, 1090); и, к – 8-ой тип (шт. 853, 1093, 1085, 1164, 1180, 1181). а, в, д, ж, и – схемы; б, г, е, з, к – электронограммы (ув.: б, к – $\times 10000$, г – $\times 37000$; е, з – $\times 12000$). Стрелками показаны микрофибриллы второго порядка.

ное положение.

По особенностям тонкого строения клеточных стенок исследованные штаммы, культуры которых вызывали поражение тканей легких и/или мозга мышей, разделили на три группы: с однослойными, темными, гомогенными (РКПГУ- 881, 1067, 1088, 1089, 1090, 1093, 1095, 1113, 1164, 1176 и 1180); с однослойными, умеренной электронной плотности, со слаборазличимыми микрофибриллами (РКПГУ-853, 1085, 1096, 1178 и 1181) и многослойными, умеренной электронной плотности, с хорошо различимыми микрофибриллами, перемежающимися со светлыми ламеллами (РКПГУ-852, 1090 и 1106). Отметим, что особенности ультраструктуры клеточных стенок дрожжевых клеток криптококка были идентичны при инфицировании ими тканей легких и мозга мышей.

У зрелых клеток гриба, локализующихся в тканях мышей, через семь дней после начала эксперимента выявили 4 типа (5-ый, 6-ой, 7-ой, 8-ой, Рис. 2) тонкого строения полисахаридной капсулы. По нашим наблюдениям, тип строения полисахаридной капсулы зрелых клеток гриба был идентичен для зрелых клеток гриба одного штамма вне зависимости от того, какой тип органа (легкие или мозг) он поражал.

У двух штаммов (РКПГУ-1095 – сильная вирулентность и 1178 – слабая вирулентность), клетки которых имели 5-ый тип строения капсулы, в составе полисахаридной капсулы были четко различимы 3 слоя (Рис. 2 а, б). В светлом матриксе первого слоя выявляли четкую сеть из радиально ориентированных темных микрофибрилл. Верхняя граница слоя имела слабоволнистый контур, а нижняя – повторяла контур клеточной стенки. В стенках клеток всех 4-х штаммов толщина первого слоя полисахаридной капсулы была выше в клетках гриба, локализованных в тканях легких, нежели мозга. Зрелые клетки штамма РКПГУ-1178 занимали промежуточное положение по толщине первого слоя их стенок. Второй слой полисахаридной капсулы был гомогенный и темный. Нижняя граница этого слоя повторяла наружный контур первого слоя, а верхний – также имел слегка волнистые очертания. Толщина второго слоя была больше у клеток гриба, расположенных в тканях легких, чем мозга. В тканях легких она была наибольшей (0,69 мкм) у стенок клеток штамма РКПГУ-1095 и наименьшей (0,16 мкм) – у РКПГУ-1178. Соответственно, у клеток криптококка, расположенных в тканях мозга, толщина второго слоя стенок была наибольшей (0,56 мкм) у клеток штамма 1095, а наименьшей (0,12 мкм) – у штамма 1178. Отметим, что значения и пределы варьирования толщины стенки были выше у таковых, поражающих ткани легких (0,12-0,35 мкм), нежели мозга (0,09-0,11 мкм). У 3-х из 4-х штаммов этой группы была очевидна следующая тенденция: толщина 1-го слоя полисахаридной капсулы находилась в прямой зависимости от толщины второго слоя. Исключение составляли только полисахаридные капсулы клеток штамма РКПГУ-1095, в которых толщина 2-го слоя превышала таковую 1-го слоя в 3 раза у зрелых клеток гриба, инфицирующих ткани легких, и в 4,6 раза – мозга. В светлом матриксе третьего, завершающего слоя капсулы наблюдали умеренно развитую сеть микрофибрилл первого порядка, имеющих в нижней трети крупно-ячеистую морфологию и радиальную – в остальной части. Такие микро-

фибриллы имели довольно большую протяженность – пронизывали всю толщу последнего слоя капсулы. От наружной поверхности второго слоя отходили толстые конусообразные выросты второго слоя – микрофибриллы второго порядка (Рис. 2 а, стрелка), число которых варьировало от 3-х до 7-ми в пересчете на медианный срез дрожжевой клетки. Очевидно, что за зоной локализации микрофибрилл первого и второго порядка завершаются и границы собственно капсул зрелых клеток *S. neoformans*.

6-ой тип строения полисахаридной капсулы был характерен для зрелых клеток 7-ми штаммов *S. neoformans* с разной вирулентностью (РКПГУ- 1106, 1113, 1088, 1089 и 1096 – сильной, РКПГУ-852 и 1176 – средней вирулентности). В строении полисахаридной капсулы зрелых клеток этих штаммов различали два слоя (Рис. 2 в, г). Первый слой – светлый, содержащий умеренно развитую сеть радиально ориентированных микрофибрилл. На примере полисахаридной капсулы клеток культур 3-х штаммов (РКПГУ-1096, 1106, 1176) этой группы (клетки остальных 4-х выявляли только в тканях мозга), очевидно, что толщина 1-го слоя несколько выше в капсулах клеток, инфицирующих ткани легких, нежели мозга. В тканях легких этот слой имел наибольшую толщину (0,25 мкм) в капсулах зрелых клеток гриба штамма РКПГУ-1176, а наименьшую (0,15 мкм) – РКПГУ-1096. В тканях мозга первый слой капсулы имел наибольшую толщину у зрелых дрожжевых клеток штамма РКПГУ-1176, а наименьшую – у РКПГУ-1113. Второй слой в составе капсулы отсутствовал. В светлом матриксе третьего слоя капсулы отмечали хорошо развитую сеть слабоизвилистых коротких микрофибрилл, которые в ее нижней половине были расположены наиболее плотно. Микрофибриллы полисахаридной капсулы формировали мелкаячеистый рисунок. В целом наибольшая плотность расположения микрофибрилл была типична для капсул клеток гриба штаммов РКПГУ-852, 1096 и 1113, тогда как средняя – для штаммов РКПГУ-1088 и 1106, а слабая – для РКПГУ-1089 и 1166. Отметим, что плотность расположения микрофибрилл и формируемый ими рисунок в полисахаридной капсуле клеток гриба одного штамма находился вне зависимости от органа (легкие, мозг), которые они инфицировали.

7-ой тип строения полисахаридной капсулы отмечали для зрелых клеток штаммов различной вирулентности (РКПГУ-881 – слабая, 1067 – средняя, 1090 – сильная). В составе полисахаридной капсулы их клеток первый и второй слои отсутствовали (Рис. 2 д-з). Четвертый слой был составлен из темных, густо расположенных, коротких и сильноизвилистых микрофибрилл первого порядка, непосредственно прикрепленных к клеточной стенке. Плотность расположения таких микрофибрилл снижалась по мере удаления от клеточной стенки. Специфической морфологической особенностью строения полисахаридной капсулы этого типа являлось то, что мелкие микрофибриллы в верхней половине (РКПГУ-881) и трети ее (РКПГУ-1067, 1090) перемежались с более толстыми микрофибриллами 2-го порядка. Последние имели строго радиальную ориентацию в полисахаридных капсулах зрелых клеток криптококка штамма РКПГУ-881 (Рис. 2 д, е) и форму полудуг у аналогичных штаммов РКПГУ-1067 и 1090 (Рис. 2 ж, з). Присутствие

крупных фибрилл в форме полудуг в полисахаридных капсулах клеток двух последних штаммов придавало им своеобразный «фестончатый вид».

8-ой тип строения полисахаридной капсулы был выявлен у зрелых клеток 6-ти штаммов разной вирулентности (РКПГУ-1085,1093,1180 и 1181 – сильная, 1164 – средняя и 853 – слабая вирулентность). Особенностью строения капсулы этого типа было отсутствие первого и второго слоев (Рис. 2 и, к). Третий слой капсулы включал в себя хорошо развитые микрофибриллы, плотность расположения которых уменьшалась по мере удаления от клеточной стенки. Тем не менее, в целом, плотность расположения микрофибрилл этого слоя была наибольшей в капсулах зрелых клеток штаммов РКПГУ-1093, 1180, средней плотности – РКПГУ-853, 1181 и наименьшей – РКПГУ-1085, 1164.

Для понимания того, каким образом изменяется строение полисахаридной капсулы в ходе инфицирования культурами гриба разных штаммов, по сравнению с таковой *in vitro*, мы составили сводную таблицу, из которой очевидно, что 1-ый тип строения капсулы зрелых клеток гриба, характерный для штамма РКПГУ-1067, выращенного в культуре, через семь дней после инфицирования крови мышей в тканях легких и мозга клеток штамма 1067 изменялся на 7-ой, а 1113 – на 6-ой тип.

Таблица

Типы строения полисахаридной капсулы зрелых дрожжевых клеток *C. neoformans in vitro* и в тканях легких и мозга при экспериментальном моделировании криптококкоза через семь суток после начала эксперимента

Номер штамма (РКПГУ)	In vitro	7 суток после инфицирования	
		Мозг	Легкие
1067	1	7	7
1113	1	6	6
719	2		
1063	2		
1091	2		
1095	2	5	5
1180	2	8	8
1093	3	8	8
1088	3	6	6
1176	3	6	6
1085	4	8	8
1178	4	5	5
1166	4		
1175	4		
852		6	6
1089		6	6
1096		6	6
1106		6	6
881		7	7
1090		7	7
853		8	8
1164		8	8
1181		8	8

Характерный для полисахаридной капсулы зрелых клеток культур гриба 3-х штаммов 1095 и 1180 второй тип строения в условиях эксперимента через 7 дней после инфицирования крови мышей в тканях легких и мозга у клеток первого штамма изменялся на 5-ый тип, у второго – на 8-ой тип. Типичный для полисахаридных капсул зрелых клеток *C. neoformans* штаммов

РКПГУ-1093, 1088 и 1176 3-ий тип строения в условиях эксперимента изменялся на 8-ой (РКПГУ-1093) и 6-ой (РКПГУ-1088,1176). Капсулы 4-го типа строения зрелых клеток штаммов РКПГУ-1085 и 1178 через семь дней после инфицирования их культурами крови мышей менялись на 8-ой (РКПГУ-1085) и 5-ый (РКПГУ-1178) типы в тканях легких и мозга. В эти же сроки после начала инфекции клетки *C. neoformans* штаммов РКПГУ-852, 1089, 1096 и 1106 в тканях легких и мозга формировали капсулы 6-го типа, тогда как штаммов РКПГУ-881,1090 и 853, 1164,1181, соответственно, 7-го и 8-го типов.

Способность *C. neoformans* формировать капсулы представляет собой генетически закрепленный признак. Под электронным микроскопом просвечивающего типа капсулу легко идентифицировать ввиду ее значительной толщины, низкой электронной плотности и часто наличия хорошо развитой системы микрофибрилл. При изучении препаратов для целей электронной микроскопии показано, что сохранность капсулы лучше у клеток, локализующихся в легких, чем в суспензии, взятой из культур, выращенных *in vitro* [6]. Структура полисахаридной капсулы дрожжевых клеток криптококка намного лучше сохраняется при использовании обычных методов химической фиксации [7], а не замещения-замораживания, дающего лучшие результаты при изучении их содержимого [8].

Капсулы зрелых клеток изученных штаммов *C. neoformans*, выращенных *in vitro*, можно разделить по строению на 4 типа, различающихся по количеству слоев, их толщине и особенностям морфологии. Тем не менее, и эти 4 формы не были неизменными – возможны отклонения в ультраструктуре капсулы и даже уменьшение числа слоев в них, о чем свидетельствуют проведенные нами исследования их архитектоники *in vivo* в тканях мозга и легких мышей. В последнем случае нам удалось также выявить 4 типа строения полисахаридной капсулы, однако совершенно другой ультраструктуры. Показано, что *in vivo* в полисахаридных капсулах зрелых клеток гриба может формироваться более или менее густая сеть их макро- и микрофибрилл, возрастать или уменьшаться их электронная плотность, изменяться число слоев и их толщина. Обращает на себя внимание полиморфизм и подвижность слоев в капсульном полисахариде у криптококка при отсутствии какой-либо строгой зависимости от вирулентности штаммов. Тип строения полисахаридной капсулы зрелых клеток гриба был идентичен для особой одного штамма вне зависимости от типа поражаемого органа (легкие или мозг мышей). Главное, обнаруженное нами при изучении ультраструктуры полисахаридной капсулы *C. neoformans*, то, что инвазия ткани легких и мозга мышей криптококками сопровождалась изменением в структуре их полисахаридной капсулы, в сравнении с клетками, полученными *in vitro*. Эти изменения вариабельности толщины и строения уже имеющихся слоев в капсуле, появление новых или исчезновение некоторых из ранее присутствовавших в условиях культуры служат подтверждением своеобразия тканевых форм, пластичности их ультраструктурной организации и, наконец, принципиальных отличий капсул тканевых клеток *C. neoformans* от аналогичных в культуре *in vitro*. В литературе имеются данные, что увеличение толщины капсулы тканевых

форм связано с усилением митохондриальной активности [9], которая характерна для дрожжевых клеток сильновирulentных штаммов [2]. По нашим данным, клетки гриба в условиях *in vitro* имели однообразное строение стенок вне зависимости от штаммовой принадлежности, по сравнению с аналогичными в условиях *in vivo*. О прогрессивном возрастании толщины клеточной стенки с течением легочной инфекции во времени (от 2 часов до 28 дней) сообщали и другие исследователи [10].

Изменения в толщине клеточной стенки, обнаруженные в ходе экспериментальной инфекции, мы связываем с увеличением размеров дрожжевой клетки. На основании вышесказанного можно заключить, что строение полисахаридной капсулы тканевых форм криптококка *in vivo* принципиально отличалось от таковой *in vitro*. Очевидно, что возникновение фенотипических вариантов криптококков в макроорганизме

непосредственно связано с патогенезом криптококкоза, и, следовательно, необходимо изучать не только ответные защитные реакции макроорганизма, но и обязательно учитывать морфофункциональные характеристики тканевых форм гриба.

ВЫВОДЫ

1. Зрелые дрожжевые клетки исследованных штаммов *C. neoformans in vitro* и *in vivo* различаются по толщине и строению клеточной стенки и полисахаридной капсулы и не связаны со степенью их вирулентности.

2. Ультраструктура полисахаридной капсулы зрелых клеток *C. neoformans* подвергается динамическим изменениям при смене условий *in vitro*→*in vivo*.

ПРИМЕЧАНИЕ

Памяти нашего учителя профессора Николая Петровича Елинова посвящается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bose I., Reese A. J., Ory J. J., Janbon G. A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*. Eukaryotic Cell. 2003; 2 (4): 655-663.
2. Васильева Н.В., Степанова А.А., Синицкая И.А. Особенности морфогенеза клеток *Cryptococcus neoformans* в зависимости от вирулентности штаммов. Проблемы медицинской микологии. 2007; 9 (4): 23-30. [Vasileva N.V., Stepanova A.A., Sinitzkaya I.A. Osobennosti morfogeneza kletok *Cryptococcus neoformans* v zavisimosti ot virulentnosti shtammov. Problemyi meditsinskoj mikologii. 2007; 9 (4): 23-30 (In Russ)].
3. Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., et al. Electron microscopy of autopsy material from the human brain cryptococcosis and AIDS. Problems in medical mycology. 2015; 17 (1): 35-40.
4. Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., et al. Ultrastructural investigations of the yeast→hyphal cell switching of the *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* in murine brain. Problems in medical mycology. 2017; 19 (2): 19-24.
5. Stepanova A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M. Cellular pattern of morphogenesis, ultrastructure of senescent and desiccated *in vitro* growing yeast cells of *Cryptococcus neoformans*. Problems in medical mycology. 2016; 18 (4): 47-51.
6. Feldmesser M., Kress Y., Novikoff P., Casadevall A. *Cryptococcus neoformans*: is a facultative intracellular pathogen in murine pulmonary infection. Infect. Immun. 2000; 68 (7): 4225-4237.
7. Kopecká M., Yamaguchi M., Gabriel M., et al. Morphological transitions during the cell division cycle of *Cryptococcus neoformans* as revealed by transmission electron microscopy of ultrathin sections and freeze-substitution. Scripta medica (Brno). 2000; 73 (6): 369-380.
8. Yamaguchi M., Ohkusu M., Sameshima M., Kawamoto S. Safe specimen preparation for electron microscopy of pathogenic fungi by freeze-substitution after glutaraldehyde fixation. Jpn. J. Med. Mycol. 2005; 46: 187-192.
9. Trevigano-Contador N.T., Rossi S.A., Alves E., et al. Capsule enlargement in *Cryptococcus neoformans* is dependent on mitochondrial activity. Frontiers in Microbiology. 2017; 8: 1423. Feldmesser A. M., Kress Y.,
10. Casadevall A. Dynamic changes in the morphology of *Cryptococcus neoformans* during murine pulmonary infection. Microbiology. 2001; 147 (8): 2355-2365.

Поступила в редакцию журнала: 09.01.2018

Рецензент: Т.С. Богомолова



ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ КОЛОНИЙ *ASPERGILLUS* SPP. ПРИ РОСТЕ В ПРИСУТСТВИИ ПОЛИВИНИЛХЛОРИДА

¹Носенко Т.Н. (тьютор), ²Рябинин И.А. (м.н.с., ассистент кафедры)*, ¹Фокина М.И. (доцент), ²Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), ¹Денисюк И.Ю. (профессор)

¹Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики (кафедра информационных технологий топливно-энергетического комплекса); ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, кафедра медицинской микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2018

Описан эксперимент долгосрочного (50 суток) культивирования *Aspergillus* spp. на модифицированной жидкой среде Чапека в вариантах с сахарозой и без углеводов с погружением в посевах пластинок поливинилхлорида (ПВХ). Для исследования культуральных особенностей в присутствии ПВХ использовали 20 штаммов аспергиллов из секций *Fumigati*, *Nigri*, *Flavi*, *Clavati*, *Candidi*, *Terrei*, *Versicolores*, *Flavipedes*, *Usti*, *Nidulantes* и *Cremeri*. Установили, что ПВХ не искажает макроморфологические особенности колоний.

По строению в исследуемых культурах на среде с сахарозой условно можно выделить 6 элементов, относительно однородных по макро- и микроморфологическим признакам: (1) пленчатая или обратно-вогнутая колония на границе питательной среды и воздушной фазы; (2) элементы обрастания в погруженной части стенок пробирки; (3) элементы обрастания на погруженной части пластины ПВХ; (4) краевая сеть гиф в воздушной части посева, исходящая из основной колонии; (5) полоска воздушного мицелия, фиксирующая край ПВХ к стеклу; (6) изолированные отдаленные микроколонии на стекле в воздушной части посева. Указанные элементы строения в статье снабжены снимками общего вида и микроскопического строения. У изолятов наблюдали адаптивные реакции к уменьшению уровня среды в виде образования «двухуровневых» колоний и донных отростков. На среде без сахарозы рост грибов, в целом, прослеживался слабо.

Поверхность стекла оказалась более благоприятной для роста *Aspergillus* spp., чем поверхность ПВХ. Рост на погруженной части образцов пластика был наиболее интенсивным у штаммов *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. tamarisii*, *A. oryzae*, *A. niger*, *A. terreus*, *Aspergillus* sp. (*Terrei*), *A. candidus*, *A. sydowii*, *A. nidulans* и *A. janus*. Изолят *A. tamarisii* в связи с интенсивным формированием у него в опытных посевах субстратного (погруженного) и воздушного мицелия избрали для дальнейшего исследования биодegradации ПВХ.

Ключевые слова: *Aspergillus*, биодegradация, обрастание, поливинилхлорид

FEATURES OF THE ORGANIZATION OF *ASPERGILLUS* SPP. COLONIES AT GROWTH IN THE PRESENCE OF POLYVINYL CHLORIDE

¹Nosenko T.N. (tutor), ²Ryabinin I.A. (junior scientific collaborator, assistant of the department), ¹Fokina M.I. (associated professor), ²Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department), ¹Denisjuk I.Y. (professor)

¹St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics (department of IT in the fuel and energy industry); ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Department of Medical Microbiology, St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2018

The experiment of long-term (for 50 days) cultivation of *Aspergillus* spp. on the modified Czapek liquid medium in variants with sucrose and without carbohydrates with plating of polyvinyl chloride (PVC) plates was described. 20 strains of aspergilli from the sections *Fumigati*, *Nigri*, *Flavi*, *Clavati*, *Candidi*, *Terrei*, *Versicolores*, *Flavipedes*, *Usti*, *Nidulantes* and *Cremeri* were used to study the cultural characteristics in the presence of PVC. It was established that PVC does not distort the macromorphological features of the colonies.

In the studying cultures on sucrose-containing medium it is possible to conditionally distinguish the six structural elements relatively homogeneous in terms of macro- and micromorphological features: (1) a filmy or back-concave colony on the boundary of the nutrient medium and the air phase; (2) fouling elements in the submerged portion of the test tube walls; (3) fouling elements on the submerged part of the PVC plate; (4) marginal hyphae network in the air part of the inoculation originating from the main colony; (5) a strip of aerial mycelium fixing the edge of PVC to the glass; (6) isolated distant microcolonies on the glass in the air of the inoculation. Described elements were provided with pictures of a general view and microscopic structure in the article. Adaptive reactions to decreasing of medium level in the forms of «two-level» colonies formation and benthic appendages were observed. In the medium without sucrose the growth of fungi, in general, was poorly traced.

The surface of the glass proved to be more favorable for *Aspergillus* spp. fouling than the surface of PVC. The growth on the submerged portion of the plastic samples was most intense in the strains of *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. tamarisii*, *A. oryzae*, *A. niger*, *A. terreus*, *Aspergillus* sp. (*Terrei*), *A. candidus*, *A. sydowii*, *A. nidulans* and *A. janus*. The *A. tamarisii* isolate in connection with the intensive formation of substrate (submerged) and aerial mycelium in experimental inoculations was selected for further investigation of PVC biodegradation.

Key words: *Aspergillus*, biodegradation, biofouling, polyvinyl chloride

ВВЕДЕНИЕ

Биологическая утилизация поливинилхлорида (ПВХ) является актуальной проблемой медицинской экологии. Сложность ее решения связана с низкой биодоступностью ПВХ, а также большим объемом образующихся отходов из изделий и материалов на основе ПВХ бытового, промышленного и медицинского назначения. Сжигание ПВХ (вне зависимости от режима) приводит к образованию различных оксидов хлора, а также продуктов неполного окисления – хлорорганических соединений, включая хлорированные бифенилы, диоксины и других токсиканты [1].

Известны некоторые виды микроорганизмов, способные к утилизации ПВХ [2], включая некоторые микроскопические грибы [3, 4]. Тем не менее, метаболический путь, реализующий этот процесс, остаётся

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

не выясненным. Теоретически, как и другие сходные полимеры на основе замещенных алканов преимущественно линейного строения, конечный этап утилизации должен осуществляться по пути β -окисления [5, 6]. Наиболее сложным для расщифровки и осуществления является инициальный этап. Для вступления в метаболизм молекула ПВХ должна (1) быть фрагментирована с образованием веществ, способных проникнуть через билипидную мембрану (типа длинноцепочных алифатических спиртов, альдегидов или карбоновых кислот), а также (2) подвергнуться дегалогенированию. Оба процесса не могут происходить без участия ферментов семейства цитохрома р450, при этом нужно учитывать, что начальный этап деградации должен происходить внеклеточно, а белки типа р450 не являются типичными экскретуемыми веществами. Таким образом, согласно выдвинутой гипотезе, необходимо наличие у кандидатных штаммов-биодеструкторов ПВХ высокоинтенсивного процесса биосинтеза белка, который, в свою очередь, сопряжен с необходимостью использовать в условиях окружающей среды минеральный азот (возможно, даже фиксировать газообразный), а также хорошо развитой антиоксидантной системы для нейтрализации продуктов свободно-радикального процесса, возникающего при работе ферментов типа р450, и гипохлорит-иона (как продукта дегалогенирования).

