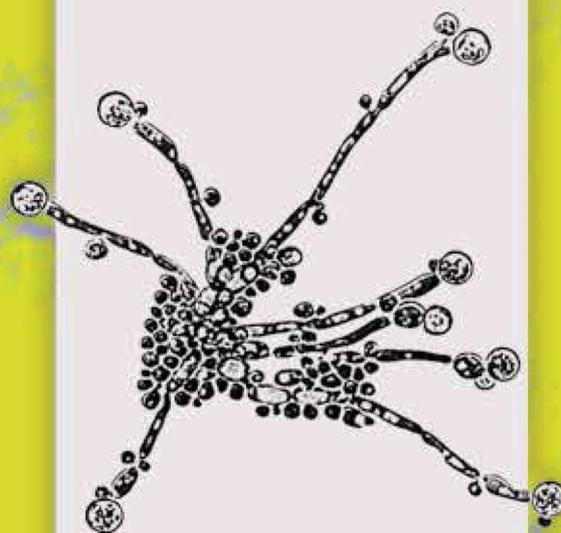


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 21 №1



Problems in medical mycology

Vol.21 №1

2019

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

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

Deputies Chief Editor —

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

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

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 21, № 1, 2019

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

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 21, № 1, 2019

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —
Н.В. Васильева — д.б.н., профессор (Россия),
Заместители главного редактора:
Н.Н. Климко — д.м.н., профессор (Россия)
А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)
Ответственный секретарь —
Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

<i>Васильева Н.В., Босак И.А., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Степанова А.А., Авдеенко Ю.Л., Чилина Г.А.</i> Экспериментальная модель мукомикоза лёгких, обусловленного <i>Lichtheimia ornata</i>	3
--	---

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Волкова А.Г., Попова М.О., Колбин А.С., Богомолова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Криволапов Ю.А., Бойченко Э.Г., Зубаровская Л.С., Белогузова М.Б., Афанасьев Б.В., Клишко Н.Н.</i> Мукомикоз у детей: результаты проспективного исследования в Санкт-Петербурге	7
<i>Стома И.О., Карпов И.А., Искров И.А., Лендина И.Ю., Белявская К.И., Усс А.Л.</i> Комбинация биологических маркеров в дифференциальной диагностике инвазивных микозов и бактериальных инфекций у пациентов гематологического профиля	11
<i>Серебрякова И.С., Корнишева В.Г., Раводин Р.А., Левина Ю.В., Богданова Т.В., Богомолова Т.С., Пчелин И.М., Спиридонова В.А., Алексеев А.Ю., Разнатовский К.И.</i> Микоз кожи, вызванный <i>Nannizzia incurvata</i> (ранее – <i>Microsporum incurvatum</i>): описание редкого клинического случая	16
<i>Иванова Ю.А.</i> Анализ заболеваемости микозом стоп, кистей и онихомикозом у детей и взрослых в Алтайском крае в 2000-2017 годах	21
<i>Резцова П.А., Котрехова Л.П., Разнатовский К.И., Вашкевич А.А.</i> Узкополосное средневолновое ультрафиолетовое излучение в терапии микробной экземы	27
<i>Корнишева В.Г., Гулордава М.Д., Вашкевич А.А., Разнатовский К.И.</i> Функциональное питание кожных больных с применением пробиотика	31

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Степанова А.А., Васильева Н.В.</i> Электронно-микроскопическое изучение <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>P. ellipsoidea</i> и <i>P. angusta</i>	34
<i>Степанова А.А., Васильева Н.В., Босак И.А.</i> Цитология клеток вегетативного мицелия <i>Aspergillus fumigatus</i> Fres., изолированных из ткани легких мышей	41

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

<i>Медведева Т.В., Леина Л.М.</i> Проблемы микологии в фокусе XXVII Конгресса Европейской Академии Дерматологии и Венерологии (EADV)	47
--	----

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Vasilyeva N.V., Bosak I.A., Bogomolova T.S., Vybornova I.V., Stepanova A.A., Avdeenko Y.L., Chilina G.A.</i> Experimental model of pulmonary mucormycosis caused by <i>Lichtheimia ornata</i>	3
--	---