В определенной степени этим критериям соответствуют представители рода *Aspergillus*. Для некоторых из них способность утилизировать ПВХ доказали ранее в эксперименте [7, 8]. Не менее важным явлением при утилизации какого-либо твердого субстрата является способность микроорганизмов к его обрастанию.

Цель работы – изучить способность избранных представителей рода *Aspergillus* к обрастанию модельных образцов ПВХ в условиях минеральной питательной среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы *Aspergillus* spp. предоставлены Российской коллекцией патогенных грибов: *A. niger* РКПГ F-1448; *A. awamori* РКПГ F-1444; *A. flavus* РКПГ F-1375; *A. oryzae* РКПГ F-1382; *A. clavatus* РКПГ F-12/275; *A. candidus* РКПГ F-123; *A. terreus* РКПГ F-1123; *A. versicolor* РКПГ F-1287; *A. sydowii* РКПГ F-1115; *A. wentii* РКПГ F-6; *A. parasiticus* РКПГ F-68. Также использовали оригинальные штаммы *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *Aspergillus* sp. (секции Terrei), *A. janus*, *A. ustus*, *A. calidoustus*, *A. tamarii*, *A. nidulans* и *Neosartorya hiratsukae*, предоставленные НИЛ микологического мониторинга и биологии грибов, а также микробиологической лабораторией отделения лабораторной диагностики микологической клиники СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Культуры для посева получали на модифицированном овощном агаре (на основе отвара моркови, свеклы и яблока) с дрожжевым экстрактом (5 г/л). Инкубировали при 20 °С 2 суток, затем при 32 °С 2 суток.

Образцы ПВХ. Образцы из пластинчатого ПВХ (с добавлением полиэтилена) размерами 90x10x0,4 мм стерилизовали путем погружения в раствор 3% перекиси водорода с последующей сушкой в камере ламинарного бокса при УФ-облучении непосредственно перед постановкой опыта.

Питательная среда. Опытную инкубацию про-

водили в модифицированной жидкой среде Чапека с двойной концентрацией KNO_3 (вместо $NaNO_3$). Среду использовали в 2-х вариантах: с добавлением 3% сахарозы (1) и без углеводов (2).

Постановка опыта. В биологические пробирки стерильно вносили по 8 мл среды для инкубации из расчета по 1 пробирке с одним вариантом среды на штамм (всего на 40 посевов). После розлива посев проводили путем внесения споровой массы гриба, суспендируя в пробирке материал культуры, представляющий собой вырезанный фрагмент агаровой пластины с колонией размером около 5x5 мм с последующим извлечением. Исключение составили слабоспороносящие штаммы *A. clavatus* и *A. wentii*, при инокуляции которыми фрагмент колонии оставляли на поверхности питательной среды. После инокуляции в пробирки вносили подготовленные образцы ПВХ (40 экземпляров). 2 контрольных экземпляра ПВХ в средах с сахарозой и без сахарозы использовали незасеянными в качестве контрольных. Инкубацию осуществляли при 21 \pm 2 °С 50 суток.

Учет результатов. По окончании инкубации выполнили визуальный учет роста *Aspergillus* spp. в сравнении на средах с сахарозой и без сахарозы, осуществляли фотосъемку (камера Presto T55, Rekam, Италия) и составляли морфологические описания. Интактные посевы микроскопировали в проходящем свете при малом увеличении (x80), микрофотосъемку проводили той же камерой, смонтированной на штативе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты представлены в форме морфологических описаний (макроскопических характеристик) роста тест-штаммов, снимки полученных колоний представлены на рисунке 1.

***A. janus*.** На среде с сахарозой штамм образовал колонию в форме перевернутого купола. Складки не определяются, на оборотной стороне, погруженной в среду, виден неправильный сетчатый рисунок из трещин. Погруженная поверхность колонии темно-вато-кремовая, воздушная поверхность имеет свойственный виду изумрудно-зеленоватый оттенок. Преимущественно на дне колонии образовались капли коричневатого экссудата. Культура частично обрастает образец ПВХ выше уровня расположения основной колонии, наиболее дистально субстратный мицелий становится более разреженным, в воздушном мицелии определяются рыхло расположенные гранулы кремового цвета (конидиальные головки?). Микроколонии гриба также образовались на стенках пробирки, не погруженных в среду. Хлопьевидные микроколонии диффузно покрывают образец ПВХ, погруженный в среду, вплоть до дна пробирки. Среда приобрела легкую кремово-розоватую окраску. На среде без сахарозы поверхность пленчатая колония не сформирована, на части образца ПВХ, погруженного в питательную среду, видны нерегулярно расположенные хлопьевидные структуры различного размера.

***A. terreus* РКПГ F-1123.** На среде с сахарозой колония имеет двухуровневую структуру в форме обратного купола, возникшую, по-видимому, вследствие частичного понижения уровня среды до инкубации. Погруженная поверхность колонии относительно ровная, нижний ярус не окрашен, верхний ярус имеет

коричневатую пигментацию в основании. Внутренняя поверхность колонии лимонно-желтая, на дне покрыта большой каплей прозрачного желтоватого экссудата. Гриб слегка обрастает воздушную часть образца ПВХ с одного из краев. На стенках в воздушной части пробирки виден неравномерно расположенный тонкий налет, напоминающий рост гриба. Наблюдали диффузное обрастание стенок пробирки и образца ПВХ, погруженных в толщу питательной среды. Среда приобрела яркий лимонно-желтый оттенок. На среде без сахарозы отмечали кольцевидно расположенные хлопьевидные образования примерно в высоте 0,5 см над уровнем среды (первичный рост?). На погруженной части ПВХ имеются разрозненные хлопьевидные колонии гриба.

A. sydowii РКПГ F-1115. На среде с сахарозой колония имеет вид перевернутого купола, погруженная поверхность гладкая, сферическая, красно-бурая, воздушная поверхность хлопьевидная, беловатая. Края колонии поднимаются на стекло и образец ПВХ примерно на 1 см, один край образца ПВХ подвергся обрастанию на несколько большем протяжении. Видны также удаленные колонии гриба на стенках пробирки высоко в воздушной части. Погруженные в среду стенки пробирки и образец ПВХ обросли мицелием гриба в форме крупнопетливой сети. Среда приобрела легкий буровато-коричневатый оттенок. На среде без сахарозы рост гриба заметен высоко на стенках пробирки в воздушной части, в форме кольца на 0,5 см над поверхностью среды, а также в виде разрозненных хлопьевидных колоний на стенках пробирки и полоске ПВХ, погруженных в среду.

A. calidoustus. Колония гриба на среде с сахарозой неправильной формы: основная часть колонии пленчатая, в погруженной части серо-буро-зеленоватая, в толщу среды вдаётся неокрашенный вырост. Воздушная поверхность колонии буро-сероватая, имеет место плотное обрастание стенок пробирки и образца ПВХ на 1 см вверх от воздушной поверхности колонии. Отдельные хлопьевидные, петлистые и сетчатые элементы роста гриба видны и в более удаленной воздушной части посева. Рост гриба на погруженной части ПВХ прослеживается слабо. Среда окрашена в светло-желтый цвет. На среде без сахарозы неотчетливые элементы роста гриба видны преимущественно в воздушной части посева.

A. candidus РКПГ F-123. На среде с сахарозой колония неправильной формы с вогнутой поверхностью и погруженным в питательную среду отростком. Колония белая. Края колонии, покрывающей питательную среду, почти на 1,5 см обрастают прилежащие стенки пробирки в воздушной части, выше картина обрастания значительно более разреженная. В погруженной части посева отчетливо заметно формирование относительно крупных хлопьевидных колоний гриба преимущественно на поверхности ПВХ, а не на стекле. Окрашивание среды не определяется. На среде без сахарозы видна разреженная сетчатая колония гриба на ПВХ над уровнем питательной среды, а также обрастание погруженной части ПВХ в виде мелких хлопьев. Хлопьевидный осадок заметен на дне пробирки.

A. versicolor РКПГ F-1287. На среде с сахарозой колония обратно-куполообразная, расположена косо. Погруженная в среду поверхность колонии буро-крас-

новатая, гладкая, а воздушная поверхность – беловато-серо-зеленая. На дне колонии покоится крупная капля коричневатого экссудата. Над поверхностью колонии наблюдали обрастание стенок пробирки и образца ПВХ на протяжении 1,5-2 см, постепенно разрежающееся в дистальном направлении. В погруженной части среды рост гриба виден в форме очень мелких хлопьев, равномерно покрывающих поверхность стекла и ПВХ. Среда окрашена в желтовато-красно-коричневатый цвет. На среде без сахарозы видно слабое обрастание стенок пробирки в надводной части, погруженный рост гриба отчетливо не прослеживается.

A. ustus. На среде с сахарозой колония пленкообразная, вогнутая в центре в сторону жидкости. Край колонии буровато-коричневый, имеет слоистую структуру. С нижнего края под колонию ассиметрично прорастает белый пушистый мицелий. Воздушная поверхность колонии грязно-буро-коричневая. В воздушной части мицелий гриба покрывает стенки пробирки и образец ПВХ на 1,2-2 см, постепенно становясь разреженным. Питательная среда окрашена в светло-желтый цвет. На среде без сахарозы заметно образование мицелия в воздушной части посева на стенках пробирки и частично на образце ПВХ в виде разреженной сети, а также с образованием фигуры кольца на уровне исходного объема питательной среды. В погруженной части обрастание ПВХ заметно неотчетливо, на дне – небольшой хлопьевидный осадок.

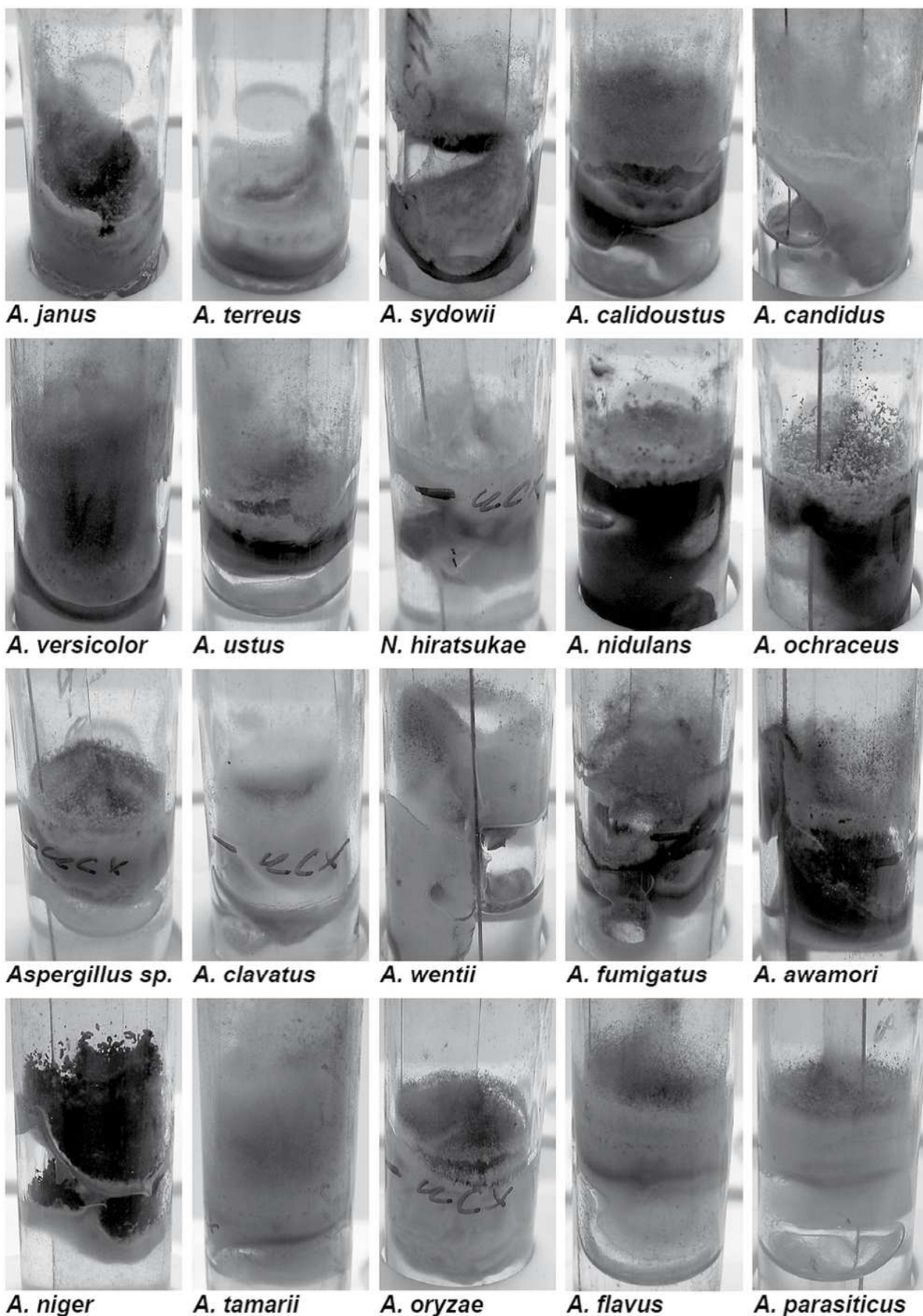


Рис. 1. Колонии *Aspergillus* spp. на среде Чапека с сахарозой и погруженными образцами ПВХ.

N. hiratsukae. На среде с сахарозой колония сильно складчатая, неправильной формы. Окрас колонии белый с буроватыми и зеленоватыми оттенками по краям и в складках (в последнем случае, вероятно, за счёт образования конидиеносцев). Вглубь среды ассиметрично прорастает мицелий вначале плотной, затем по мере удаления – рыхлой, почти хлопьевидной консистенции. В воздушной части посева заметен слабо развитый мицелий, покрывающий примерно 1 см в высоту от основной колонии края пробирки и ПВХ, видны удаленные звездчатые микроколонию на стенках. В погруженной части посева элементы гриба видны неясно, цвет питательной среды не изменен. На среде без сахарозы видна кольцевидно расположенная сеть мицелия, покрывающая стенки пробирки на протяжении около 0,5 см на уровне исходного объема питательной среды. На дне пробирки виден хлопьевидный осадок, в остальном объеме посева видимых признаков роста гриба не обнаружили.

A. nidulans. На среде с сахарозой колония пленкообразная, края и погруженная сторона темно-бурокрасные, а воздушная поверхность бархатистая, беловато-розовая с разновеликими каплями светло-коричневатого экссудата. Над основной колонией вверх распространены нерегулярно распределенные звездчатые красноватые микроколонию, порывающие стенки пробирки, но не образец ПВХ. В погруженной части посева колония образует глубокий (около 1,5 см) сильно складчатый буровато-красный вырост с гладкой поверхностью. В погруженной части колонию и образец ПВХ покрыт рисунком из мелких хлопьев, редующим в направлении от уровня колонии к дну. Цвет питательной среды темно-желтоватый. На среде без сахарозы видно очень узкое кольцо (на стенках пробирки, переходящее также и на ПВХ) из элементов гриба округлой формы (визуально) на уровне исходного объема среды. На дне пробирки – хлопьевидный осадок. Обрастания ПВХ в погруженной части не заметили.

A. ochraceus. На среде с сахарозой колония почти плоская с двумя углублениями по сторонам от образца ПВХ. Воздушная поверхность колонии светло-охристо-желтая, зернистая из-за обильного образования конидиеносцев. Край колонии коричневатый. В воздушной части посева заметны удаленные колонию, несущие крупные конидиеносцы, такие колонию фиксируют образец ПВХ к краю пробирки, но не обрастают его. Вглубь питательной среды вдаётся вырост протяжённостью около 2,5 см буроватой окраски с нечеткими краями из-за разрастания мицелия. В погруженной части посева видны хлопьевидные обрастания на ПВХ, расположенные преимущественно в приближении к основной колонии. Среда приобрела легкий желтоватый оттенок. На среде без сахарозы на уровне исходного объема жидкости видны разрозненные элементы роста гриба. Различными по форме небольшими хлопьевидными образованиями покрыты стенки пробирки и образец ПВХ в погруженной части.

Aspergillus sp. (Terrei). На среде с сахарозой колония имеет сильновогнутую форму. Воздушная поверхность колонии терракотовая, видны единичные капли желтого экссудата. Край колонии и обратная сторона несколько неровные, насыщенно-желтые. В образовавшейся под колонией воздушной полости видны хлопьевидные вторичные микроколонию гриба на

стенках пробирки. В погруженной части посева заметно почти равномерное обрастание образца ПВХ в виде разновеликих неправильной формы непрозрачных пятен. Среда окрашена в желтоватый цвет. На среде без сахарозы сеть мицелия расположена в воздушной части посева от уровня начального объема среды и распространена вверх на неопределенном протяжении. Элементы гриба фиксируют образец ПВХ к краю пробирки. В погруженной части с образцом ПВХ связаны немногочисленные, очень рыхлые на вид хлопьевидные микроколонию, на дне пробирки – белый хлопьевидный осадок.

A. clavatus РКПГ F-9/275. Колония на среде Чапека с сахарозой плоская, косо расположенная по отношению к горизонтальному уровню. Воздушная часть колонии пушистая, беловатая. Погруженная сторона и края колонии кремовые. На реверзуме видны отдельные трещины, а также пушистые выросты мицелия. В воздушной части посева также заметны элементы мицелия на уровне исходного объема питательной среды. Напротив, погруженная часть посева, кроме небольшой рыхлой колонии на дне, элементов гриба не содержит. Среда приобрела желтоватый оттенок. На среде без сахарозы распространение роста из агарового блока с культурой не видно. От исходного уровня жидкости вверх на стенки пробирки и образец ПВХ на протяжении 1,5 см распространилась широкопетлистая сеть мицелия, единичные хлопьевидные колонию на ПВХ и белый осадок – в погруженной части посева.

A. wentii РКПГ F-6. На среде с сахарозой колония гриба имеет вид пробки (короткого цилиндра). Колония преимущественно белая, с краев кремовая. Воздушная поверхность высокопушистая с образованием буро-коричневых конидиальных головок вблизи стенок пробирки и образца ПВХ. Под колонией, в силу испарения, образовалась воздушная полость, на оборотной стороне под колонию в питательную среду вдаётся длинный с относительно гладким контуром вырост. Погруженная часть посева не изменена элементами гриба, среда окрашена в желтоватый цвет. На среде без сахарозы роста из агарового блока визуально не наблюдали, рыхло расположенные элементы мицелия видны в воздушной части на образце ПВХ, а в погруженной части на нем, а также на стенках пробирки, заметны единичные хлопьевидные микроколонию.

A. fumigatus. На среде с сахарозой колония неправильной формы, двухъярусная (второй ярус образовался под первым по причине адаптации гриба к понижению уровня жидкости). Воздушная поверхность и края колонии буро-зеленоватые, на верхнем ярусе темнее. Обратная сторона колонии белесая, измененная в форме глубоким отростком округлых очертаний. Над колонией на протяжении до 1 см видно обрастание ПВХ и стенок пробирки, а в погруженной части ПВХ обрастает грибом в форме мелкохлопьевидного рисунка на всем протяжении. Среда приобрела несколько желтоватый оттенок. На среде без сахарозы элементы гриба видны в виде ограниченного скопления на уровне исходного объема жидкости. Картина роста гриба на погруженной части ПВХ неотчётливая, на дне пробирки – беловатый хлопьевидный осадок.

A. awamori РКПГ F-1444. На среде с сахарозой колония обратно-кулообразной формы. Воздушная поверхность колонии бархатистая, темно-коричневая,

оборотная сторона также имеет темновато-коричневый шоколадный оттенок. Мицелий гриба распространяется над колонией по ПВХ и стеклу на высоту 0,5-1 см. На погруженной поверхности ПВХ наблюдали равномерно расположенные мелкие, почти точечные коричневатые хлопьевидные элементы. Питательная среда приобрела желтоватый оттенок. На среде без сахарозы заметен очень слабый рост гриба на уровне исходного объема жидкости, на погруженном образце ПВХ виден неправильный рисунок из темноокрашенных элементов гриба, на дне пробирки – коричневатый осадок.

A. niger РКПГ F-1448. На среде с сахарозой колония имеет четкую двухуровневую структуру аналогично со штаммом *A. fumigatus* Л/БАЛ. Воздушная поверхность колонии на обоих ярусах черная, зернистая от крупных конидиальных головок, обратная сторона куполообразно выгнутая, несколько складчатая, белая. В воздушной части посева на стекле также видны единичные микроколонии, несущие крупные конидиоспоры. В погруженной части колонии на образце ПВХ наблюдали темноватый тонкий сетчатый рисунок из мицелия гриба. На среде без сахарозы рост гриба над уровнем жидкости прослеживается неясно, вероятно, видимая картина образована массами спор от первичного инокуляма. В погруженной части посева ПВХ равномерно оброс сетчато-хлопьевидными элементами мицелия, расположенными более рыхло, чем на среде с сахарозой. На дне виден бурый осадок.

A. tamaritii. На среде с сахарозой колония пробковидной формы с необычно высоким ватообразным воздушным мицелием. Колония в вертикальном измерении до 3 см. Воздушная часть колонии неоднородной окраски, с белыми, кремовыми, желтоватыми и светло-коричневыми оттенками. Обратная сторона колонии бело-кремовая, относительно ровной формы. В погруженной части посева видны тонкие хлопья мицелия, почти равномерно покрывающие ПВХ. Среда приобрела едва заметный желтоватый оттенок. На среде без сахарозы элементы гриба кольцевидно распространяются на уровне начального объема жидкости, а также фиксируют края образца ПВХ к стеклу, а на погруженной части образца также заметны равномерно расположенные мелкие хлопьевидные элементы, на дне пробирки – беловатый осадок.

A. oryzae РКПГ F-1382. На среде с сахарозой колония имеет форму очень глубокого перевернутого купола (кратериформная). Воздушная поверхность колонии темно-травянисто-зеленая, от крупных конидиальных головок слегка зернистая. В глубине колонии отмечали складчатый рисунок. Обратная сторона белая, с крупными складками на боковых сторонах и мелкобугристая снизу. Погруженный образец ПВХ покрыт мицелием равномерно в виде тонкого сетчато-хлопьевидного рисунка. В воздушной части посева также видны единичные микроколонии гриба. Питательная среда приобрела легкий хлопьевидный оттенок. На среде без сахарозы рост гриба в воздушной части посева прослеживается слабо, погруженный фрагмент ПВХ и стенки пробирки несут неясно видимые хлопьевидные микроколонии, на дне – беловатый осадок.

A. flavus РКПГ F-1375. На среде с сахарозой колония пробковидной формы, воздушный мицелий

хорошо развит, но несколько ниже, чем у *A. tamaritii*. Воздушная поверхность колонии тускло-рыжевато-оранжевая, зернистая от конидиальных головок, несколько вогнутая. Края и обратная сторона колонии бело-кремовые. В образовавшейся под колонией воздушной полости видно распространение роста мицелия в сторону жидкости. Образец ПВХ над колонией фиксирован элементами гриба к краям пробирки, в погруженной части на образце ПВХ наблюдали мелкие хлопья. Питательная среда приобрела несколько более темный оттенок в сравнении с незасеянной. На среде без сахарозы в воздушной части посева рост гриба неотчетливый. На погруженном образце ПВХ видны равномерно расположенные хлопьевидные элементы. На дне пробирки образовался беловатый осадок.

A. parasiticus РКПГ F-68. На среде с сахарозой рост напоминает *A. flavus* РКПГ F-1375. Воздушная поверхность колонии зернистая, тускло-темно-зеленая. Края колонии и погруженная часть беловатые, гладкие, в воздушную полость под основной колонией вдается мешкообразный вырост. На образце ПВХ в питательной среде видны неравномерно расположенные хлопьевидные элементы. Отдельные микроколонии гриба отмечали в воздушной части посева на стенках пробирки. Питательная среда приобрела едва заметный желтоватый оттенок. На среде без сахарозы признаки роста микромицета сомнительные – хлопьевидные структуры видны в погруженной части среды, на дне также образовался мелкодисперсный осадок.

Особенности микроскопической организации *Aspergillus spp.* при росте в опытных посевах. Приведенное ниже описание составлено при наблюдении над посевами на среде с сахарозой. Край колонии, находящейся на границе питательной среды и воздуха, представлен сетью гиф, образующих «петли» разной величины. У большинства изученных штаммов (кроме плеоморфного *A. clavatus*) в этой локализации видны признаки спороношения – отчетливо формирующиеся конидиальные головки на более или менее выраженных конидиеносцах (Рис. 2: А). Кроме того, наблюдали также изолированные микроколонии на стекле в удалении от образца ПВХ; в этих колониях у части изолятов заметны конидиеносцы, также формируются и микроколонии, состоящие только из вегетативного мицелия (Рис. 2: Б). В воздушной части посева тонкие полоски мицелия, часто с конидиеносцами, фиксируют край образца ПВХ к стеклянной стенке (Рис. 2: В). Обращение воздушной части образца ПВХ вне контакта со стеклом не выявили. В погруженной части посева в культурах, формирующих глубокие выросты и «карманы», иногда отмечали локальные разрастания пушистого мицелия. На пластине ПВХ в погруженной части посева (если у штамма регистрировали рост в этом локусе) образуются микроколонии неправильно-звездчатой формы, нерегулярно расположенные, состоящие из вегетативных гиф (Рис. 2: Г). Обращение стекла в погруженной части происходит более равномерно, микроколонии здесь обычно меньше в диаметре, чем на ПВХ, имеют похожее строение (Рис. 2: Д).

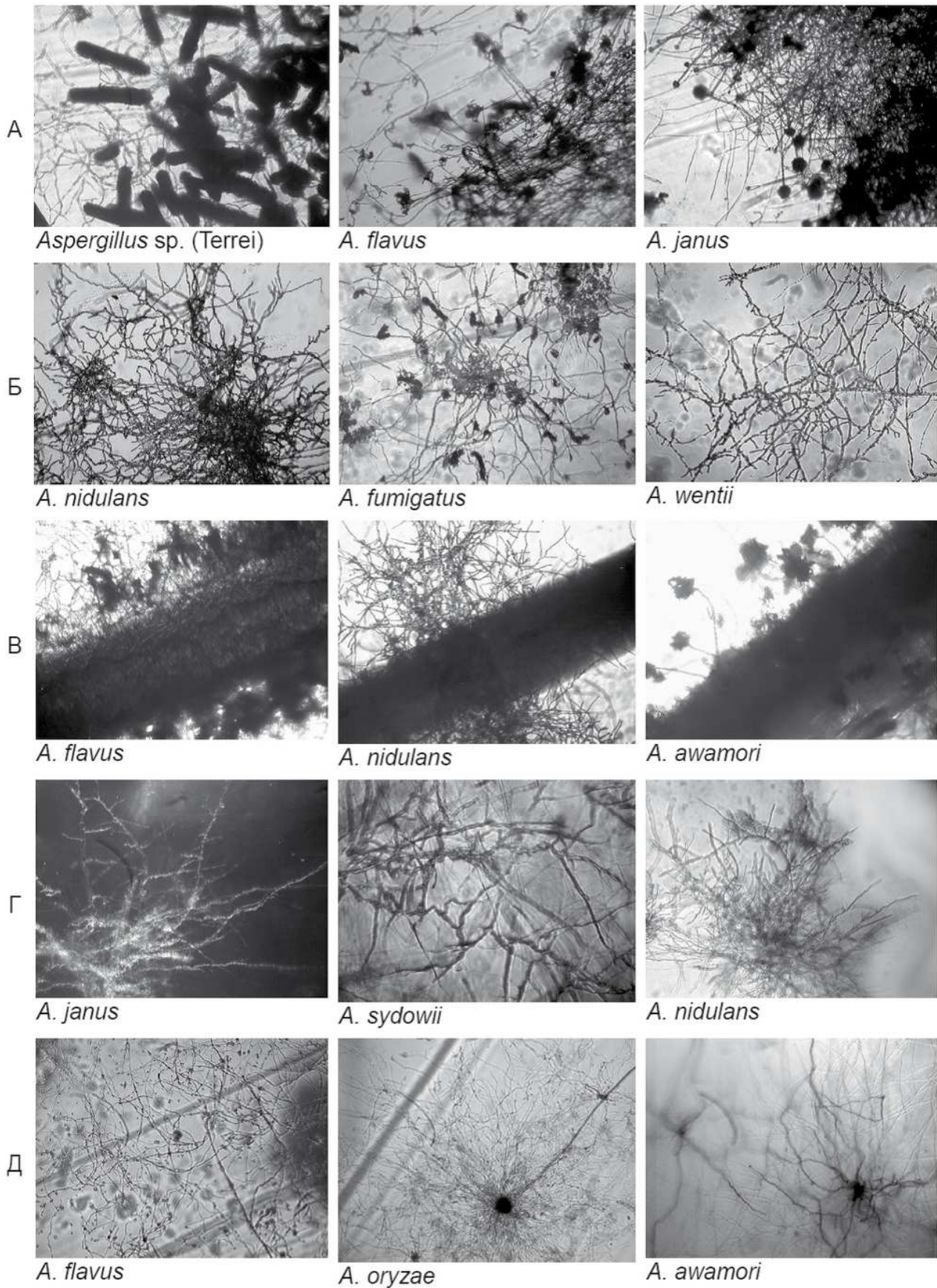


Рис 2. Детали микроскопического строения опытных культур *Aspergillus* spp. (примеры). Обозначения: ряд А – край основной колонии вблизи прикрепления к стенкам пробирки; ряд Б – микроколонии на стекле в воздушной части посева; ряд В – обрастание в месте прилегания полоски ПВХ к стенке пробирки; ряд Г – рост аспергиллов на погруженной части образца ПВХ; ряд Д – обрастание поверхности стекла в погруженной части посева.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного наблюдения установлено, что внесение ПВХ в питательную среду не искажает макро- и микроморфологические особенности роста *Aspergillus* spp. В пользу этого утверждения свидетельствует хорошо выраженная близкая к типовой пигментация колоний, продукция экссудата и диффундирующего пигмента у видов, склонных к этим феноменам. ПВХ, по-видимому, слабо подходит для аспергиллов в качестве самостоятельного источника углерода, что подтверждено исключительно слабым ростом тест-культур на среде без сахарозы. Для видимых здесь рудиментарных структур грибов пластическим материалом, очевидно, служат вещества, запасенные в конидиях. В дальнейшем с целью разработки экономичной питательной среды для деградации ПВХ аспергиллами в крупных масштабах следует заменить сахарозу на какой-либо иной низкомолекулярный источник органического углерода, например, различные побочные продукты органического синтеза или переработки каустобиолитов. В данном случае низкомолекулярный источник углерода выполняет функцию «заправки» для наращивания биомассы гриба-деструктора, а затем в условиях дефицита питательных веществ сформированные биопленки, гипотетически, должны приступить к утилизации ПВХ.

По данным эксперимента, поверхность стекла несколько более благоприятна для обрастания, нежели поверхность ПВХ. Это обстоятельство подтверждено значительно более протяженным ростом *Aspergillus* spp. на стекле в воздушной части посева, чем на ПВХ, а также более густым обрастанием стенок пробирки в

питательной среде. Косвенно этот факт указывает на целесообразность внесения частиц силиката на этапах полимеризации ПВХ для создания композитной минерально-органической массы, более пригодной для обрастания при биодegradации. С целью выяснения различий адгезии и колонизации силикатного стекла и ПВХ имеет определенный интерес исследование тонкого строения микроколоний грибов на этих поверхностях с помощью сканирующей электронной микроскопии. Наиболее интенсивно биомасса грибов формируется на границе питательной среды и воздуха. Снижение уровня питательной среды в посевах (в силу длительной инкубации) привело к формированию адаптивных реакций культур, направленных на улучшение потребления жидкости и питательных веществ: формирование «двухуровневых» колоний (*A. fumigatus*, *A. niger*) и глубоких выростов, распространяющихся в направлении дна пробирки (*A. wentii*, *A. ochraceus*, *A. nidulans*). Таким образом, для биодegradации требуется смачивание частиц ПВХ (возможно, мелкодисперсных), а также хорошая аэрация.

На сегментах полосок ПВХ ниже уровня питательной среды наиболее интенсивное обрастание выявили у тест-штаммов видов *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. tamarii*, *A. oryzae*, *A. niger*, *A. terreus*, *Aspergillus* sp. (Terrei), *A. candidus*, *A. sydowii*, *A. nidulans* и *A. janus*. Из перечисленных культур штамм *A. tamarii* также отличался от остальных сильным развитием воздушного мицелия, охватывающего образец ПВХ. В связи с такими ростовыми характеристиками данный изолят может быть рекомендован в качестве перспективного штамма для дальнейшего исследования взаимодействия с ПВХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang M., Buekens A., Jiang X., Li. X. Dioxins and polyvinylchloride in combustion and fires. Waste Manag. Res. 2015; Vol. 33 (7): 630-643.
2. Patil R., Bagde U.S. Isolation of polyvinyl chloride degrading bacterial strains from environmental samples using enrichment culture technique. African Journal of Biotechnology. 2012; Vol. 11 (31): 7947-7956.
3. Singh R., Pant D. Polyvinyl chloride degradation by hybrid (chemical and biological) modification. Polymer Degradation and Stability. 2015; 123.
4. Muthukumar A., Veerappapillai S. Biodegradation of plastics – a brief review. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 2015; 31 (2): 204-209.
5. Alshehrei F. Biodegradation of synthetic and natural plastic by microorganisms. Journal of Applied & Environmental Microbiology. 2017; 5 (1): 8-19.
6. Arutchelvi J., Sudhakar M., Arkatkar A. et al. Biodegradation of polyethylene and polypropylene. Indian Journal of Biotechnology. 2008; 7: 9-22.
7. Ali M.I., Ahmed S., Robson G. et al. Isolation and molecular characterization of polyvinyl chloride (PVC) plastic degrading fungal isolates. J. Basic. Microbiol. 2014; 54 (1): 18-27.
8. Калинина И.Г., Гумаргалиева К.З., Семенов С.А. Биокоррозия пластифицированного поливинилхлорида под воздействием микроскопического гриба *Aspergillus niger*. Коррозия: материалы, защита. 2017; 2: 37-40. [Kalinina I.G., Gumargalieva K.Z., Semenov S.A. Biokorroziya plastifitsirovannogo polivinilhlorida pod vozdeystviem mikroskopicheskogo griba *Aspergillus niger*. Korrozziya: materialyi, zaschita. 2017; 2: 37-40. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 27.02.2018 г.

Рецензент: И.А. Босак



СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДВУХ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ МИКОТИЧЕСКОГО РИНОСИНУСИТА

Степанова А.А. (зав. лаб.)*, Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.),
Подковальников С.Л. (врач-оториноларинголог)

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

©Коллектив авторов, 2018

Изучены гистологические особенности двух случаев микотического риносинусита, обусловленные разными представителями мицелиальных грибов. Приведены схемы, демонстрирующие топографическое строение грибного «тела» содержимого пазухи. Выявлены специфические особенности анатомического строения аспергиллем, формирующихся в околоносовых пазухах пациентов.

Ключевые слова: аспергиллема, световая микроскопия, смешанные инфекции

COMPARATIVE HISTOLOGICAL ANALYSIS OF TWO CLINICAL CASES OF MYCOTIC RINOSINUSITIS

Stepanova A.A. (head of the laboratory), Avdeenko
Y.L. (senior scientific collaborator), Podkovalnikov
S.L. (otorhinolaryngologist)

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

©Collective of authors, 2018

Histological features of two cases of mycotic sinusitis caused with different filamentous fungi were studied.

The diagrams showing the topographic structure of the fungal «body» of paranasal content were presented. The specific features of the anatomical structure of aspergillomes formed in the paranasal sinuses of patients were revealed.

Ключевые слова: aspergilloma, light microscopy, mixed infection

ВВЕДЕНИЕ

Ранее [1] мы провели гистологическое изучение микотического риносинусита на примере ряда пациентов. Продолжение начатых исследований было необходимо для расширения наших представлений о разнообразии анатомического строения грибных образований в околоносовых пазухах пациентов и воспалительной реакции со стороны слизистой оболочки. Последнее обстоятельство важно для правильной постановки диагноза в зависимости от таксономического состава грибов, определения прогноза развития инфекционного процесса и формирования представлений о типологическом строении аспергиллем и других грибных образований.

Цель настоящей работы – детальное сравнительное гистологическое исследование микотического риносинусита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для гистологических исследований использовали операционный материал от 2-х больных.

Пациентке В., 46 лет, с жалобами на затрудненное носовое дыхание и периодические гнойные выделения в результате обследования был поставлен диагноз: хронический правосторонний гайморит, инородное тело в правой верхнечелюстной пазухе, предположительно, мицетома.

Пациентке Н., 47 лет, с жалобами на образование корок в полости носа и ощущение онемения в проекции правой щеки после обследования был поставлен клинический диагноз: обострение хронического правостороннего гнойного гайморозтмоидита, мицетома правой верхнечелюстной пазухи, искривление перегородки носа.

Обе больные были прооперированы. В первом случае была выполнена эндоскопическая гайморотомия, во втором – гайморозтмоидотомия.

Операционный материал из околоносовых пазух помещали в биопсийные кассеты, фиксировали 6 часов 10%-ым забуференным раствором формалина. Биопсийные кассеты с материалом помещали в аппарат для гистологической обработки биологических тканей Tissue-Tek®VIP™ 5Jr. (фирма Sakura, Япония) для проведения проводки через серию изопропанола (IsoPrep). Последующую заливку в среду Biomix осуществляли с помощью модульной системы Tissue-Tek®ТЕСТМ (фирма Sakura, Япония). Срезы толщиной 3 мкм получали на санном микротоме Slide 2003 (группа компаний Stormoff) и затем монтировали на предметные стекла с помощью адгезивной жидкости фирмы Biovitrum. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином (Г-Э) для описания характера воспалительной реакции и для выявления элементов гриба – по методу PAS и Гомори-Грокотт. Срезы после окрашивания заключали в заливочную среду Bio Mount (фирмы Bio-Optica). Препараты изучали и фотографировали в световом микроскопе AxioLab.A1 (фирма Zeiss, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Случай 1. В операционном материале из правой верхнечелюстной пазухи пациентки В., 46 лет, наблюдали фрагменты слизистой оболочки носа и содержимого этой пазухи. При окраске Г-Э и PAS выявили хронический продуктивный полипозный риносинусит.

* Контактное лицо: Степанова Амалия Аркадьевна,
e-mail: amaliya.stepanova@sngmu.ru

сит в стадии обострения, с эрозиями, реактивными изменениями эпителия (гиперплазия). В собственной пластинке слизистого слоя отмечали выраженную лимфоплазмоцитарную инфильтрацию с примесью макрофагов, нейтрофилов и немногочисленных эозинофилов (табл.). Также обнаружили присутствие двух лимфоидных фолликулов с герминативными центрами и очаговые кровоизлияния. В сосудах наблюдали краевое стояние лейкоцитов. Признаков инвазии в слизистую оболочку пазухи носа не установлено.

Таблица

Сравнительный анализ типов грибных образований и клеток, участвующих в воспалении при риносинусите у пациентов

Номер случая	Род или вид гриба	Типы клеток грибов и образований из них в материале из пазухи носа	Типы клеток иммунной системы
1	<i>Aspergillus</i> spp. и <i>Cunninghamella</i> spp.	Ложная ткань, 1 зачаток и 1 формирующаяся аспергиллема, широкие гифы, спорангиофоры и спорангиоспоры мукормицета (предположительно <i>Cunninghamella</i> spp.).	Слизистая оболочка околоносовой пазухи: густая инфильтрация из лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов. Материал из околоносовой пазухи: редкие макрофаги и нейтрофилы в краевой зоне грибного тела.
2	<i>Aspergillus</i> spp. и мукормицет	Ложная ткань, 6 аспергиллем разного размера и анатомического строения, конидиогенные аппараты <i>Aspergillus</i> spp. и продуцируемые ими многочисленные конидии аспергилла, полосы из гиф мукормицета	Слизистая оболочка околоносовой пазухи: густая инфильтрация из лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов. Материал из околоносовой пазухи: вокруг грибного «тела» воспалительная инфильтрация отсутствует.

Материал из содержимого пазухи носа был представлен преимущественно однородными по плотности расположения скоплениями хаотично расположенных, тонких (2-4 мкм), слабоокрашенных (Г-Э и PAS) гиф мицелия, образующих ложную ткань [2] и составляющих основу грибного «тела» (Рис. 1, 1; 2 а, стрелка). В некоторых краевых зонах данного грибного «тела» плотность расположения гиф мицелия была значительно ниже, для них был характерен радиальный рост (Рис. 1, 4; 2 б, в).

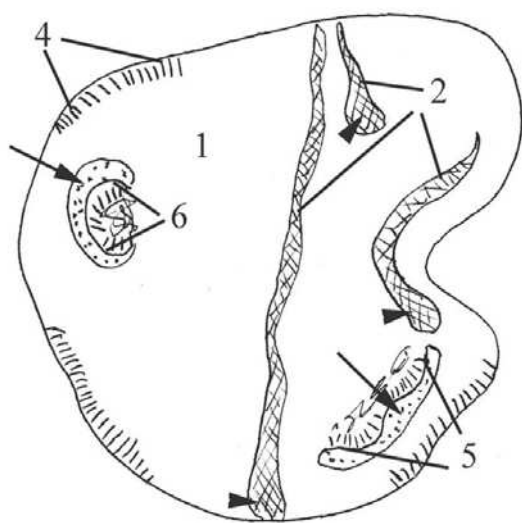


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая строение грибного «тела» из околоносовой пазухи (первый случай).

В основном «теле» были выявлены три асимметричных скопления разной протяженности слегка извилистой формы (Рис. 1, 2). Одно из них отличалось наибольшей протяженностью, проходило по всей средней части среза, а два других – были приурочены к его периферии. Данные скопления состояли из сильно извилистых, довольно рыхло и беспорядочно ориентированных (Рис. 2 а, 1, г, д) широких гиф (7,5-15 мкм).

Границы таких скоплений четко очерчены, по мере их расширения (Рис. 1, 2, головки стрелок) в них появлялись элементы спороношения, представленные спорангиофорами (Рис. 2 г) и скоплениями довольно многочисленных спорангиоспор (Рис. 2 а, г-е). Вегетативные гифы и элементы спороношения имели высокий контраст (Рис. 2 а, г, д) и темно-коричневую окраску клеточных стенок, что делало их легко различимыми на срезах. Спорангиофоры выявляли в умеренном числе. Они состояли из ножки длиной 60-85 мкм и сферической (30-40 мкм) головки (Рис. 2 г, д). Крайне редко в гифах и ножках вблизи головки наблюдали септу. Спорангиоспоры формировались на поверхности головки (Рис. 2 г, д), сферической формы (3,2-4,9 мкм), с четкой темно-коричневой гладкой спородермой (Рис. 2 а, г-е). После отделения от головки они, как правило, концентрировались вблизи нее. Часто встречались сильно деформированные головки, окруженные многочисленными спорангиоспорами. Судя по строению данного гриба, можно допустить его принадлежность к роду *Cunninghamella*.

Скопления гиф данного мукормицета находились в плотном контакте с тонкими гифами грибного «тела» околоносовой пазухи, но с ними не «смешивались», что было нами отмечено ранее для других мукормицетов [1, 3]. По глазомерной оценке, скопления грибных элементов мукормицета составляли примерно 10% площади медианного среза анализируемого материала, в котором гифы аспергилла доминировали. Клетки иммунной системы обнаруживали исключительно на некоторых участках по его периферии в виде немногочисленных скоплений макрофагов и нейтрофилов.