CLINICAL MYCOLOGY

<i>Khostelidi S.N., Borzova U.V., Volkova A.G., Popova M.O., Kolbin A.S., Bogomolova T.S., Avdeenko U.L., Krivolapov U.A., Boychenko E.G., Zuborovskaya L.S., Belogurova M.B., Afanasyev B.V., Klimko N.N.</i> Mucormycosis in children: results of prospective study in Saint-Petersburg, Russia.	7
<i>Stoma I.O., Karpov I.A., Iskrov I.A., Lendina I.Yu., Belyavskaya K.I., Uss A.L.</i> Biomarkers combinations in differential diagnostics of invasive mycoses and bacterial infections in hematological patients.	11
<i>Serebryakova I.S., Kornisheva V.G., Ravodin R.A., Levina Yu.V., Bogdanova T.V., Bogomolova T.S., Pchelin I.M., Spiridonova V.A., Alekseev A.Y., Raznatovsky K.I.</i> Mycosis of skin caused by <i>Nannizzia incurvata</i> (formerly <i>Microsporum incurvatum</i>): a rare case report	16
<i>Ivanova Yu.A.</i> Analysis of morbidity of hands and feet mycosis and onychomycosis in children and adults in the Altai territory in years 2000-2016.	21
<i>Reztsova P.A., Kotrehova L.P., Raznatovsky K.I., Vashkevich A.A.</i> Narrowband UVB ultraviolet radiation in the treatment of microbial eczema	27
<i>Kornisheva V.G., Gulordava M.D., Vashkevich A.A., Raznatovsky K.I.</i> Functional nutrition of skin patients with the use of probiotic	31

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

<i>Stepanova A.A., Vasilyeva N.V.</i> Electron-microscopic investigations of <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>P. ellipsoidea</i> and <i>P. angusta</i>	34
<i>Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Bosak I.A.</i> Cytology of the growing in vitro cells of vegetative mycelium of <i>Aspergillus fumigatus</i> Fres., isolated from murine lung	41

CHRONIC AND INFORTMATION

<i>Medvedeva T.V., Leina L.M.</i> Problems of mycology in the in the focus of the XXVII Congress of European Academy of Dermatology and Venerology (EADV)	47
---	----

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ МУКОРМИКОЗА ЛЁГКИХ, ОБУСЛОВЛЕННОГО *LICHTHEIMIA ORNATA*

**Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой),
Босак И.А. (с.н.с.)*, Богомолова Т.С. (зав. лаб.),
Выборнова И.В. (н.с.), Степанова А.А. (зав. лаб.),
Авдеенко Ю.Л. (с.н.с), Чилина Г.А. (зав. лаб.)**

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

Увеличение числа случаев мукоормикоза лёгких у пациентов с иммунодефицитами требует углубленного изучения патогенеза этого заболевания в экспериментальных моделях на лабораторных животных. Резистентность возбудителей мукоормикоза к большинству из применяемых в клинической практике антимикотических лекарственных средств диктует необходимость разработки и доклинических испытаний новых противогрибковых препаратов in vivo. В статье описаны особенности разработанной экспериментальной модели мукоормикоза легких у мышей: штамм возбудителя, подготовка животных к заражению, способ заражения. Приведены данные о динамике гибели животных и результаты культуральных и гистологических исследований лёгких мышей с инвазивным мукоормикозом.

Ключевые слова: мукоормикоз, иммунодефицит, иммуносупрессия, экспериментальные модели, лабораторные животные

EXPERIMENTAL MODEL OF PULMONARY MUCORMYCOSIS CAUSED BY *LICHTHEIMIA ORNATA*

Vasilyeva N.V. (director of institute, head of the department), Bosak I.A. (senior scientific collaborator), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Vybornova I.V. (scientific collaborator), Stepanova A.A. (head of the laboratory), Avdeenko Y.L. (senior scientific collaborator), Chilina G.A. (head of the laboratory)

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

The increasing number of pulmonary mucormycosis cases in patients with immunodeficiencies requires enhanced research of the disease pathogenesis in experimental models on laboratory animals. Resistance of mucormycosis etiologic agents to many antifungal drugs necessitates the development and preclinical testing of new antifungal agents. The paper describes the murine pulmonary mucormycosis model: fungal strain, procedure of animals preparing to infection, route of infection. Data on mice lethality and results of cultural and histological investigations of murine lungs with invasive mucormycosis is presented.