По периметру изучаемого грибного «тела» отмечали ранние (Рис. 1, 5) и более продвинутые (Рис. 1, 6, 2 ж) стадии развития асимметричных аспергиллем. Более молодые стадии были представлены двумя близкорасположенными «зачатками» аспергиллем. Они имели веерообразную форму, состояли из одного типа тонких (2-3 мкм), плотно и хаотично ориентированных гиф с элементами маргинального радиального роста. Интересно, что радиально растущие периферические гифы таких аспергиллем были обращены в светлую полусферическую полость (Рис. 1, стрелки, 2 ж, стрелка). Конидиогенные аппараты по периферии аспергиллем отсутствовали. Отметим, что мы не наблюдали вблизи таких аспергиллем клетки иммунной системы. Присутствие аспергиллем опосредованно может быть показателем наличия аспергиллов в данном материале. Мы имеем дело с интересным фактом закладки и последующего роста аспергиллем в ходе обособления непосредственно в толще грибного «тела» своего рода участков меристемы с активно растущими апикальным ростом маргинальными гифами. Известно, что разрушение ткани хозяина при инвазии гиф мицелиального гриба осуществляется благодаря мощной ферментной активности именно в зоне непосред-

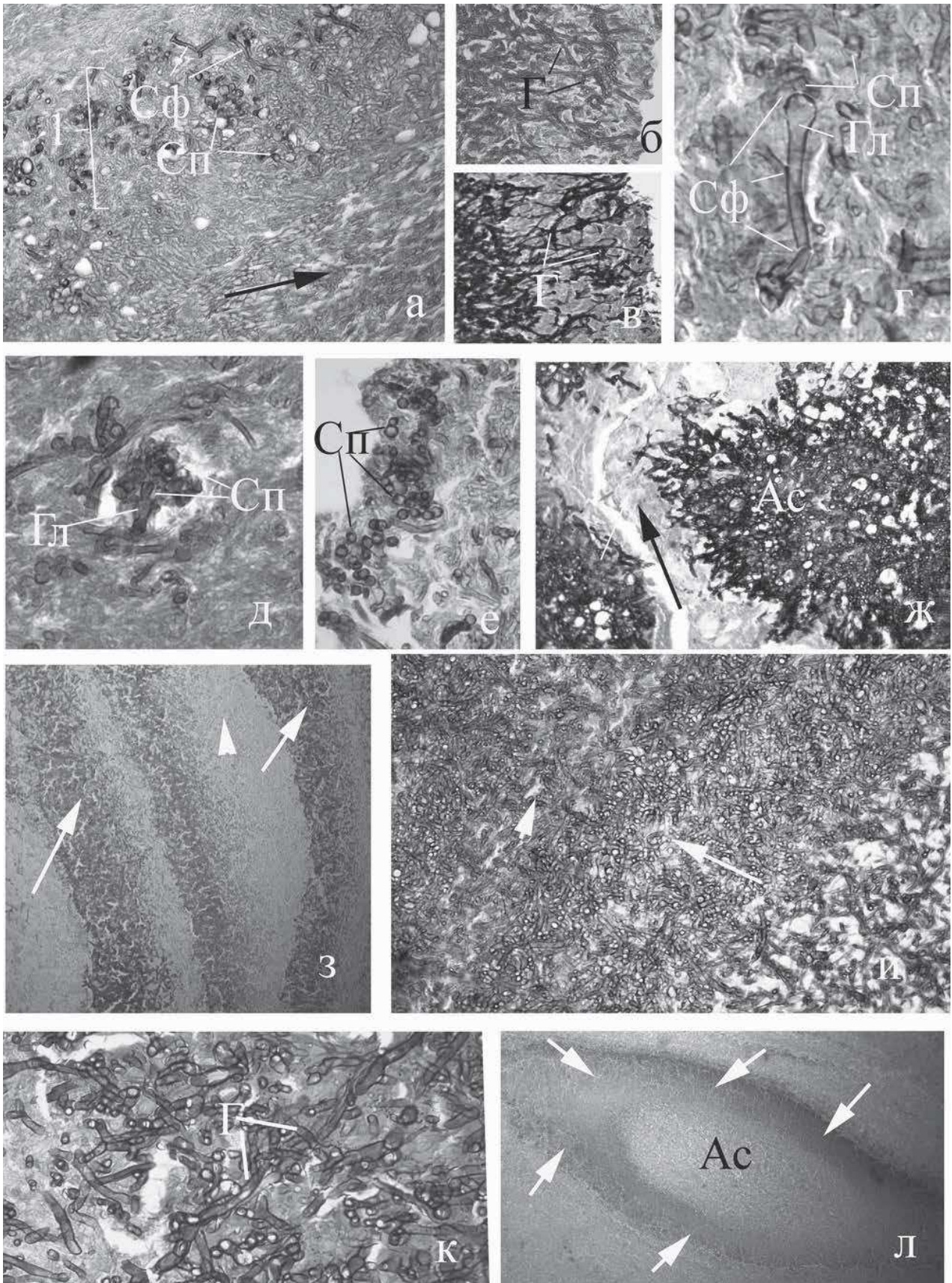


Рис. 2. а - к - фрагменты грибного «тела» содержимого околоносовой пазухи пациента, л - общий вид аспергиллемы. а, е, л - Г-Э, б, г, з - PAS, в, д, ж, и, к - Гомори-Грокотт. Ув. а-в - х 200, г, д, е, ж, и, к - х 400, з, л - х 100. Условные обозначения здесь и на рис. 4, 5: Ас - аспергиллема, Г - гифы, Гл - головка, К - конидии, КА - конидиогенный аппарат, Н - ножка, Сп - спорангиоспоры, Сф - спорангиофор(ы).

ственно апекса гиф. Асимметричное формирование светлой полости вблизи как зачатков аспергиллем, так и их молодых стадий происходит за счет лизиса гиф грибного тела. Формирование такой полости создает благоприятные условия для активного роста периферических гиф аспергиллемы.

При окраске по методу Гомори-Грокотт гифы основного тела материала имели разные оттенки черного цвета, но в целом доминировали слабоконтрастные гифы, что, скорее всего, можно объяснить тем, что это отмершие или стареющие гифы. В то же время клеточные стенки гиф мукормицета, спорангиофоры и спорангиоспоры имели насыщенный черный цвет (Рис. 2 д).

В анализируемом случае, по глазомерной оценке, соотношение площади скоплений тонких гиф основного грибного «тела», полос мукормицета и аспергиллем можно определить, соответственно, как 75%, 20% и 5%, то есть аспергиллы занимали доминирующее положение.

Согласно нашим наблюдениям, «грибное» содержимое пазухи носа находилось на некотором расстоянии от поверхности слизистой оболочки, что было характерно и для второго случая, приведенного в настоящем сообщении.

Случай 2. Операционный материал из правой верхне-челюстной пазухи пациентки Н., 47 лет, представлен большим количеством фрагментов слизистой оболочки с картиной хронического эрозивного риносинусита с диффузно-очаговой лимфоплазмочитарно-макрофагальной инфильтрацией с примесью нейтрофилов и эозинофилов. Имели место фиброз, мелко- и крупноочаговые кровоизлияния. Покровный эпителий слизистого слоя – местами с признаками переходноклеточной метаплазии.

Грибное «тело» материала из просвета околоносовой пазухи (окраска Г-Э, PAS) имело довольно своеобразное ламеллярное строение. Оно состояло из тонких (2-3 мкм) слоев (90-150 мкм), хаотично и плотно расположенных по типу ложной ткани, септированных, слабоконтрастных гиф (Г-Э) гриба (Рис. 3, 1, 2 з, и, головки стрелок), которые перемежались со слегка извилистыми полосами (в количестве 14 на срезе) варьирующей толщины (от 100 до 200 мкм, Рис. 3, 2, 2 з, стрелки).

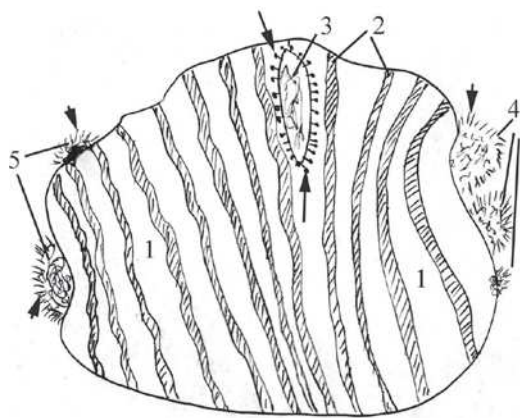


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая строение грибного «тела» из околоносовой пазухи (второй случай).

Полосы различались между собой по толщине и окраске гиф. Они состояли из плотно и хаотично

расположенных широких (10-12,5 мкм) гиф (Рис. 2 и, стрелка, к) с крайне редкими септами. При окрашивании по методу Г-Э и PAS в таких скоплениях окраска стенок гриба варьировала от ярко- до бледно-малиновой. Поскольку гифы располагались очень плотно относительно друг друга, определить пространственную ориентацию латеральных гиф не представлялось возможным. Элементы спороношения в полосах широких гиф или вблизи них отсутствовали, не было и воспаления.

На площади среза грибного «тела» было выявлено шесть аспергиллем разного размера. Одна самая крупная (2000 x 3000 мкм) аспергиллема сложного анатомического строения (Рис. 3, 3, 2 л) располагалась по периферии грибного «тела» в окружении тонких гиф. Она имела линзовидную форму, маргинальные радиально растущие гифы в ней отсутствовали. По всему периметру аспергиллемы отмечали варьирующей толщины (от 80 до 175 мкм) «венец» из скоплений вегетативных гиф и многочисленных вертикально ориентированных конидиогенных аппаратов (Рис. 2 л, стрелки, 3, стрелки). Последние имели головки сферической формы диаметром от 20 до 30 мкм (Рис. 4 а, б), которые несли один ряд стеригм (7 x 3 мкм), расположенных по всему их периметру. Преобладающая часть головок была сильно деформирована и лишена содержимого. Конидиогенные аппараты были окружены неправильной формы массивными по объему скоплениями из плотно расположенных зрелых конидий (Рис. 4 а, б). Последние мелкие (2-3 мкм), гладкие. Судя по строению конидиогенных аппаратов и формируемых ими конидий, можно говорить о присутствии в анализируемом материале гриба рода *Aspergillus*, предположительно – *Aspergillus flavus*, что соответствует описанию данного вида, приведенному в работе Билай В.И. и Коваль Э.З. [4]. Этот вид микромицета доминирует среди изученных клинических случаев аспергиллеза околоносовых пазух [6] и часто встречается у иммунокомпетентных пациентов [11]. В отличие от подстилающих конидиогенные аппараты слабоконтрастных (Г-Э, PAS), тонких (2-3 мкм) и беспорядочно расположенных гиф вегетативного мицелия, конидиогенные аппараты и зрелые конидии имели темно-коричневую окраску, что делало их легко различимыми на срезах и обусловлено тем, что они были меланифицированы. Отметим, что вблизи описываемой аспергиллемы клетки иммунной системы отсутствовали. Возможно, что это было предопределено тем, что: 1) топографически «венец» из отмерших и сильно меланифицированных конидиогенных аппаратов и клеток вегетативного мицелия, несомненно, представляют собой механический барьер для их жизнедеятельности; 2) мы имеем дело с закончившей жизнедеятельность аспергиллемой, без апикально растущих маргинальных гиф, которые являются основной мишенью для «атаки» клеток иммунной системы [7]. По нашему мнению, большой по площади периметр «спороносящей» аспергиллемы создает благоприятные условия не только для формирования конидиогенных аппаратов, но и значительной амплитуде пространственного распространения формируемых ими многочисленных зрелых конидий, что создает благоприятную почву для вторичного инфекционного процесса.

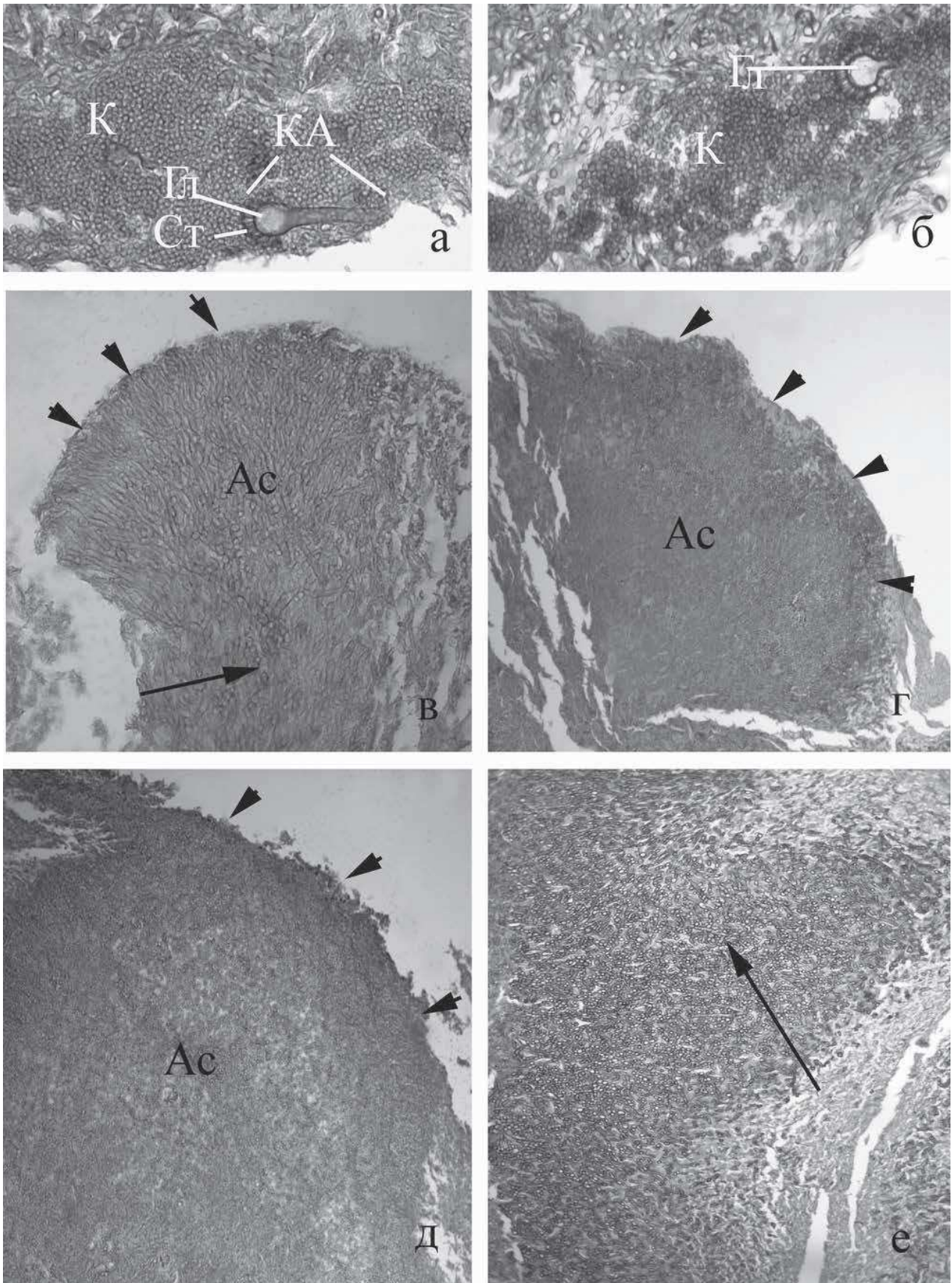


Рис. 4. а, б – конидиальные аппараты и скопления зрелых конидий аспергилла, в - д – асимметрично растущие аспергиллы, е – предположительно ранняя стадия формирования мицеломы из широких гиф мукормицета. а, в – Г-Э, д – PAS, б, г, е – Гомори-Грокотт. Ув.: а, б – х 400, в-е – х 100.

Также мы наблюдали группу из трех более мелких размеров (от 400 до 1000 мкм), разновозрастных, еще формирующихся асимметричных аспергиллем (Рис. 3, 4), расположенных недалеко друг от друга и на одном уровне. В маргинальной части аспергиллем, обращенной в полость пазухи носа, отмечали радиально растущие апексы гиф (Рис. 4 в, головки стрелок). С противоположной стороны среза имели место две одиночные аспергиллемы (Рис. 3, 5) диаметром 300 (Рис. 4 г) и 900 мкм (Рис. 4 д). При анализе серийных срезов последних обнаружили наличие в их основании «ножки» (Рис. 4 в, стрелка, 5 а, б), присутствие которой можно объяснить необходимостью механической связи с основным материалом грибного «тела», снабжением питания для своего роста и последующего спороношения. В основании одной из аспергиллем ножка была довольно протяженной (900 мкм, Рис. 5).

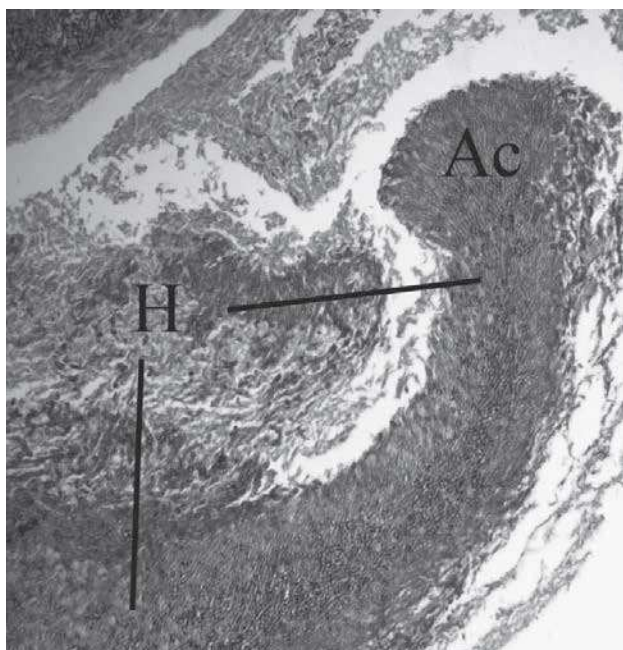


Рис. 5. Особенности анатомического строения аспергиллемы грибного «тела» (второй случай). Гоморигротт. Ув.: x 100.

Мы предполагаем, что такие ножки формируются в основании аспергиллем, закладывающихся в толще грибного «тела». В дальнейшем постепенное увеличение их протяженности механически «выталкивает» аспергиллему на поверхность грибного «тела». Таким образом, закладывающиеся внутри грибного «тела» аспергиллемы находятся под его защитой, а попадая в периферическую его часть, получают более выгодные условия для аэрации, влагообеспечения и спороношения. По всему периметру таких аспергиллем радиально располагались апикально растущие гифы (Рис. 3, 4 г, д, головки стрелок). Клетки иммунной системы вблизи описанных аспергиллем отсутствовали.

Крайне редко скопления широких гиф мукормицета формировали массивные одиночные латеральные скопления (Рис. 4 е, стрелка) конической формы, текстура которых была сходной с формирующими их полосами мукормицета. Поскольку по периферии такого скопления уже намечались картины его обособления небольшими светлыми участками, то допустимо, что это есть не что иное, как закладка мицеломы мукормицетом. Можно предположить, что возраст скоплений

мукормицета в грибном «теле» меньше, чем аспергиллов.

По глазомерной оценке в описываемом случае соотношение скоплений тонких гиф основного грибного тела, полос мукормицета, аспергиллем и скоплений конидиогенных аппаратов аспергиллов (включая сформированные ими зрелые конидии) можно определить, соответственно, как 55%, 30% 10% и 5%. Иными словами, в грибном «теле» описываемого случая мукормицеты, безусловно, доминировали.

РЕЗЮМЕ

В настоящей работе приведены два случая микотического неинвазивного хронического риносинусита смешанного типа, развивающегося по типу грибного шара («fungal ball» – в англоязычной литературе или «аспергиллема» – в нашем описании) согласно классификации грибных риносинуситов, представленной в работе Chakrabarti А. с соавторами [11]. В обоих случаях собственно грибное «тело» из содержимого околоносовой пазухи имело однотипное строение и было составлено из вегетативных гиф аспергиллов, образующих ложную ткань благодаря наличию снаружи клеточных стенок сильно меланифицированного внеклеточного матрикса, характерного как для тканевых форм гиф [2, 5], так и гиф субстратного мицелия аспергиллов в условиях культуры *in vitro* [8, 9]. О присутствии последних свидетельствовало наличие аспергиллем в первом случае, а во втором – аспергиллем, конидиогенных аппаратов и зрелых конидий, характерных для аспергиллов. Особенности топографии гиф мукормицетов в таком теле различались (мозаичность – в первом случае и ламеллярность – во втором). К тому же, судя по ориентации гиф в скоплениях мукормицета, толщине и характерному цвету клеточных стенок гиф при разных способах окраски, наличию спороношения (первый случай), можно допустить присутствие двух разных видов микромицетов. Интересно, что формирование отдельно лежащих друг от друга полос (ламеллярность) было выявлено и в других гистологических исследованиях микотического риносинусита [1, 10]. Мозаичное (первый случай) и ламеллярное (второй случай) строение содержимого пазух носа – показатель возможности топографического сосуществования аспергиллов и мукормицетов. Безусловно, более выгодное положение в данном сообществе, скорее всего, симбиотического характера, занимают мукормицеты, поскольку, находясь в окружении ложной ткани аспергиллов, они защищены от воздействия клеток иммунной системы. Также нельзя исключать тот факт, что разрушенные и разрушающиеся в ходе естественного старения клетки грибного «тела» околоносовой пазухи могут быть источником питания развивающегося мукормицета, который в этом случае выступает в роли сапротрофа. По данным настоящего и ранее проведенного гистологических исследований [1], грибное «тело» околоносовых пазух не является простым механическим конгломератом гиф [11], а представляет собой динамично развивающуюся, сложно устроенную композицию грибного сообщества.

В обоих клинических случаях выявленные в содержимом пазухи аспергиллемы состояли из одного типа гиф. Для тех из них, что имели выход в просвет

околоносовой пазухи, был характерен специфический асимметричный рост, а для некоторых – наличие ножки из плотного пучка гиф, организованных по типу ризоморф макромицетов, что существенно отличает их от аспергиллем легких. Характерное для таких аспергиллем маргинальное расположение в материале пазух носа можно объяснить лучшими условиями для аэрации, влагообеспечения и возможного спороношения. Обнаруженные в первом случае локальные картины радиального роста концевых участков гиф мы интерпретируем как начальные стадии формирования

аспергиллем или собственно грибную меристему.

Отметим, что наличие довольно большого числа зрелых спорангиоспор мукормицета (первый случай) и гриба рода *Aspergillus* (второй случай) в составе грибного «тела» свидетельствует о длительности инфекционного процесса, переходе его в хроническую форму и возможности формирования вторичных очагов вегетативного роста грибов. Это приводит к видоизменению особенностей анатомического строения грибного «тела».

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеенко Ю.Л., Степанова А.А., Митрофанов В.С., Шульгина М.В. Гистологическое исследование микотического синусита. Проблемы медицинской микологии. 2017; 19 (3): 32-40. [Avdeenko Yu.L., Stepanova A.A., Mitrofanov V.S., Shulgina M.V. Gistologicheskoe issledovanie mikoticheskogo sinusita. Problemy meditsinskoj mikologii. 2017; 19 (3): 32-40 (In Russ)].
2. Степанова А.А., Васильева Н.В., Борзова Ю.В. и др. Электронно-микроскопическое изучение аспергиллеза легких человека на примере архивного материала. Проблемы медицинской микологии. 2014;16 (3): 70-79. [Stepanova A.A., Vasileva N.V., Borzova Yu.V. i dr. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie aspergilleza legkih cheloveka na primere arhivnogo materiala. Problemy meditsinskoj mikologii. 2014;16 (3): 70-79 (In Russ)].
3. Иоакимова К.Г., Степанова А.А., Богомолова Т.С. и др. *Mucor* species и его ассоцианты – *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. при диссеминированном микозе у пациента с лейкозом. Проблемы медицинской микологии. 2013;15 (3): 73-78. [Ioakimova K.G., Stepanova A.A., Bogomolova T.S. i dr. *Mucor* species i ego assotsianty – *Aspergillus* spp. i *Candida* spp. pri disseminirovannom mikoze u patsienta s leykozom. Problemy meditsinskoj mikologii. 2013;15 (3): 73-78 (In Russ)].
4. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. Киев: Наук. Думка. 1988: 204 с. [Bilay V.I., Koval E.Z. Aspergillyi. Kiev: Nauk. Dumka. 1988: 204 s. (In Russ)].
5. Степанова А.А., Босак И.А., Сеницкая И.А. Цитологическое исследование *Aspergillus fumigatus* Fres. в легких мышей. Проблемы медицинской микологии. 2013; 15 (1): 52-58. [Stepanova A.A., Bosak I.A., Sinitskaya I.A. Tsitologicheskoe issledovanie *Aspergillus fumigatus* Fres. v legkih myishey. Problemy meditsinskoj mikologii. 2013; 15 (1): 52-58 (in Russ)].
6. Подковальников С.Л., Шадринова О.В., Хостелиди С.Н. и др. Инвазивный аспергиллез околоносовых пазух у больных в Санкт-Петербурге. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (3): 16-19. [Podkovalnikov S.L., Shadrivova O.V., Hostelidi S.N. i dr. Invazivnyy aspergillez okolonosovyih pazuh u bolnyh v Sankt-Peterburge. Problemy meditsinskoj mikologii. 2016; 18 (3): 16-19 (In Russ)].
7. Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., Chibana H., Bosak I.A. Ultrastructural aspects of the interactions between the murine lungs macrophages and the *Aspergillus fumigatus* hyphal cells. Problems in medical mycology. 2016; 18 (1): 20-25.
8. Степанова А.А., Сеницкая И.А., Авдеенко Ю.Л. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus fumigatus* Fres. Проблемы медицинской микологии. 2004; 6 (3): 34-40. [Stepanova A.A., Sinitskaya I.A., Avdeenko Yu.L. Submikroskopicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo mitseliya *Aspergillus fumigatus* Fres. Problemy meditsinskoj mikologii. 2004; 6 (3): 34-40 (In Russ)].
9. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Ультраструктура клеток вегетативного мицелия *Aspergillus flavus* Link, выращенного *in vitro*. Проблемы медицинской микологии. 2006; 8 (1): 40-45. [Stepanova A.A., Sinitskaya I.A. Ultrastruktura kletok vegetativnogo mitseliya *Aspergillus flavus* Link, vyiraschennogo *in vitro*. Problemy meditsinskoj mikologii. 2006; 8 (1): 40-45 (In Russ)].
10. Masatomo K. Histopathological diagnosis of fungal sinusitis and variety of its etiologic fungus. Med. Mycol. J. 2017; 58: 127-132.
11. Chakrabarti A., Denning D.W., Ferguson B.J. et al. Fungal rhinosinusitis: a categorization and definitional schema addressing current controversies. Laryngoscope. 2009; 119 (19): 1809-1818.

Поступила в редакцию журнала: 06.02.2015

Рецензент: Митрофанов В.С.



УДК 616.94:615.015.8:614.2

АНТИБИОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

¹Козлова Н.С. (доцент кафедры)*, ²Баранцевич Н.Е. (н.с.), ²Баранцевич Е.П. (зав. НИЛ)

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова (кафедра медицинской микробиологии); ² Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2018

В многопрофильном стационаре в 2015 г. были выделены 1507 штаммов бактерий – возбудителей гнойно-септических инфекций (ГСИ), среди которых преобладали энтеробактерии (42,3% от числа выделенных культур). Совместный удельный вес представителей восьми видов грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов в структуре возбудителей ГСИ превышал три четверти от числа выделенных культур (84,5%). Ведущим грамотрицательным микроорганизмом в стационаре оказалась *Klebsiella pneumoniae* (25,4%), ведущим грамположительным – *Enterococcus faecalis* (12,3%). Среди возбудителей доля *Escherichia coli* составила 10,0%, *Pseudomonas aeruginosa* – 8,9%, *Staphylococcus aureus* – 7,8%, удельный вес *Acinetobacter baumannii* был 7,2% *Staphylococcus epidermidis* – 6,8% и *Enterococcus faecium* – 6,2%. Методом серийных разведений определена чувствительность к антимикробным препаратам культур восьми ведущих видов возбудителей, 87,7% штаммов которых оказались устойчивыми хотя бы к одному антибиотику. Наибольшую активность в отношении грамположительных кокков в стационаре проявляли ванкомицин и линезолид, в отношении псевдомонад и ацинетобактера – полимиксин В и колестилин, в отношении клебсиелл и эшерихий – фосфомицин.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, ацинетобактер, гнойно-септические инфекции, многопрофильный стационар, псевдомонады, стафилококки, энтеробактерии, энтерококки

ANTIBIOTIC RESISTANCE IN AGENTS OF NOSOCOMIAL INFECTIONS IN A MULTIDISCIPLINARY MEDICAL CENTRE

¹Kozlova N.S. (associate professor of the department), ²Barantsevich N.E. (scientific collaborator), ²Barantsevich E.P. (head of scientific research unit)

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (department of medical microbiology); ² Almazov National Medical Research Centre; Saint-Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2018

1507 bacterial strains – purulent-septic infection agents were isolated in a multidisciplinary centre in 2015. Enterobacteriaceae prevailed among isolated cultures (42,3%). Eight gram-positive and gram-negative bacterial species are dominated, representing 84,5% of isolated strains.

Klebsiella pneumoniae prevailed among gram-negative stains (25,4%), *Enterococcus faecalis* – among gram-positive (12,3%). *Escherichia coli* comprised 10,0%, *Pseudomonas aeruginosa* – 8,9%, *Staphylococcus aureus* – 7,8%, *Acinetobacter baumannii* – 7,2%, *Staphylococcus epidermidis*

* Контактное лицо: Козлова Надежда Сергеевна, e-mail: spbkns@gmail.com

– 6,8% and *Enterococcus faecium* – 6,2% in agents of purulent-septic infections. Minimal inhibitory concentrations of antibiotics were studied in eight prevailing species. 87,7% of strains were resistant to at least one antimicrobial agent. The lowest level of resistance in gram-positive cocci was found to vancomycin and linezolid, in *P. aeruginosa* and *A. baumannii* – to polymyxin and colistin, in *K. pneumoniae* and *E. coli* – to fosfomycin, polymyxin and colistin.

Key words: *Acinetobacter*, Enterobacteriaceae, *Enterococcus*, multidisciplinary centre, purulent-septic infection, resistance to antibiotics, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в инфекционной патологии появилось понятие «оппортунистические инфекции», под которыми подразумевают заболевания, развивающиеся на фоне уже имеющихся иммунодефицитных состояний и вызываемые микроорганизмами со слабовыраженной патогенностью, преимущественно так называемыми условно-патогенными микробами (УПМ). Характерным для них свойством является способность колонизировать абиотические и биотические поверхности с образованием биопленок, в составе которых микроорганизмы становятся значительно устойчивее как к действию антимикробных препаратов (АМП) и иммунных факторов организма, так и неблагоприятных факторов внешней среды [1, 2]. В медицинских учреждениях, особенно стационарах, в условиях широкого использования АМП и применения искусственных суставов, протезов, сердечных клапанов, катетеров, сосудов и др. создаются селективные преимущества для распространения УПМ, резистентных к антибиотикам и дезинфектантам. При этом ведущее место среди внутрибольничных инфекций занимают гнойно-септические инфекции (ГСИ), частота которых увеличивается, при этом расширяется спектр их клинических проявлений, включая тяжелые заболевания с летальным исходом [1, 2].

Широко распространенной группой возбудителей ГСИ, прежде всего, пневмонии и сепсиса, в стационарах являются грамотрицательные микроорганизмы, среди которых наибольшую опасность представляют неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОб), особенно псевдомонады и ацинетобактер [3, 4], и целый ряд энтеробактерий, таких как клебсиеллы, эшерихии, серрации и др. [1, 5, 6]. Для НГОб характерна не только природная устойчивость ко многим антибиотикам, но и продукция металло-бета-лактамаз, способных расщеплять все бета-лактамы антибиотиков, включая карбапенемы, с которой часто ассоциируется резистентность к препаратам с другими механизмами действия, в том числе аминогликозидам и фторхинолонам [1, 3]. Так, в исследовании МАРАФОН в 2013-14 гг. у 63,5% изолятов *Acinetobacter baumannii* были выявлены гены приобретенных карбапенемаз класса D [4]. Устойчивость энтеробактерий к АМП чаще всего связана с плазмидной локализацией генов антибиотикорезистентности, в том числе отвечающих за продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), которые широко распространены как среди патогенных [7], так и условно-патогенных энтеробактерий [5,6]. Наряду с резистентностью к целому ряду АМП разных механизмов действия, в последние годы среди энтеробактерий появились штаммы, продуцирующие карбапенемазы [5, 8]. Все вышесказанное приводит к глобальному росту устойчивости к карбапенемам и снижает эффективность применения препаратов этой

группы в терапии внутрибольничных инфекций.

Среди грамположительных микробов наибольшая роль в этиологии ГСИ различной локализации в стационарах принадлежит грамположительным коккам, преимущественно стафилококкам [1, 9, 10] и энтерококкам [1, 2]. Наибольшую опасность среди стафилококков представляют метициллинрезистентные штаммы *Staphylococcus aureus* (MRSA), которые составляют около половины выделенных культур стафилококков и в большинстве случаев являются полирезистентными. В то же время в развитии госпитальных инфекций неуклонно возрастает этиологическая роль коагулазонегативных видов стафилококков (КНС), большинство из которых является метициллинрезистентными и полирезистентными [10, 11]. По данным литературы, около 60-90% клинических изолятов КНС относятся к виду *Staphylococcus epidermidis*, который, помимо бактериемий, вызывает развитие эндокардитов, катетер-ассоциированных инфекций, воспалительных процессов в области протезов сердечных клапанов и суставов и т.п. [1, 11] Этому, вероятно, способствуют конкурентные преимущества *S. epidermidis*, так как продуцируемые им аутоиндукторы блокируют токсинобразование у большинства штаммов *S. aureus*, в то время как вещества, продуцируемые *S. aureus*, не препятствуют пролиферации *S. epidermidis* [12]. Третье – четвертое место среди ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций занимают энтерококки, прежде всего, *Enterococcus faecalis* (80-90% энтерококковых инфекций) и *Enterococcus faecium* [1, 2]. Этому способствует их высокая способность к колонизации слизистых оболочек и образованию биопленок, природная приобретенная резистентность к АМП, включая ванкомици, а также устойчивость во внешней среде [1, 2]. Энтерококки могут вызывать широкий спектр нозокомиальных ГСИ, в том числе катетер-ассоциированные инфекции.

В связи с вышеизложенным актуальной представляется оценка структуры возбудителей ГСИ и их антибиотикорезистентности на локальном уровне, то есть выделенных в отдельном стационаре за определенный период времени, что и было целью нашего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2015 г. в многопрофильном стационаре г. Санкт-Петербурга при обследовании больных с ГСИ из различного материала, включая пробы из стерильных и нестерильных локусов с признаками инфекции и колонизации, были выделены 1507 штаммов различных микроорганизмов. В стационар (общее число коек около 1500) госпитализируют пациентов из различных районов Санкт-Петербурга, а также других городов, большинство из которых уже проходили лечение в других больницах. Поэтому риск инфицирования полирезистентными клонами микроорганизмов из лечебных учреждений других городов и, возможно, стран, в многопрофильном стационаре особенно высок [13]. Идентификацию этиологически значимых микроорганизмов осуществляли фенотипически и по последовательности первых 500 пар нуклеотидов гена 16SPHK [14]. Определение чувствительности чистых культур ведущих видов выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили методом

серийных разведений в агаре Мюллер-Хинтон с диапазоном концентраций от 0,06 мкг/мл до 128 мкг/л [12]. Были использованы референтные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *S.aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212. Определение категорий чувствительности на основании полученных МИК выполняли в соответствии с рекомендациями European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2017) [15]. При отсутствии критериев оценки чувствительности к определенному АМП использовали критерии CLSI [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре исследуемого материала от больных с ГСИ в стационаре (Рис.1) преобладали пробы материала из респираторного тракта, составившие около трети от всех взятых проб (30,1%).

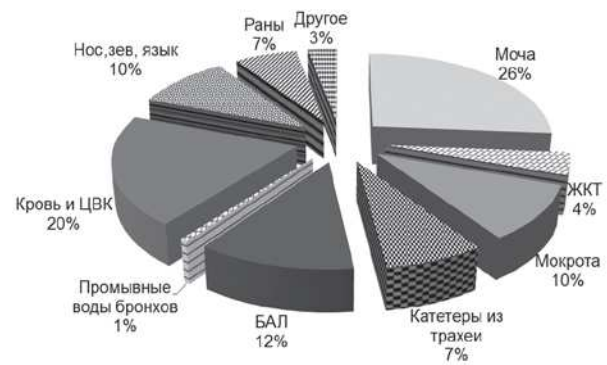


Рис. 1. Удельный вес исследованного клинического материала.

Чаще всего (11,9%) проводили исследование бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), мокроты (10,1%) и катетеров из трахеи (7,5%), реже – промывных вод бронхов (0,6%). Пробы мочи составили более четверти изучаемого материала (26,3%), исследование крови на стерильность и центральных венозных катетеров проводили в 20,2% случаев. Меньшей была доля (9,8%) отделяемого носа и ротовой полости (зева, носа, языка, слизистой оболочки рта), ран (6,5%) и желудочно-кишечного тракта (4,1%). Удельный вес прочих проб биоматериала (плевральная, перитониальная, синовиальная, перикардальная, спинномозговая жидкости, материал из влагалища, придаточных пазух носа и др.) был незначительным (3,0%). В микробном пейзаже возбудителей ГСИ в многопрофильном стационаре превалировали грамотрицательные микроорганизмы, которые составили более половины (62,4%) от общего числа всех выделенных штаммов (Рис. 2). Среди них преобладали энтеробактерии, удельный вес которых превышал две трети от числа грамотрицательных бактерий (67,8%) и был немногим меньше половины от общего числа выделенных культур (42,3%). Аналогичные данные получены в исследовании МАРАФОН [5], где было показано, что в РФ энтеробактерии остаются ведущими бактериальными возбудителями нозокомиальных инфекций, при этом отмечается неуклонное возрастание их удельного веса в структуре возбудителей внутрибольничных ГСИ по сравнению с предыдущими периодами (30,1% – в 2002-2004 гг., 34,5% – в 2006-2007 гг., 33,7% – в 2011-2012 гг., 43,1% – в 2013-14 гг.).

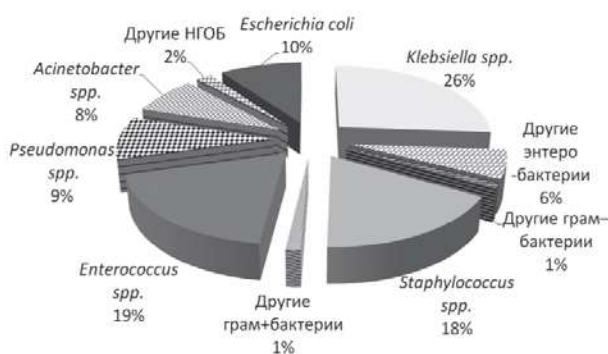


Рис.2. Структура возбудителей ГСИ в стационаре.

Энтеробактерии, выделенные в стационаре, включили представителей девяти родов – *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei* и *Pantoea agglomerans*. Наиболее распространенными оказались клебсиеллы, составившие более половины от числа энтеробактерий (61,7%) и более четверти (26,1%) от общего количества штаммов. Среди клебсиелл, безусловно, превалировала *Klebsiella pneumoniae* (Рис. 3), доля которой составила 96,9% от числа штаммов данного рода и четверть (25,3%) от общего количества изолятов. Удельный вес *E. coli* в стационаре был гораздо ниже (около четверти от числа энтеробактерий – 23,7% и 10,0% – от общего количества выделенных культур).

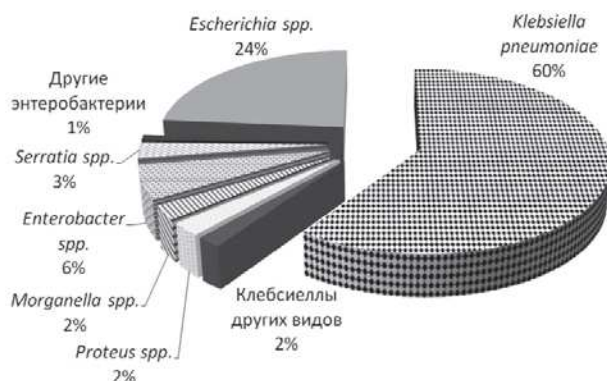


Рис.3. Структура энтеробактерий – возбудителей ГСИ в стационаре.

В исследовании МАРАФОН [5] в стационарах РФ также преобладали эти два вида микроорганизмов, так, 48,7% изолятов энтеробактерий относились к виду *K. pneumoniae* (20,6% – от общего числа возбудителей) и 26,2% – к *E. coli* (11,1% – от общего числа бактерий). Энтеробактерии остальных родов в настоящем исследовании выделялись редко и были представлены небольшим количеством штаммов. Так, доля энтеробактера составила 6,0%, сerratии – 2,8%, морганеллы – 2,5%, протея – 2,4% от числа энтеробактерий, удельный вес цитробактера, *Pantoea agglomerans* и гафнии был еще меньшим (по 0,3% каждый). Структура энтеробактерий – возбудителей ГСИ в стационаре представлена на рисунке 3.

Около трети от числа грамотрицательных (31,5%) и 19,6% от общего числа выделенных микроорганизмов составили неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ). Они были представлены в основном псевдомонадами (47,0% – от числа НГОБ и 9,2%

– от общего числа микробов), и ацинетобактером (41,6 и 8,2% соответственно). Среди псевдомонад, безусловно, преобладала *Pseudomonas aeruginosae* (96,4% – культур псевдомонад, 45,3% – штаммов НГОБ и 8,9% – от общего числа изолятов), среди ацинетобактера – *Acinetobacter baumannii* (87,8% – изолятов ацинетобактера, 36,5% – культур НГОБ и 7,2% – от общего числа выделенных штаммов). Значительно меньшей оказалась доля *Stenotrophomonas maltophilia* (7,4% – от числа НГОБ и 1,5% – от общего количества микроорганизмов), остальные роды (*Achromobacter xylosoxidans*, *Chryseobacterium* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Burkholderia cepacia*, *Moraxella catarrhalis*) были представлены единичными штаммами. В рамках исследования МАРАФОН [3] в 2013-14 гг. в стационарах РФ доля *P. aeruginosae* была больше, чем в данном многопрофильном стационаре, и составила в 2013-2014 гг. 19,0%. В аналогичных исследованиях прошлых лет показаны колебания удельного веса *P. aeruginosae* в структуре возбудителей внутрибольничных ГСИ (23,0% – в 2002-2004 гг., 26,3% – в 2006-2007 гг. и 20,2% – в 2011-2012 гг.) с некоторой тенденцией к снижению удельного веса этого возбудителя. *A. baumannii* в том же исследовании [4] по распространенности среди возбудителей нозокомиальных инфекций занимал третье место (13,7%).

Находки других грамотрицательных бактерий в стационаре были крайне редки. Так, *Haemophilus* spp. выявляли в исследуемом материале всего в 0,4% от общего количества выделенных культур или 0,6% – от числа грамотрицательных бактерий.

Удельный вес грамположительных бактерий составил более трети от числа выделенных культур (37,6%). Подавляющее большинство таких штаммов было представлено грамположительными кокками (99,1%), 4 изолята (0,7%) являлись представителями *Corynebacterium* spp. и одна культура (0,2%) – *Gardnerella vaginalis*. Наиболее распространенными грамположительными кокками в стационаре были энтерококки, составившие почти половину от всех грамположительных бактерий (49,9%) и 18,8% – от общего числа выделенных изолятов. Удельный вес *Enterococcus faecalis* в 2 раза превышал таковой *E. faecium* (32,9% и 16,7% – от числа грамположительных кокков и 12,3% и 6,2% – от общего числа культур), остальные виды энтерококков были представлены единичными штаммами. Немного ниже была доля стафилококков: 46,6% – от числа грамположительных бактерий и 17,5% – от общего числа культур. Стафилококки были представлены шестью видами, среди которых превалировали *Staphylococcus aureus* (21,0% – от числа грамположительных кокков и 7,8% – от общего количества изолятов) и *S. epidermidis* (18,3% – от числа грамположительных кокков и 6,8% – от общего количества штаммов). Реже обнаруживали *S. hominis* (3,7% – от количества грамположительных кокков) и *Staphylococcus haemolyticus* (3,6%), *Staphylococcus simulans* и *Staphylococcus warneri* были представлены единичными штаммами (по 0,2% грамположительных кокков). В исследовании МАРАФОН [9] доля *S. aureus* среди возбудителей внутрибольничных инфекций составила 11,0% со снижением его удельного веса в полтора раза по сравнению с 2011-12 гг. (16,7%).

Находки стрептококков в стационаре были редкими, выделены единичные культуры 5 видов (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus*

salivarius, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*), все вместе они составили всего 2,0% от числа грамположительных кокков и 0,7% – от общего количества изолятов.

В целом в структуре возбудителей ГСИ в стационаре преобладали штаммы грамотрицательных и грамположительных микробов восьми видов (Рис. 4), их совместный удельный вес превышал три четверти от числа выделенных культур (84,5%).

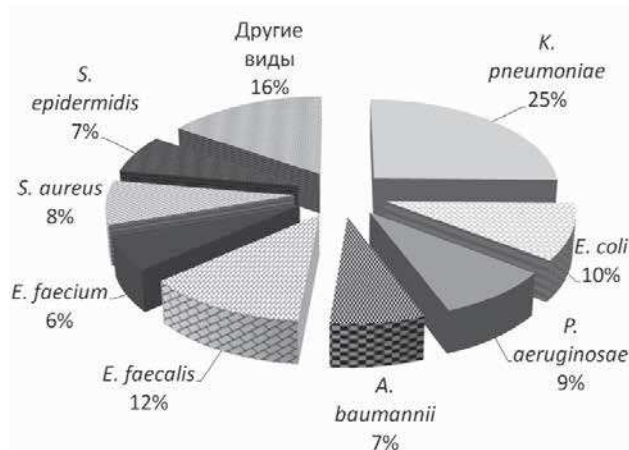


Рис. 4. Ведущие виды возбудителей ГСИ в стационаре.

Среди них, безусловно, превалировала *К. pneumoniae*, составившая более четверти всех выделенных изолятов (25,3%). Штаммы второго, наиболее распространенного, вида *E. faecalis* выявляли в два раза реже (12,3%), почти в три раза меньше был удельный вес *E. coli* (10,0%). В целом удельный вес трех видов ведущих возбудителей составил почти половину от общего числа штаммов (47,6%). На долю *P. aeruginosae* приходилось 8,9%, *S. aureus* – 7,8%, *S. epidermidis* – 6,8%; удельный вес *A. baumannii* был 7,2% и *E. faecium* – 6,2%, изолятов остальных видов – незначительным и не превышал 2% для каждого.

Таким образом, ведущим грамотрицательным микроорганизмом в стационаре оказалась *К. pneumoniae*, ведущим грамположительным – *E. faecalis*. В исследовании МАРАФОН в стационарах России соотношение ведущих видов возбудителей внутрибольничных инфекций отличалось от выявленного в данном многопрофильном стационаре. В целом по России ведущим видом также являлась *К. pneumoniae* (20,6%), на втором и третьем месте находились представители НГОБ – *P. aeruginosae* (19,0%) и *A. baumannii* (13,7%), при этом удельный вес указанных трех видов возбудителей составил в совокупности более половины выделенных штаммов (53,3%).

У наиболее распространенных в стационаре восьми видов возбудителей ГСИ методом серийных разведений была определена чувствительность к антимикробным препаратам. Установлено, что большинство из 1269 изученных штаммов были устойчивы хотя бы к одному АМП (87,7%). Удельный вес таких культур среди ведущих видов возбудителей ГСИ представлен на рисунке 5.

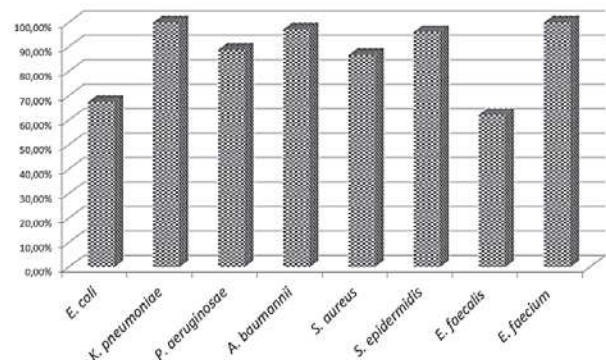


Рис.5. Удельный вес устойчивых к АМП штаммов среди ведущих видов возбудителей ГСИ.

Отмечено, что наиболее значимыми возбудителями внутрибольничных инфекций являются энтеробактерии с преобладанием изолятов *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* [5, 17, 18]. У энтеробактерий определяли чувствительность к пятнадцати АМП – ампициллину (Ap), цефотаксиму (Cft), цефепиму (Cpm), цефтазидиму (Czd), цефтриаксону (Cta), комбинациям амоксициллин / клавуланат (Am/cl), пиперациллин / тазобактам (Pi/tz), ципрофлоксацину (Cip), моксифлоксацину (Mox), имипенему (Im), меропенему (Mer), эртапенему (Ert), гентамицину (Gm), амикацину (Ak) и фосфомицину (Fm). Все изученные штаммы *К. pneumoniae* оказались устойчивыми к ампициллину (Рис. 6), что можно объяснить их способностью к продукции хромосомной бета-лактамазы класса А.

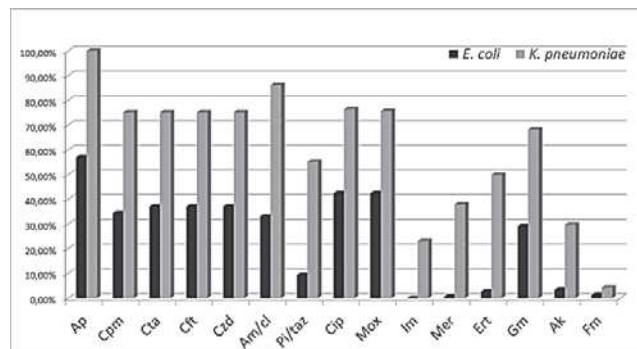


Рис.6. Устойчивость энтеробактерий к отдельным АМП.

Чаще всего обнаруживали культуры, устойчивые к амоксициллину / клавуланату (86,1%), фторхинолонам (к ципрофлоксацину – 76,4%, к моксифлоксацину – 75,6%), цефалоспорином III и IV поколения (по 75,1%), Реже выявляли изоляты, резистентные к гентамицину (68,2%), комбинации пиперациллин/тазобактам (55,1%). Удельный вес штаммов, нечувствительных к карбапенемам, был довольно высок. Половина выделенных культур клебсиелл была нечувствительна к эртапенему (49,9%), более трети – к меропенему (37,8%), 23,1% – к имипенему, в то время как еще в 2011-12 г. удельный вес таких культур в стационаре был незначительным [17]. Это является плохим прогностическим признаком в отношении эффективности препаратов данной группы при лечении ГСИ, вызываемыми клебсиеллами. Относительную активность в отношении клебсиелл сохранял амикацин (29,7% устойчивых культур). Наиболее активным в отношении клебсиелл из изученных АМП оказался фосфомицин, чувствительность к которому проявляли 95,8% штаммов.

Большая часть изученных культур *E. coli* (67,5%) оказались устойчивы хотя бы к одному антибактериальному препарату. Среди эшерихий преобладали культуры, устойчивые к ампициллину (57,0%), цiproфлоксацину и моксифлоксацину (по 42,4%), что делает применение этих препаратов в виде монотерапии инфекций, вызванных эшерихиями, нецелесообразным. Более трети штаммов проявили устойчивость к цефалоспорином III (по 37,1%) и IV (34,4%) поколения, 33,1% – к амоксициллину / клавуланату. Почти треть выделенных культур оказалась устойчива к гентамицину (29,1%), амикацин был гораздо активнее в отношении эшерихий (всего 3,3% резистентных штаммов). Для кишечной палочки характерной осталась чувствительность к фосфомицину, к которому были выявлены только две устойчивые культуры (1,3%). Несмотря на полувекковое использование этого антибиотика, резистентность *E.coli* к нему со временем меняется очень незначительно, и во всем мире обычно не превышает 5%, что, возможно, связано с особенностями механизма его действия, препятствующими развитию к нему устойчивости [19]. У фосфомицина имеются и другие достоинства – отсутствие перекрестной устойчивости с другими антимикробными препаратами, редкую плазмидную передачу генов резистентности (менее 2%), а также доказанное предупреждение адгезии возбудителя к эпителию мочевыводящих путей, что делает фосфомицин по-прежнему актуальным для терапии инфекций, особенно мочевыводящих путей [19].

Наиболее активными среди изученных препаратов в отношении эшерихий оказались карбапенемы. Устойчивость к ним *E. coli* в проведенном нами исследовании была невысока. Так, только четыре штамма были нечувствительными к эртапенему (2,6%), только один – к меропенему (0,7%), культур, устойчивых к имипенему, не отмечали.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) АМП для энтеробактерий варьировали в широких интервалах от 0,06 до ≥ 128 мг/л. МИК₅₀ и МИК₉₀ изученных АМП для штаммов клебсиелл и эшерихий представлены в таблице 1.

Таблица 1

МИК антимикробных препаратов для изолятов энтеробактерий

Антибиотик	МИК для изолятов <i>K. pneumoniae</i> (мг/л)		МИК для изолятов <i>E.coli</i> (мг/л)	
	МИК ₅₀	МИК ₉₀	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Ампициллин	≥ 128	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Амоксициллин/клавуланат	128	≥ 128	4	≥ 128
Пиперациллин/тазобактам	64	≥ 128	2	8
Цефепим	64	≥ 128	0,5	≥ 128
Цефотаксим	≥ 128	≥ 128	1	≥ 128
Цефтазидим	≥ 128	≥ 128	1	≥ 128
Цефтриаксон	≥ 128	≥ 128	1	≥ 128
Цiproфлоксацин	64	≥ 128	0,25	≥ 128
Моксифлоксацин	64	≥ 128	0,25	≥ 128
Имипенем	0,25	8	0,125	0,25
Меропенем	0,5	16	0,06	0,125
Эртапенем	0,5	32	0,06	0,06
Гентамицин	32	≥ 128	1	≥ 128
Амикацин	4	≥ 128	2	8
Фосфомицин	8	16	1	8

Не менее актуальными возбудителями госпитальных инфекций в России являются НГОБ, прежде всего *P. aeruginosa*, доля которой среди возбудителей нозокомиальных инфекций в исследовании МАРАФОН

составила 19,0%, и *A. baumannii* (13,7%). Чувствительность НГОБ определяли к двенадцати АМП – цефепиму (Cpm), цефтазидиму (Czd), комбинациям тикарциллин / клавуланат (Ti/cl), пиперациллин / тазобактам (Pi/tz), цiproфлоксацину (Cip), имипенему (Im), меропенему (Mer), дорипенему (Dor), гентамицину (Gm), амикацину (Ak), полимиксину В (Pol) и полимиксину Е (колистин) (Col). Среди микроорганизмов данного вида в последнее время широко распространены культуры, продуцирующие металло-бета-лактамазы, которые способны расщеплять все бета-лактамы, включая карбапенемы, за исключением азтреонама, что и привело к глобальному росту устойчивости к этим препаратам. Для продуцентов металло-бета-лактамаз характерна также ассоциированная устойчивость к препаратам с другими механизмами действия, в том числе к аминогликозидам и фторхинолонам. В проведенном нами исследовании большинство культур *P. aeruginosa* (88,8%) оказались устойчивыми хотя бы к одному антибиотику. Был выявлен высокий удельный вес нечувствительных к большинству изученных АМП штаммов (Рис.7) – цiproфлоксацину и комбинации тикарциллин / клавуланат (по 83,6%), карбапенемам (меропенему – 82,1%, в том числе 19,4% – умеренно устойчивых, дорипенему – 81,3%, в том числе – 11,2% с умеренной устойчивостью, имипенему – 80,6%, в том числе – 14,2% умеренно устойчивых), гентамицину (77,6%), пиперациллин / тазобактаму (75,4%), антисинегнойным цефалоспорином цефтазидиму (75,4%) и цефепиму (74,6%), амикацину (59,7%).

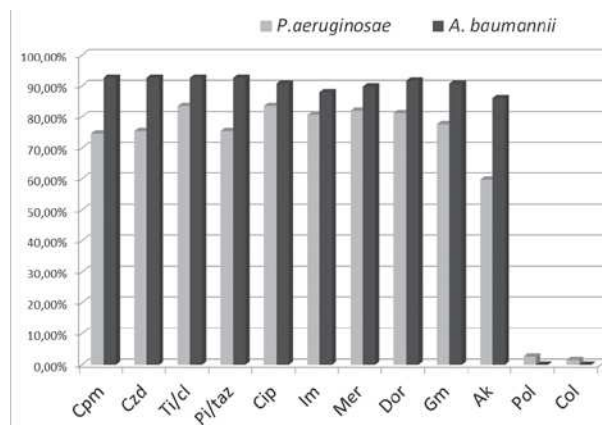


Рис. 7. Устойчивость НГОБ к отдельным АМП.

Устойчивость *P. aeruginosa* к карбапенемам в стационаре была выше, чем в исследовании МАРАФОН. В то же время, как и в этом исследовании, наибольшую активность в отношении штаммов этого вида в стационаре сохраняли колистин и полимиксин В, доля изолятов, устойчивых к ним, составила 3,0% и 1,5% соответственно.

В исследовании МАРАФОН было выявлено только 2,6% культур, устойчивых к колистину, все изученные штаммы оказались чувствительными к полимиксину В. Полимиксины являются давно известными антибиотиками, выделенными в конце 1940-х гг., которые, по сравнению с препаратами других групп, отличаются несколько меньшей эффективностью и большей токсичностью, наиболее часто вызывая нарушение функции почек [20]. Однако в настоящее время они остаются единственной группой препаратов, эффективных в отношении полирезистентных штаммов НГОБ, устой-

чивых к антибиотикам всех других классов. Так, распространенность устойчивости к полимиксиам среди нозокомиальных штаммов *P. aeruginosae* не превышает 5% [3].

Подавляющее большинство изолятов *A. baumannii* (97,2%) оказались резистентны хотя бы к одному АМП. Были широко распространены штаммы, устойчивые к большинству изученных препаратов. Удельный вес культур, нечувствительных к карбапенемам, был очень высок: для меропенема он составил 89,8% (в том числе 8,3% – умеренно устойчивых), дорипенема – 91,7% (в том числе 10,2% – умеренно устойчивых), для имипенема – 89,8% (в том числе – 4,6% умеренно устойчивых). Рост устойчивости к карбапенемам связан с быстрым распространением в различных регионах РФ карбапенемазопродуцирующих штаммов *A. baumannii*, удельный вес которых вырос более чем в 20 раз в 2013-2014 гг. (более 64%) по сравнению с 2006-2007 гг. (менее 3%) [4]. В проведенном нами исследовании доля изолятов, устойчивых к комбинациям тикарциллина / клавуланат и пиперациллина / тазобактам, цефепиму и цефтазидиму, составила по 92,6%, гентамицину и ципрофлоксацину – по 90,7%, к амикацину – 86,1%. Также, как и в исследовании МАРАФОН [4], только полимиксин В и колистин были активны в отношении выделенных культур ацинетобактера, устойчивых к ним штаммов не обнаружили.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) АМП для НГОБ варьировали в широких интервалах от 0,5 до ≥ 128 мг/л. МИК₅₀ и МИК₉₀ изученных АМП для штаммов псевдомонад и ацинетобактера представлены в таблице 2.

Таблица 2

Антибиотик	МИК антимикробных препаратов для изолятов НГОБ			
	МИК для изолятов <i>P. aeruginosae</i> (мг/л)		МИК для изолятов <i>A. baumannii</i> (мг/л)	
	МИК ₅₀	МИК ₉₀	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Тикарциллин/клавуланат	≥ 128	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Пиперациллин/тазобактам	64	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Цефепим	16	64	≥ 128	≥ 128
Цефтазидим	64	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Ципрофлоксацин	64	≥ 128	64	≥ 128
Имипенем	16	≥ 128	32	64
Меропенем	16	64	32	≥ 128
Дорипенем	4	32	16	64
Гентамицин	16	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Амикацин	32	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Полимиксин В	0,5	2	0,25	1
Колистин	0,5	2	0,25	1

Вторым по распространенности среди возбудителей ГСИ видом микроорганизмов в стационаре был *E. faecalis*. Энтерококки еще с 70-80 годов прошлого века стали одной из главных причин внутрибольничных инфекций [1, 2]. Их характерной особенностью является чувствительность только к ограниченной группе АМП, при этом ни один из используемых в клинике препаратов не оказывает на них бактерицидного действия. Кроме этого, даже к тем АМП, к которым энтерококки являются природно-чувствительными, например к ванкомицину, у них быстро формируются и распространяются устойчивые штаммы. Для энтерококков характерна природная устойчивость низкого уровня к аминогликозидам вследствие отсутствия механизмов активного их транспорта в микробные клетки, позволявшая использовать для лечения вызываемых энтерококками инфекций комбинацию аминогликозидов и бета-лактамовых антибиотиков. При этом

в результате разрушения клеточной стенки в клетки поступало достаточное количество аминогликозидов для проявления их бактерицидного действия [21]. При приобретении энтерококками плазмид, кодирующих ферменты, модифицирующие аминогликозиды, они становятся резистентными к гораздо большим концентрациям этих препаратов (устойчивость высокого уровня), в связи с чем использование указанной комбинации оказывается неэффективным [21]. Резистентность к аминопенициллинам редко встречается среди культур *E. faecalis*, поэтому препараты этой группы, например ампициллин, могут быть использованы для лечения инфекций, вызванных этим микроорганизмом. Напротив, среди *E. faecium* в последние годы значительно увеличился удельный вес культур, устойчивых к аминопенициллинам. Так как достигаемые концентрации фторхинолонов в крови не являются эффективными в отношении энтерококков, применение этих препаратов имеет значение только при энтерококковых инфекциях мочевыводящих путей, где достижения этих концентраций возможно [21].

У энтерококков определяли чувствительность к семи АМП – ампициллину (Ap), доксициклину (Dx), ванкомицину (Van), линезолиду (Lin), ципрофлоксацину (Cip), гентамицину (Gm) и фосфомицину (Fm).

В проведенном нами исследовании почти две трети *E. faecalis* (62,2%) оказались устойчивы хотя бы к одному АМП. Чаще выявляли культуры, устойчивые к ципрофлоксацину (45,9%), гентамицину (38,4%) и доксициклину (37,8%). Почти все культуры (98,9%) сохраняли чувствительность к ампициллину, не было обнаружено штаммов, устойчивых к фосфомицину, ванкомицину и линезолиду (Рис.8).

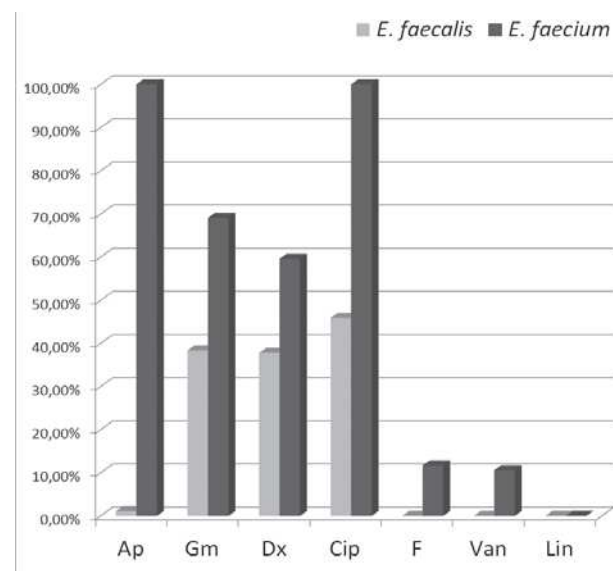


Рис.8. Устойчивость энтерококков к отдельным АМП.

Устойчивость *E. faecium* к АМП была более выраженной. В отличие от *E. faecalis*, все выделенные штаммы *E. faecium* оказались резистентными к ампициллину, что связано с более высокой продукцией этим видом энтерококков ПСБ5 по сравнению с другими [1]. Среди *E. faecium* не было выявлено также культур, чувствительных к ципрофлоксацину. Большая часть штаммов (69,1%) была устойчива к гентамицину, при этом МИК к этому препарату составляла у 50,2% штаммов ≥ 128 , что является показателем отсутствия при

лечении синергии аминогликозидов и гликопептидов. Более половины культур были резистентны к доксициклину (59,6%). Удельный вес изолятов, резистентных к фосфомицину и ванкомицину, был невысок (11,7% и 10,6% соответственно). Наибольшую активность в отношении *E. faecium* проявлял линезолид, к которому были чувствительны все изученные штаммы.

Отметим, что со времени появления в 1986 г. первого штамма *E. faecium*, устойчивого к ванкомицину, распространение ванкомицинрезистентных штаммов произошло повсеместно, при этом устойчивость к ванкомицину гораздо чаще встречается среди *E. faecium*, чем среди *E. faecalis*. В Европе в среднем произошло крайне незначительное увеличение удельного веса таких культур среди *E. faecium* с 2012 до 2015 г. (с 8,1% до 8,3%), однако по отдельным странам установлен большой разброс доли таких изолятов от полного их отсутствия (0%) до почти половины от числа выделенных штаммов (45,8%) в Ирландии [22]. В целом значительное увеличение ванкомицинрезистентности среди *E. faecium* наблюдаются в 12 странах Европы из 26. При сравнении удельного веса ванкомицинрезистентных *E. faecium*, выявленных в проведенном нами исследовании, с данными по странам Европы выявили, что доля таких культур в многопрофильном стационаре (10,6%) соответствовала таковой в Германии (10,2%) и Италии (11,2%) [22].

У стафилококков определяли чувствительность к пятнадцати АМП: бензилпенициллину (Pn), оксациллину (Ox), тетрациклину (Tc), тигециклину (Tig), кларитромицину (Clr), клиндамицину (Clm), сульфаметоксазол / триметоприм (Ctri), ванкомицину (Van), линезолиду (Lin), ципрофлоксацину (Cip), моксифлоксацину (Mox), гентамицину (Gm), амикацину (Ak), рифампицину (Rif), фузидину (Fu). Большая часть культур *S. aureus* (86,7%) оказалась устойчива хотя бы к одному препарату. Чаще отмечали штаммы, устойчивые к пенициллину (83,2%). Доля метициллинрезистентных штаммов была небольшой и составила 11,5%. Отметим, что доля MRSA среди стафилококков за несколько лет снизилась в стационаре более чем в 3 раза по сравнению с 2011-2012 гг. (36,0%), с чем, вероятно, связан низкий удельный вес культур, резистентных и к другим препаратам [12]. Так, к ципрофлоксацину были резистентны всего 12,4% культур *S. aureus*, к гентамицину – 8,8%, к моксифлоксацину – 10,3% и клиндамицину – 8,0%, кларитромицину – 3,5% (Рис. 9).

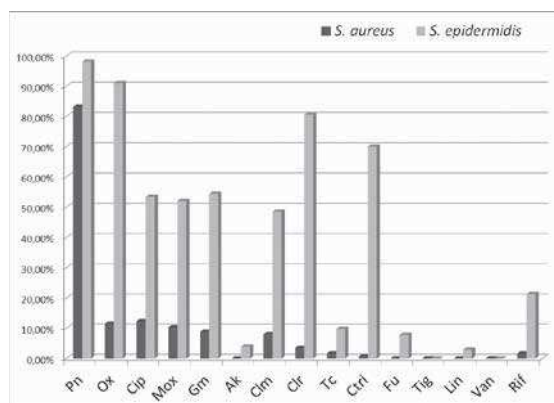


Рис. 9. Устойчивость стафилококков к отдельным АМП.

Наибольшую активность в отношении золотистого стафилококка проявляли тетрациклин и рифампицин

(по 1,7% устойчивых изолятов) и сульфаметоксазол / триметоприм (0,7%). Не было выявлено штаммов, устойчивых к амикацину, фузидину, тигециклину, линезолиду и ванкомицину. Аналогичные данные получены в исследовании МАРАФОН [9]. Динамика удельного веса MRSA в стационарах России показывает, что доля последнего постепенно увеличивалась с 33,4% (2001-2002 гг.) до 54,4% (2006-2008 гг.) и 66,9% (2011-2012 гг.), а затем резко снизилась до 24,9% (2013-2014 гг.). В Европе удельный вес MRSA в целом снизился гораздо меньше – с 18,8% (2012 г.) до 16,8% (2015 г.) и составлял в 2015 г. от 0 до 57,2% в разных странах, при этом его доля была меньше в северных и больше – в южных и юго-восточных странах [22]. В то же время в Европе увеличивается удельный вес MRSA, вызывающих внебольничные заболевания, что служит показателем проникновения и распространения госпитальных клонов во внебольничных условиях [22]. В исследовании МАРАФОН так же, как в проведенном нами исследовании, не обнаружено культур *S. aureus*, устойчивых к фузидину, тигециклину, линезолиду и ванкомицину [9]. В Европе уже регистрируют штаммы *S. aureus*, устойчивые к линезолиду, при этом пока их удельный вес крайне незначителен (0,1%).

Устойчивость к АМП у *S. epidermidis* была гораздо более выраженной. Подавляющая их часть была устойчива хотя бы к одному антибиотику (96,1%). Удельный вес культур, устойчивых к отдельным АМП, был значительно выше, чем среди *S. aureus*. Почти все культуры были устойчивы к пенициллину (98,1%), большинство штаммов являлись метициллинрезистентными (91,3%). Чаще встречали изоляты, устойчивые к кларитромицину (80,6%), сульфаметоксазолу / триметоприму (70,0%), гентамицину (54,4%), фторхинолонам (ципрофлоксацину – 53,4%, моксифлоксацину – 52,1%), клиндамицину (48,5%) и рифампицину (21,3%). Значительно меньшая часть штаммов оказалась устойчивой к тетрациклину (9,7%) и фузидину (7,8%). Наибольшую активность в отношении *S. epidermidis* проявляли амикацин (3,9% устойчивых штаммов), линезолид (2,9%), а также тигециклин и ванкомицин, к которым были чувствительны все изученные культуры.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) АМП для стафилококков варьировали в широких интервалах от 0,06 до ≥ 128 мг/л. МИК₅₀ и МИК₉₀ изученных АМП для штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* представлены в таблице 3.

Таблица 3

МИК антимикробных препаратов для изолятов стафилококков

Антибиотик	МИК для изолятов <i>S. aureus</i> (мг/л)		МИК для изолятов <i>S. epidermidis</i> (мг/л)	
	МИК ₅₀	МИК ₉₀	МИК ₅₀	МИК ₉₀
Бензилпенициллин	≥ 128	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Оксациллин	0,5	≥ 128	≥ 128	≥ 128
Доксициклин	0,25	1	2	8
Тигециклин	0,125	0,5	0,125	0,5
Кларитромицин	0,125	0,5	64	≥ 128
Клиндамицин	0,06	0,25	32	≥ 128
Сульфаметоксазол / триметоприм	0,06	0,25	1	≥ 128
Ванкомицин	1	1	1	1
Линезолид	1	2	1	2
Моксифлоксацин	0,25	1	0,25	≥ 128
Ципрофлоксацин	0,5	16	16	≥ 128
Рифампицин	0,25	0,5	0,06	64
Фузидин	0,06	0,25	0,125	0,5
Гентамицин	0,5	1	64	≥ 128
Амикацин	1	2	1	8

Таким образом, основной проблемой для данного многопрофильного стационара являются грамотрицательные возбудители гнойно-септических инфекций, прежде всего, клебсиеллы и НГОБ, устойчивые к большинству АМП разных групп, а также некоторые грамположительные кокки, преимущественно энтерококки. Полученные данные соответствуют общемировым тенденциям распространения антибиотикорезистентности среди микроорганизмов, что признается ВОЗ глобальной проблемой, решение которой следует относить к приоритетным задачам национальных систем здравоохранения [23].

ВЫВОДЫ

1. Структура возбудителей ГСИ в многопрофильном стационаре была крайне разнообразной с превалированием грамотрицательных микроорганизмов (62,4%), преимущественно энтеробактерий (42,5%). Наиболее распространенными возбудителями ГСИ различной локализации в стационаре оказались *K. pneumoniae* (25,3%) и *E. faecalis* (12,3%). Удельный вес культур восьми видов возбудителей составил более трех четвертей выделенных бактерий (84,5%).

2. Среди штаммов восьми ведущих видов возбудителей ГСИ в стационаре превалировали антибиотикорезистентные культуры (87,7%). Наибольшую активность в отношении грамположительных кокков

проявляли ванкомицин (10,6% устойчивых культур *E. faecium*) и линезолид (2,9% резистентных штаммов *S. epidermidis*), в отношении стафилококков – еще и амикацин (3,9% устойчивых изолятов *S. epidermidis*) и тигециклин, к которому не было выявлено резистентных культур. Грамотрицательные бактерии, за исключением *E. coli*, характеризовались высоким уровнем устойчивости к большинству антимикробных препаратов. В отношении НГОБ проявляли высокую активность только полимиксин и колистин, в отношении клебсиелл и эшерихий – фосфомицин, в отношении *E. coli* – еще и амикацин (3,3% устойчивых штаммов) и карбапенемы, особенно имипенем.

3. Распространение в стационаре штаммов микроорганизмов разных видов, устойчивых к карбапенемам, является опасным прогностическим признаком, свидетельствующим о значительном снижении эффективности препаратов этой группы в отношении заболеваний, вызываемых энтеробактериями.

4. Вариабельность устойчивости возбудителей внутрибольничных инфекций к антимикробным препаратам на локальном уровне и появление опасных для распространения генов резистентности штаммов подтверждает необходимость проведения постоянного мониторинга антибиотикорезистентности микроорганизмов с анализом механизмов их устойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика* / под ред. А. С. Лабинской, Н.Н. Костюковой. М.: изд. Бином, 2013: 752 с. [Rukovodstvo po medicinskoj mikrobiologii. Opporunisticheskie infekcii: vozбудители i ehtiologicheskaya diagnostika / pod red. A. S. Labinskoj, N.N. Kostyukovoj. M.: izd. Binom, 2013:752 s. (In Russ).]
2. *Медицинская микробиология* / под ред. В. Б. Сбойчакова. СПб.: ВМедА, 2017: 448 с. [Medicinskaya mikrobiologiya / pod red. V. B. Sbojchakova. SPb.: VMedA, 2017: 448 s. (In Russ)].
3. *Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Pseudomonas aeruginosae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013-2014 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017; 19 (1): 37-41. [Eydelshteyn M.V., Suhorukova M.V., Skleenova E.Yu., i dr. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyih shtammov Pseudomonas aeruginosae v stacionarah Rossii: rezultaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON» v 2013-2014 gg. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2017; 19 (1): 37-41 (In Russ)].*
4. *Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Acinetobacter baumannii в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013-2014 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017; 19 (1): 42-48. [Suhorukova M.V., Eydelshteyn M.V., Skleenova E.Yu. i dr. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyih shtammov Acinetobacter baumannii v stacionarah Rossii: rezultaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON» v 2013-2014 gg. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2017; 19 (1): 42-48. (In Russ)].*
5. *Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013-2014 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017; 19 (1): 49-56. [Suhorukova M.V., Eydelshteyn M.V., Skleenova E.Yu. i dr. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyih shtammov Enterobacteriaceae v stacionarah Rossii: rezultaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON» v 2013-2014 gg. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2017; 19 (1): 49-56. (In Russ)].*
6. *Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Косякова К.Г. и др. Чувствительность к антибиотикам энтеробактерий, выделенных в стационарах двух районов Санкт-Петербурга. Проблемы медицинской микологии. 2017; 19 (1): С.34-42. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Kosyakova K.G. i dr. Chuvstvitelnost k antibiotikam enterobakterij, vydelennyih v stacionarah dvuh rayonov Sankt-Peterburga. Problemy meditsinskoj mikologii. 2017; 19 (1): S.34-42. (In Russ)].*
7. *Кoftырева Л.А., Егорова С.А., Кожухова Е.А. и др. Резистентность энтеробактерий к антимикробным препаратам выбора при лечении острых кишечных инфекций. Казанский медицинский журнал. 2009; 90 (5): 699-704. [Koftyireva L.A., Egorova S.A., Kozhuhova E.A. i dr. Rezistentnost enterobakterij k antimikrobnym preparatam vyibora pri lechenii ostryh kishhechnyh infektsij. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal. 2009; 90 (5): 699-704. (In Russ)].*
8. *Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Шляхто Е.В. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами K. pneumoniae в Санкт-Петербурге. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016; 18 (3): 196-199. [Barantsevich E.P., Barantsevich N.E., Shlyaheto E.V. Produktsiya karbapenemaz nozokomialnyimi shtammami K. pneumoniae v Sankt-Peterburge. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2016; 18 (3): 196-199 (In Russ)].*
9. *Романов А.В., Дехнич А.В., Сухорукова М.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Staphylococcus*

- aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013-2014 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19 (1): 57-62. [Romanov A.V., Dehnichev A.V., Suhorukova M.V. i dr. Antibiotikorezistentnost nozokomialnykh shtammov Staphylococcus aureus v stacionarah Rossii: rezultaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON» v 2013-2014 gg. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya hi-mioterapiya. 2017;19 (1): 57-62 (In Russ)].
10. Степанов А.С., Васильева Н.В. Оценка распространенности механизмов устойчивости *Staphylococcus spp.* среди изолятов, выделенных из клинического материала. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (3): 45-48. [Stepanov A.S., Vasileva N.V. Otsenka rasprostranennosti mehanizmov ustoychivosti Staphylococcus spp. sredi izolyatov, vyidelennykh iz klinicheskogo materiala. Problemy meditsinskoj mikologii. 2016; 18 (3): 45-48. (In Russ)].
 11. Козлова Н.С., Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Гоик В.Г. Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных из крови. Научное обозрение. 2014; 3: 184-190. [Kozlova N.S., Barantsevich E.P., Barantsevich N.E., Goik V.G. Antibiotikorezistentnost stafilocokkov, vyidelennykh iz krovi. Nauchnoe obozrenie. 2014; 3: 184-190 (In Russ)].
 12. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Иванова Л. В. и др. Чувствительность к антибактериальным препаратам стафилококков, циркулирующих в многопрофильном стационаре. Проблемы медицинской микологии. 2015; 17 (4): 58-62. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E. Ivanova L. V. i dr. Chuvstvitelnost k antibakterialnyim preparatam stafilocokkov, tsirkuliruyuschih v mnogoprofilnom stacionare. Problemy meditsinskoj mikologii. 2015; 17 (4): 58-62. (In Russ)].
 13. Гончаров А.Е., Зуева Л.П., Колодзиева В.В. и др. Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Федеральные клинические рекомендации. М., 2014: 45 с. [Goncharov A.E., Zueva L.P., Kolodzhieva V.V. i soavt. Molekulyarno-geneticheskij monitoring v sisteme ehpidemiologicheskogo nadzora za infekciyami, svyazannymi s okazaniem medicinskoj pomoshchi. Federal'nye klinicheskie rekomendacii. M., 2014: 45 s.].
 14. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Иванова Л.В. и др. Антибиотикорезистентность энтеробактерий, выделенных из мочи пациентов многопрофильного стационара. Проблемы медицинской микологии. 2015; 17 (3): 22-26. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Ivanova L.V. i dr. Antibiotikorezistentnost enterobakteriy, vyidelennykh iz mochi patsientov mnogoprofilnogo stacionara. Problemy meditsinskoj mikologii. 2015; 17 (3): 22-26 (In Russ)].
 15. EUCAST-(2017) – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
 16. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second information supplement. CLSI document M100-S22. Wayne P.A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
 17. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Гоик В.Г., Баранцевич Е.П. Чувствительность к антимикробным препаратам энтеробактерий различного происхождения в многопрофильном стационаре. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (3): 30-35. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Goik V.G., Barantsevich E.P. Chuvstvitelnost k antimikrobnym preparatam enterobakteriy razlichnogo proishozhdeniya v mnogoprofilnom stacionare. Problemy meditsinskoj mikologii. 2016; 18 (3): 30-35 (In Russ)].
 18. Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Баранцевич Е.П. Чувствительность к антимикробным препаратам эшерихий, выделенных в многопрофильном стационаре. Журнал акушерства и женских болезней. 2016; 65 (4): 83-89. [Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Barantsevich E.P. Susceptibility to antibiotics in *escherichiae* isolated in a multidisciplinary medical centre. Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej. 2016; 65 (4): 83-89.]
 19. Козлов Р.С., Голуб А.В. Выбор антимикробных препаратов при неосложненных инфекциях мочевых путей: как принять сомоново решение? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014; 16 (1):18-25. [Kozlov R.S., Golub A.V. Vyibor antimikrobnih preparatov pri neoslozhnennykh infektsiyah mochevyih putey: kak prinyat solomonovo reshenie? Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2014; 16 (1):18-25. (In Russ)].
 20. Щетинин Е.В. Полимиксины – новый взгляд на известные антибиотики. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000; 2 (3): 68-73. [Schetinin E.V. Polimiksiny – novyy vzglyad na izvestnyie antibiotiki. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2000; 2 (3): 68-73. (In Russ)].
 21. Сидоренко С.В., Резван С.П., Грудинина С.А. и др. Результаты многоцентрового исследования антибиотикочувствительности энтерококков – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1176638&uri=index.html> [Sidorenko S.V., Rezvan S.P., Grudinina S.A., Krotova L.A., Sterhova G.V. Rezul'taty mnogotsentrovogo issledovaniya antibiotikochuvstvitelnosti ehnterokokkov – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1176638&uri=index.html>
 22. Antimicrobial resistance surveillance in Europe Annual report of European Antimicrobial resistance surveillance network (EARS-net), 2015. Stockholm: ECDC, 2017, 101 p.
 23. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2014: 232 p.

Поступила в редакцию журнала 21.02.2018

Рецензент: Кафтырева Л.А.



НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ БИОПЛЕНКООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ STAPHYLOCOCCUS SPP.

Степанов А.С. (аспирант кафедры)*, Богомолова К.А. (студент), Лакомова П. А. (студент), Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой)

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

© Коллектив авторов, 2018

Представлены результаты оценки вариабельности спектра гемолитической активности и пикового профиля масс-спектра 40 изолятов Staphylococcus spp. в зависимости от наличия или отсутствия биопленкообразования. Выявлена статистически достоверная взаимосвязь роста продукции гемолизина α и снижения продукции гемолизина δ Staphylococcus spp. при формировании биопленок. Статистически значимые различия в уровнях продукции пептидов с молекулярной массой 4302, 5302, 5525, 6680, 6886 Da позволяют дифференцировать культуры, выделенные из биопленок от контрольных культур, пассированных через простые питательные среды. Чувствительность и специфичность комбинированного метода для выявления биопленкообразования (культурального метода и MALDI-TOF масс-спектрометрии) составили 70,0 и 81,0% соответственно.

Ключевые слова: Staphylococcus spp., MALDI-TOF-масс-спектрометрия, биопленки, гемолизины, катетер-ассоциированные инфекции

NEW APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF BIOFILM- FORMING ACTIVITY OF STAPHYLOCOCCUS SPP.

Stepanov A.S. (postgraduate student), Bogomolova K.A. (student), Lakomova P.A. (student), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

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

© Collective of authors, 2018

There are the results of the hemolytic activity and the mass spectrum peak profile variability estimation of 40 isolates of Staphylococcus spp. accordance with the presence or absence of biofilm formation. A statistically significant correlation was found between the growth of hemolysin production α and the decrease in hemolysin production δ Staphylococcus spp. during biofilms formation. Statistically significant differences in the levels of production of peptides with a molecular weight of 4302, 5302, 5525, 6680, 6886 Da allow to differentiate cultures isolated from biofilms from control cultures passed through simple nutrient media. The sensitivity and specificity of the culture method and MALDI-TOF mass spectrometry combination for detection of biofilm formation were 70.0 and 81.0%, respectively.

Key words: Staphylococcus spp., MALDI-TOF- mass spectrometry, biofilms, hemolysins, catheter-associated infections

ВВЕДЕНИЕ

Биопленкообразование – важный этап колонизации абиотических имплантатов и развития катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК), характерное для *Staphylococcus* spp. [1]. С целью дифференциальной диагностики КАИК и сепсиса другой локализации, как правило, проводят удаление катетера и его микробиологическое исследование параллельно с посевом крови из периферических сосудов на гемокультуру. Тем не менее, исследование катетера ассоциировано с объективными трудностями: его удаление не всегда возможно в связи с тяжестью состояния больного [2], забор материала связан с высоким риском обсеменения комменсалами кожных покровов, а *Staphylococcus* spp. являются одними из главных представителей микробиоты кожных покровов. В рутинной практике дифференциация КАИК от контаминации основана на количественном определении уровня обсемененности катетера [3] или обнаружении биопленок в тонких срезах катетера с помощью люминесцентной или электронной микроскопии [4]. Применение этих методов требует удаления катетера, а также использования технических инструментов, которые зачастую недоступны в рядовой микробиологической лаборатории. Также количественный посев катетера требует увеличения числа операций посева, что увеличивает риск контаминации образца [5]. Необходимы альтернативные методы, позволяющие дифференцировать КАИК от сепсиса с другой локализацией без потребности удалять катетер.

Известно, что биопленкообразование у *Staphylococcus* spp. регулируется комплексом генетических элементов: agr (accessory gene regulator, добавочный ген-регулятор) [6], icaABCD (intercellular adhesin, межклеточный адгезин), pia (peptide intercellular adhesin, белковый межклеточный адгезин) [7]. Ген agr кодирует белок-регулятор, подавляющий экспрессию генов icaABCD и pia, что ингибирует биопленкообразование [8]. Также выявлено, что ген-регулятор agr имеет близкие рамки считывания с комплексом генов, ответственных за синтез низкомолекулярных гемолизинов *Staphylococcus* spp., в частности ген hld (синтез гемолизина δ), а в регуляцию работы генов вовлечены фактор Sigma(B) (фактор оксидативного стресса) и пептид SAR049 (функция до конца неизвестна) [9]. Данные пептиды принимают участие в регуляции синтеза клеточной стенки, а также ответственны за развитие неспецифической резистентности к антимикробным препаратам, действующим на клеточную стенку *Staphylococcus* spp. [9].

Гемолитическая активность *Staphylococcus* spp. обусловлена комплексом гемолизинов (α , β , γ и δ), которые имеют различное фенотипическое проявление при росте на питательных средах, содержащих эритроциты [10, 11]. Профиль продуцируемых гемолизинов различается в зависимости от условий, в которых находился микроорганизм, и отражает физиологическое состояние изолята в данный момент времени. Способ оценки профиля продуцируемых гемолизинов на сегодняшний день описан, но не внедрен в лабораторную практику.

MALDI-TOF масс-спектрометрия позволяет обнаруживать пики пептидов в диапазоне масс от 2 до 20 kDa при использовании протокола идентификации

* Контактное лицо: Степанов Александр Сергеевич, e-mail: Aleksandr.Stepanov@szgmu.ru

бактерий. Известно, что гемолизин δ , фактор Sigma(B) и пептид SAR049 имеют молекулярные массы 3005, 6888 и 5525 Da соответственно, поэтому могут быть обнаружены при масс-спектрометрии [12-14]. Также фактор Sigma(B) имеет дериват, который имеет молекулярную массу 6680 Da и может быть выявлен с помощью масс-спектрометрии.

Таким образом, выявление низкомолекулярных регуляторных пептидов может быть полезным для дифференциальной диагностики КАИК и сокращения числа ненужных извлечений катетеров, а также способно упростить лабораторную диагностику септических состояний, ускорить диагностику и уменьшить затраты на лечение пациентов [15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получали биопленки у 40 изолятов *Staphylococcus* spp. (20 – *S. aureus* и 20 – *S. epidermidis*) с помощью культивирования микроорганизмов в 1% сахарном бульоне с погруженным в него стерильным участком поливинилхлоридного катетера [16]. Наличие биопленок определяли с помощью люминесцентной микроскопии тонкого поперечного среза катетера, окрашенного аурамин-родамином. После инкубации в течение двух суток катетер извлекали, промывали в физиологическом растворе с использованием шейкера (3000 об/мин, 1 минута). Полученную взвесь клеток осаждали центрифугированием (6000 об/мин, 1 минута), производили высеивание на колумбийский агар с эритроцитами барана для оценки гемолитической активности. Параллельно проводили пассирование культур этих изолятов через простые питательные среды (мясо-пептонный агар) и определяли у них гемолитическую активность. Спектр гемолизин оценивали культуральным методом у свежих культур микроорганизмов, а также после образования биопленок. Фенотипическими проявлениями продукции гемолизина считали наличие полного гемолиза (гемолизин α), поверхностного гемолиза (гемолизин β), положительного «теста бабочки» (САМР) с контрольным штаммом *S. aureus* ATCC®25923 (гемолизин δ) ().

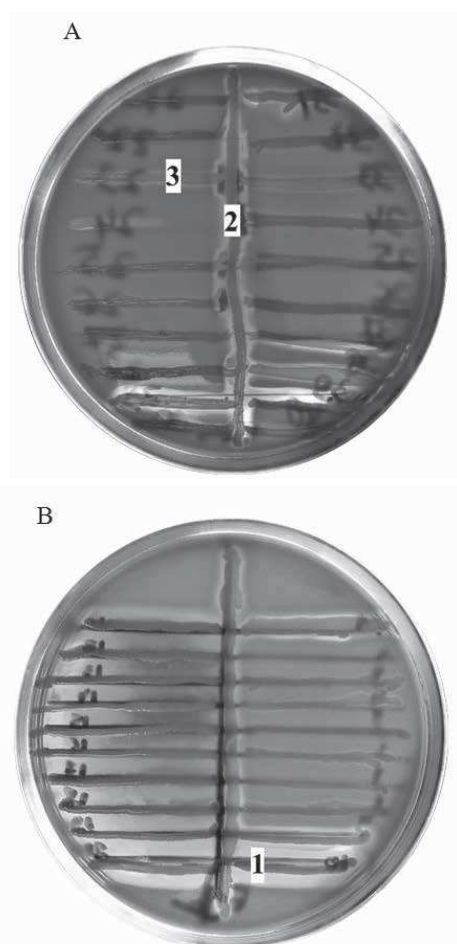


Рис. 1. Выявление гемолизин *Staphylococcus* spp. культуральным методом: А – результат тестирования контрольных культур; В – результат тестирования культур из биопленок. 1 – продуцент альфа-гемолизина, 2 – продуцент бета-гемолизина, 3 – продуцент дельта-гемолизина.

Оценку активности продукции гемолизин осуществляли полуколичественным методом (Таблица 1). Результаты записывали в числовом формате, сравнивали средние в полученных группах.

Таблица 1

Оценка активности продукции гемолизин <i>Staphylococcus</i> spp. в процессе эксперимента	
Результат оценки активности	Фенотипическое проявление
- (0)	Отсутствие гемолизина
+ (1)	Ширина зоны гемолиза равна диаметру колонии
++ (2)	Ширина зоны гемолиза выступает до 1/3 диаметра колоний
+++ (3)	Ширина зоны гемолиза от 2/3 до 1,5 диаметров колонии
++++ (4)	Ширина зоны гемолиза более чем в 2 раза превышает диаметр колонии

Проводили MALDI-TOF масс-спектрометрию свежих чистых культур, а также культур, полученных из биопленок, выращенных на мясо-пептонном агаре в течение 24 часов. Экстракцию белков выполняли на мишени с помощью 40% муравьиной кислоты (1,5 мкл). Мишень высушивали на воздухе, добавляли α -циано-4-гидроксикоричную кислоту и просушивали на воздухе. Масс-спектры собирали с использованием линейного протокола в режиме TOF с частотой лазера 20 Hz и оценкой в диапазоне масс от 2000 до 20000 Da. Вольтаж на ускорении составил 20 kV, вольтаж IS2

– 18,6 кV. Для каждого суммарного спектра собирали данные 200 отдельных спектров, собранных со всей площади мишени [17].

Использовали статистический пакет «MaldiQuantForeign» программы R.3.3.2 для извлечения значений интенсивности пиков масс-спектров. Осуществили перевод файлов *.mzXML в формат *.txt для дальнейшей статистической обработки [18]. Применяли протокол Savitzky-Golay для сглаживания, пики определяли с помощью статистически-зависимого нелинейного перекрестного алгоритма выявления пиков (Statistics-sensitive Non-linear Iterative Peak clipping algorithm, SNIP) [19], удаление линии основания масс-спектра не проводили. Шумы исключали методом «Friedman's Super Smoother», включенного в пакет R 3.3.2 «MaldiQuantForeign».

Статистический анализ осуществляли с помощью программы R 3.3.2. Различия в продукции гемолизина культурами *Staphylococcus* spp. оценили в различном функциональном состоянии методом Хи-квадрат. Проведена группировка изолятов по спектру гемолитической активности. Оценена чувствительность и специфичность дифференцировки по фенотипическим признакам культур микроорганизмов, выделенных непосредственно из биопленок, и культур, пассированных через неселективные питательные среды. Парное сравнение масс-спектров, полученных из культур микроорганизмов, выполняли в стадии биопленкообразования и после пассажа на простых питательных средах. Сравнивали масс-спектры и отбирали пики с наибольшими различиями в интенсивности между сравниваемыми группами. Выбранные пики включали в модель иерархического кластерного анализа. Формирование модели осуществляли с последовательным исключением пиков до получения наиболее простого и эффективного подхода к дифференцировке. Оценили чувствительность и специфичность кластеризации по выявленным различиям в масс-спектре для дифференцировки культур на биопленкообразующие и небипленкообразующие.

Применяли иерархический кластерный анализ методом Уорда с подсчетом Евклидова расстояния: относительную независимость деления на группы рассчитывали с помощью метода интенсивного использования ЭВМ (программный пакет «pvclust» программы R 3.3.2, количество повторов 1000, альфа более 0,95) [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди 40 исследованных изолятов *Staphylococcus* spp., пассированных через простые питательные среды, выявлено 13 изолятов, синтезирующих гемолизин α, 12 изолятов – продуцентов гемолизина β, 19 изолятов, синтезировавших гемолизин δ. После образования биопленок культурами этих микроорганизмов количество продуцентов α, β и δ гемолизинов изменилось: 24, 15 и 1 соответственно.

При сравнении фенотипа культур, находящихся в разном функциональном состоянии, установили, что при образовании биопленок продукция гемолизина α статистически значимо возрастала (Хи-квадрат, p=0,002), продукция гемолизина β культурой также возрастала (Хи-квадрат, p=0,003), в то время как продукция гемолизина δ в статистически значимо сни-

жалась (Хи-квадрат, p<0,0001). Средние значения экспрессии и стандартное отклонение показателей в группах изолятов приведены ниже (табл. 2).

Таблица 2

Активность продукции различных типов гемолизинов *Staphylococcus* spp. в зависимости от функционального состояния культуры, оцененная полуколичественным методом (среднее ± стандартное отклонение)

Биопленка	Гемолизин α	Гемолизин β	Гемолизин δ
Нет	0,83±1,43	0,80±1,34	1,50±1,77
Да	1,75±1,53	1,10±1,55	0,03±0,16

С помощью иерархического кластерного анализа выявили статистически достоверное деление культур *Staphylococcus* spp. на семь достоверно различных групп: значение альфа относительной независимости более 0,95 (рис. 2).

Оцененная чувствительность метода обнаружения культур, полученных из биопленок, составила 97,5%, в то время как специфичность – 47,5%.

На основании сравнения масс-спектров отмечали, что наибольшие изменения интенсивностей, в зависимости от условий культивирования, для *S. aureus* выявлены для пиков: 3005, 3240, 3782, 4305, 5031, 5302, 5525, 5662, 6840, 6886, 7565 Da (интенсивность выше при биопленкообразовании); 3339, 4290, 5112, 5250, 5338, 6393, 6680 Da (интенсивность выше при культивировании на простых средах). Для *S. epidermidis* мы выявили изменения пиков 2762, 3005, 3232, 3875, 3957, 4305, 4689, 4784, 4917, 5525, 5662, 5821, 5839, 6469, 6894, 7565, 7939, 8342, 9716 Da (интенсивность выше при биопленкообразовании); 2650, 3339, 5112, 5302, 5338, 6574, 6680, 6923 Da (интенсивность выше при культивировании на простых средах).

Использовали общий набор пиков для проведения иерархического кластерного анализа, статистически достоверно разделили *S. aureus* и *S. epidermidis* на два биотипа (Рис. 3). Деление биопленкообразующих культур и контрольных образцов, пассированных на простых питательных средах, было статистически достоверным (Хи-квадрат, p<0,001). Чувствительность метода выявления культур, полученных из биопленок, составила 67,5%, специфичность 75,0%.

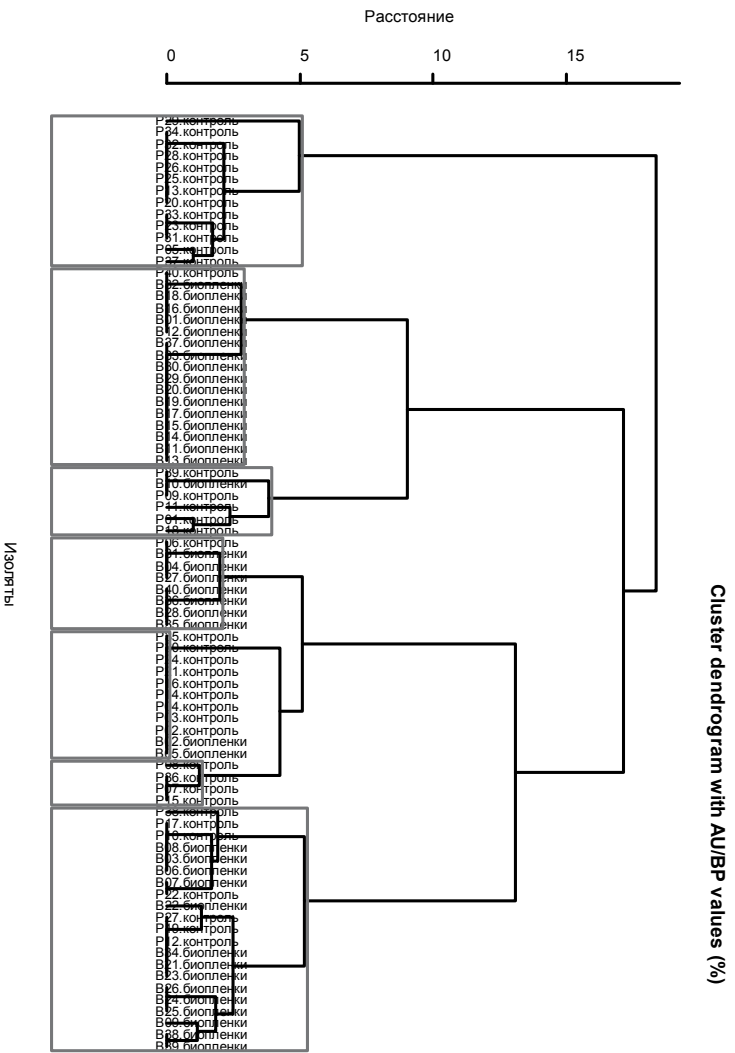


Рис. 2. Деление *Starbuglossus* spp. на биологические группы в зависимости от профиля гемолитической активности (альфа=0,99).

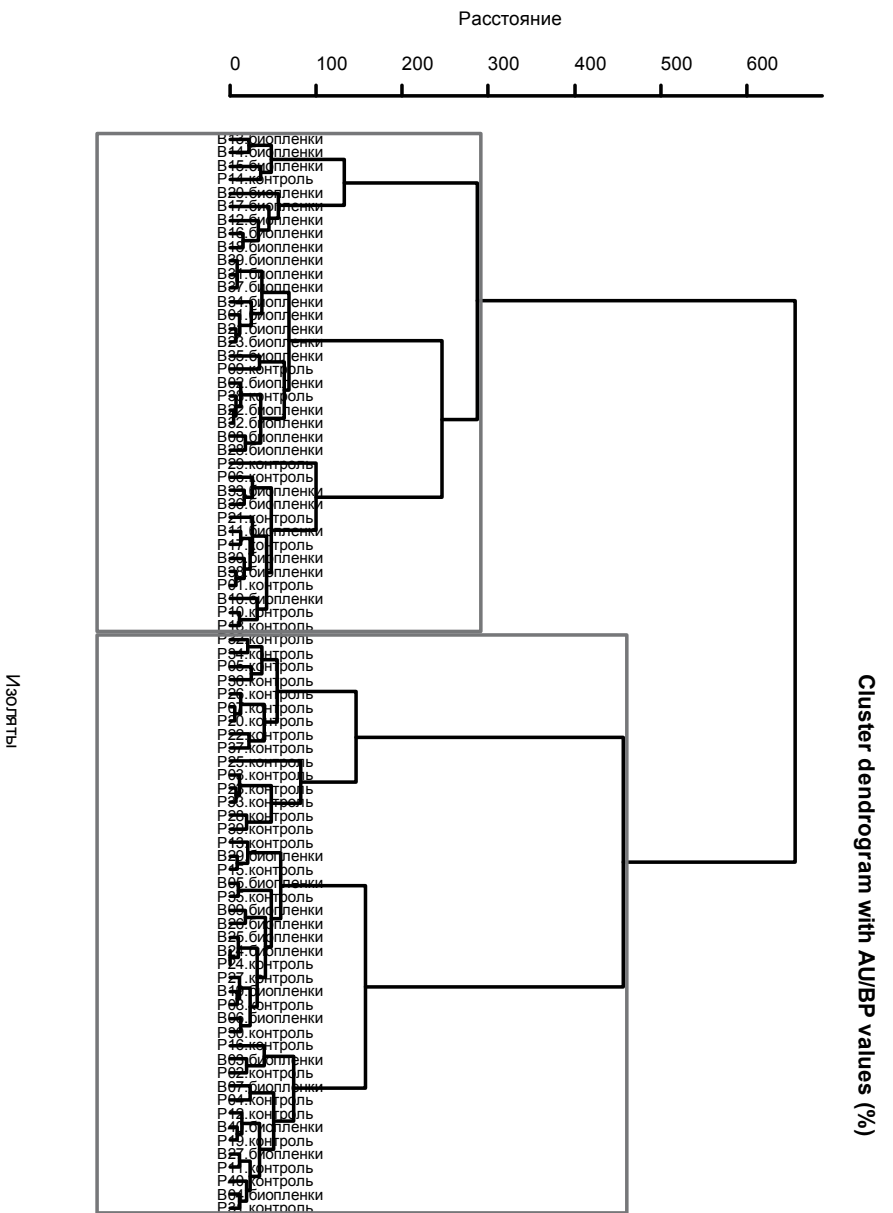


Рис. 3. Деление *Starbuglossus* spp. на биологические группы по результатам масс-спектрометрии (альфа = 0,95).

Для дифференцировки биопленкообразующих изолятов от контрольных образцов применяли сочетание культурального метода и MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Исследуемые изоляты *Staphylococcus* spp. вначале разделили по спектру гемолитической активности. Оценили масс-спектры изолятов *Staphylococcus* spp., не обладавших экспрессией гемолизина δ , для их дифференцировки. Разделили полученную выборку на две группы, статистически достоверно различающиеся по своей структуре (Хи-квадрат, $p < 0,001$). Чувствительность комбинированного метода составила 70,0%, специфичность – 81,0% (табл. 3).

Таблица 3.

Структура кластеров *Staphylococcus* spp. при использовании комбинированного метода выявления биопленок (фенотипический метод и MALDI-TOF масс-спектрометрия)

	Изоляты из биопленок	Изоляты из культур, пассированных <i>in vitro</i>
Группа 1	28	8
Группа 2	12	32

ОБСУЖДЕНИЕ

Использование MALDI-TOF масс-спектрометрии выявляло культуры, полученные из биопленок, с большей специфичностью, нежели применение фенотипического теста для выявления δ -токсина, но обладало меньшей чувствительностью.

Изоляты, первично синтезировавшие гемолизин δ , обладали *hld* геном, который входит в состав *agr*-комплекса, ответственного за кворум-сенсинг и репрессию синтеза факторов вирулентности *Staphylococcus* spp. [8]. В процессе образования биопленок мы выявили модификационную изменчивость, присущую этим изолятам: образовавшие биопленки изоляты не проявляли активности в продукции гемолизина δ (Хи-квадрат, $p = 0,03$). Только один из 40 исследованных изолятов характеризовался секрецией гемолизина δ при образовании биопленки, хотя изначально не было выявлено секреции данного гемолизина у пассированной через простые питательные среды культуры. Мы не установили статистически значимых различий в уровне продукции гемолизинов α и β . Поэтому гемолизины α и β они не могут быть использованы в качестве основы модели для выявления биопленкообразования культуральными методами. Изменения синтеза гемолизина δ носят более пред-

сказуемый характер, поэтому их можно применять в качестве маркеров биопленкообразования. Вследствие того, что до 50% изолятов *Staphylococcus* spp. не обладают *agr*-комплексом, совмещенным с *hld*-геном [14], метод выявления биопленкообразующих изолятов по культуральным признакам является низкоспецифичным, но высокочувствительным.

MALDI-TOF-масс-спектрометрия позволяет выявлять биопленкообразующие изоляты, но чувствительность метода оказалась ниже по сравнению с культуральным. Это объясняется высокой вариативностью пиков масс-спектра в диапазоне от 2000 до 4000 Da из-за избытка низкомолекулярных соединений, в особенности компонентов биопленок. Вследствие этого пик 3005 Da, характерный для гемолизина δ , мог не определяться. Наибольшим значением для выявления культур, полученных из биопленок, методом MALDI-TOF масс-спектрометрии обладали пики 5525, 6680, 6886 Da, отражавшие степень продукции фактора Sigma(B) и SAR049. Описанные пики характерны для *Staphylococcus* spp., поэтому дифференциация может быть проведена только на основании сравнения их интенсивностей. Конститутивность этих пиков повышает чувствительность метода, но требует строгого соблюдения протоколов экстракции белка и условий проведения масс-спектрометрии.

Таким образом, наличие экспрессии гена *agr* может быть определено фенотипически и с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Определение активности данного комплекса генов позволит обнаруживать биопленкообразующие изоляты при исследовании выделенной из периферической крови планктонной фазы. Культуральный метод выявления спектра гемолитической активности может быть рекомендован для скрининга биопленкообразующей активности *Staphylococcus* spp. ввиду высокой специфичности, а метод MALDI-TOF масс-спектрометрии – в качестве подтверждающего теста в комбинации с культуральным. Предложенный подход оценки способности к биопленкообразованию у *Staphylococcus* spp. совместно с высокоэффективным культивированием позволит сократить дополнительные (избыточные) изъятия катетеров, улучшит дифференциальную диагностику септических состояний.

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ № 16-54-53109.

ЛИТЕРАТУРА

1. Квашнина Д.В., Ковалишена О.В. Комплексная клинико-этиологическая и эпидемиологическая характеристика катетер-ассоциированных инфекций кровотока. Медицинский Альманах. 2017; 4(49): 41-45. [Kvashnina D.V., Kovalishena O.V. Kompleksnaya kliniko-etiologicaleskaya i epidemiologicheskaya harakteristika kateter-assotsirovannykh infektsiy krovotoka. Meditsinskiy Almanah. 2017; 4 (49): 41-45 (In Russ)].
2. Parienti J.-J., Mongardon N., Mègarbane B., et al. Intravascular complications of central venous catheterization by insertion site. New England Journal of Medicine. 2015; 373 (13): 1220-1229.
3. Самойлова Л.М., Ильина В.Н., Горбатов Ю.Н. и др. Колонизация катетеров – фактор риска инфекционных осложнений у детей раннего возраста с врожденными пороками сердца. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2006; 4: 3-8. [Samoilova L.M., Il'ina V.N., Gorbatiy YU.N. i dr. Kolonizatsiya kateterov – faktor riska infektsionnykh oslozhneniy u detey rannego vozrasta s vrozhdannymi porokami serdca. Patologiya krovoobrashcheniya i kardiohirurgiya. 2006; 4: 3-8 (In Russ)].
4. Høiby N., Bjarnsholt T., Moser C., et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. Clinical Microbiology and Infection. 2015; 21: S1-S25.
5. Zakhour R., Chafdari A.-M., Raad I.I., Zakhour R. Catheter-related infections in patients with haematological malignancies: novel preventive and therapeutic strategies. The Lancet Infectious Diseases. 2016; 16 (11): e241–e250.
6. Brackman G., Coenye T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. Current Pharmaceutical Design. 2015; 21 (1): 5-11.
7. Otto M. Staphylococcal biofilms. Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 322: 207-228.
8. Gonzalez D.J., Corriden R., Akong-Moore K., et al. N-Terminal ArgD peptides from the classical *Staphylococcus aureus* Agr

- system have cytotoxic and proinflammatory activities. *Chemistry & Biology*. 2014; 21 (11): 1457-1462.
9. *Lauderdale K.J., Boles B.R., Cheung A.L., et al.* Interconnections between Sigma B, agr, and Proteolytic Activity in *Staphylococcus aureus* biofilm maturation. *Infect. Immun.* 2009; 77 (4): 1623-1635.
 10. *Huseby M., Shi K., Brown C.K., et al.* Structure and biological activities of beta toxin from *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 2007; 189 (23): 8719-8726.
 11. *Becker K., Heilmann C., Peters G.* Coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 27 (4): 870-926.
 12. *Bittar F., Ouchenane Z., Smati F., et al.* MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Panton-Valentine leucocidin. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009; 34 (5): 467-470.
 13. *Gagnaire J., Dauwalder O., Boisset S., et al.* Detection of *Staphylococcus aureus* delta-toxin production by whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. *PLOS ONE*. 2012; 7 (7): e40660.
 14. *Harris L.G., Dudley E., Rohde H., et al.* Limitations in the use of PSMγ, agr, RNAlII, and biofilm formation as biomarkers to define invasive *Staphylococcus epidermidis* from chronic biomedical device-associated infections. *International Journal of Medical Microbiology*. 2017; 307 (7): 382-387.
 15. *Багирова Н.С.* Инфекции, связанные с внутрисосудистыми устройствами: терминология, диагностика, профилактика и терапия. Злокачественные Опухоли. 2014; 3 (10): 164-171. [Bagirova N.S. Infekcii, svyazannye s vnutrisosudistymi ustroystvami: terminologiya, diagnostika, profilaktika i terapiya. Zlokachestvennye Opuholi. 2014; 3 (10): 164-171 (In Russ)].
 16. *Waters E.M.* Rapid quantitative and qualitative analysis of biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* under static growth conditions methods in molecular biology. Humana Press, Totowa, NJ. 2014: 157-166.
 17. *Wolters M., Rohde H., Maier T., et al.* MALDI-TOF MS fingerprinting allows for discrimination of major methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *International Journal of Medical Microbiology*. 2011; 301(1): 64-68.
 18. *Gibb S., Strimmer K.* MALDIquant: a versatile R package for the analysis of mass spectrometry data. *Bioinformatics*. 2012; 28 (17): 2270-2271.
 19. *Ryan C.G., Clayton E., Griffin W.L., et al.* SNIP, a statistics-sensitive background treatment for the quantitative analysis of PIXE spectra in geoscience applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 1988; 34: 396-402p.
 20. *Suzuki R., Shimodaira H.* pvclust: Hierarchical clustering with p-values via multiscale bootstrap resampling. 2015.

Поступила в редакцию журнала 29.01.2018

Рецензент: А.Е. Тараскина



XXVI КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)*,

²Леина Л.М. (доцент кафедры)

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

©Медведева Т.В., Леина Л.М., 2018

THE 26TH CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEROLOGY

¹Medvedeva T.V. (dermatovenereologist),

²Leina L.M. (associate professor of the department)

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

С 13 по 17 октября 2017 г. в Женеве (Швейцария) состоялся очередной 26 Конгресс Европейской Академии Дерматовенерологии (EADV). Год проведения Конгресса явился знаменательным для всех европейских дерматологов, так как в 2017 г. исполнилось 30 лет со дня основания EADV. Инициатива создания отдельной организации для дерматовенерологов возникла в недрах Европейского Союза Медицинских Специалистов (Union European des Medici us Specialistes – UEMS). Данная структура была основана в 1958 г. представителями шести европейских стран (Франции, Бельгии, Нидерландов, Люксембурга, Западной Германии и Италии), впоследствии к ним присоединился еще ряд стран Европы. В составе UEMS имела секция дерматовенерологов, где и возникла инициатива создания EADV. Официально Европейская Академия Дерматовенерологии возникла 3 октября 1987 г. в Люксембурге. В этот момент в ее составе насчитывался 21 член. Первым президентом EADV был профессор Emiliano Panconesi (Италия), именно поэтому местом проведения I Конгресса EADV стала Флоренция (сентябрь 1989 г.). В настоящее время EADV претерпела значительные качественные и количественные изменения: на 2017 год в ее состав входило более чем 5500 человек, и в Европе она является самой значительной профессиональной организацией дерматовенерологов. В мире EADV уступает (по количеству зарегистрированных членов) только Американской Академии Дерматологии (AAD). Действующим Президентом EADV является профессор Luca Borradori (Швейцария) (Фото 1).



Фото 1. Президент EADV профессор Luca Borradori.

Женева (Фото 2) не случайно была выбрана для проведения XXVI конгресса EADV, так как этот город традиционно является сосредоточением многих международных организаций (ООН, Международный центр ядерных исследований, Международная организация Красного креста и т.д.).

Согласно установившейся традиции, круг рассматриваемых на XXVI Конгрессе как практических, так и научных проблем был чрезвычайно широк.



Фото 2. Фонтан – символ Женевы.

Вопросы диагностики и эффективной терапии дерматомикозов всегда входят в программу Конгресс-

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

сов EADV, прошедший XXVI Конгресс не составил исключения. На заседании Европейского Общества Заболеваний Ногтей (ENS – European Nail Society), как правило, всегда рассматриваются вопросы, связанные либо со сложностями дифференциальной диагностики, либо – с перспективными диагностическими методиками и подходами к лечению онихомикозов. На этот раз с обширным докладом, посвященным несистемной терапии онихомикозов, выступила Президент ENS М.В. Piraccini. Ею был определен круг пациентов, которые нуждаются именно в несистемной терапии данного заболевания: это, как правило, лица пожилого возраста, страдающие множественными сопутствующими заболеваниями и получающие массивную терапию по этому поводу. Большое внимание было уделено физическим методам лечения онихомикозов: лазеротерапии, ионофорезу, фотодинамической терапии, использованию ионизированной плазмы. Докладчиком было отмечено, что к проведению лазеротерапии нужно относиться чрезвычайно внимательно, т.к. методики не являются стандартизированными. С особой осторожностью необходимо подходить к проводимой лазеротерапии у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом. В сообщении был приведен анализ применения различных типов лазеров при лечении онихомикозов, а также сочетанного использования лазеротерапии с топическими антифунгальными средствами. Об интересе к проблеме заболеваний аппарата ногтя свидетельствуют статистические данные, приведенные в докладе доктора М. Pasch: за период с 2016 по 2017 гг. было проведено 48 клинических исследований, посвященных заболеваниям ногтевых пластинок (учитывали как контролируемые, сравнительные, так и неконтролируемые исследования), из них 27 работ касались онихомикозов и псориаза.

Помимо заседания ENS, вопросы патологии ногтевых пластинок были проанализированы еще на двух отдельных симпозиумах. Все представленные там доклады вызвали интерес у аудитории: сообщение по онихомикозам (доктор М. Starace), опухолям аппарата ногтя (доктор L. Plusje), псориазу ногтей (профессор E. Haneke), лечению онихомикозов (профессор В. Sigurgeirsson). Последним, помимо общего обзора по проблеме, были рассмотрены приоритеты в отношении системных антифунгальных препаратов.

Вопросы эпидемиологии, диагностики и эффективного лечения других микотических инфекций были представлены на заседаниях Конгресса, связанных с инфекциями кожи и ее придатков. Так, с сообщением о микозах волосистой части головы у детей выступила доктор D.M. Saunter. В своем докладе она затронула проблему новых методов диагностики (PCR, MALDI-TOF), был сделан краткий обзор по эпидемиологии и системной терапии данной группы заболеваний. Особый интерес представляла информация о возможности применения системных антифунгальных препаратов у детей младше 2-х лет. Проблеме микотических инфекций у иммунокомпрометированных пациентов было посвящено сообщение доктора М. Ramos-e-Silva. Чрезвычайно актуальная проблема лечения кандидоза была затронута М. Dolenc-Voljc (Словения), особое внимание было уделено новым топическим средствам для лечения кандидоза – эберконазолу, ломоконазолу, NND-502 (аналог наноконазола и рилопироксу).

Следующий, XXVII Конгресс EADV, должен состояться осенью 2018 года в Париже (Франция).



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

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

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Пер. № 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 10.04.2018. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5.5. Тираж 999 экз.