Key words: mucormycosis, immunodeficiency, immunosuppression, experimental models, laboratory animals

Мукоормикоз (зигомикоз) – инвазивный микоз, обусловленный низшими нитчатými грибами, относящимися к порядку *Mucorales*. В последние десятилетия частота мукоормикоза существенно возросла. По данным аутопсий, в стационарах лечебных учреждений экономически развитых стран мукоормикоз выявляют в 1-5 случаях на 10 000 вскрытий. У больных с факторами риска частота этого инвазивного микоза существенно выше. Так, например, у реципиентов трансплантатов аллогенного костного мозга она возрастает до 2-3%. Мукоормикоз характеризуется чрезвычайно тяжелым течением, а без раннего хирургического лечения и активной антифунгальной терапии обычно заканчивается летально [1].

Основные факторы риска развития мукоормикоза: трансплантация органов и тканей, высокодозная цитостатическая и иммуносупрессивная терапия, длительное применение глюкокортикостероидов и сахарный диабет. Уникальными факторами риска являются длительное применение дифероксамина при повторных гемотрансфузиях или алюминии при гемодиализе [2].

Мукоормиковые грибы распространены повсеместно, обитают в почве, встречаются в гниющих растительных отходах, некоторых пищевых продуктах. Возбудители мукоормикоза резистентны к используемым в клинике азолам и эхинокандинам, исключение составляет позаконазол [1-4]. При лечении мукоормикоза применяют также амфотерицин В.

Для изучения патогенеза мукоормикоза, а также проведения доклинических испытаний новых антимикотических препаратов *in vivo* необходимо разработать отсутствующую в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [5] экспериментальную модель инвазивного мукоормикоза легких, что и явилось целью данного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штамм гриба. Для проведения заражения животных нами был отобран штамм *Lichtheimia ornata* (А.К. Sarbhoy) Alastr. – Izq. & Walter РКПГ F 1507, выделенный из биоптата пазухи носа пациента с лимфолейкозом, хранящийся в Российской коллекции патогенных грибов (РКПГ). Из трехсуточной культуры на агаре Сабуро готовили взвесь спор в стерильном 0,85% растворе NaCl концентрацией $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл.

Подготовка животных к заражению. В качестве экспериментальных животных были выбраны самцы беспородных белых мышей с массой тела 18-20 г. Для введения животных в состояние нейтропении внутривенно вводили циклофосфан в дозе 150 мг/кг четырёхкратно (-3, 0, 4 и 8 день) [6].

Процедура заражения. Заражение животных выполняли путём интраназального введения наркотизированным животным 50 μ л взвеси спор гриба.

Культуральное исследование ткани легких. Оценку наличия гриба в ткани лёгких зараженных животных осуществляли путем посева тканей лёгких погибших мышей на среду Сабуро агар методом отпечатков. Посевы инкубировали при 37 °С в течение 5 суток и отмечали наличие роста колоний микромицета.

Гистологическое исследование легких. Кусочки легких мышей располагали в биопсийные кассеты, затем фиксировали в течение 6 часов 10% забуференным раствором формалина, после чего биопсийные

* Контактное лицо: Босак Илья Алексеевич,
e-mail: Ilya.Bosak@szgmu.ru

кассеты с материалом помещали в аппарат для гистологической обработки биологических тканей Tissue-Tek VIPTM 5Jr. для проведения проводки через серию изопропанола (IsoPrep). Последующую заливку в среду Biomix осуществляли с помощью модульной системы заливки Tissue-Tek TECTM. Срезы получали на санном микротоме Slide 2003. Для описания характера воспалительной реакции срезы окрашивали гематоксилин-эозином (Г-Э), а для выявления элементов гриба – по методу PAS и Гомори-Грокотт. Окрашенные срезы заключали в заливочную среду Bio Mount. Препараты изучали и фотографировали в световом микроскопе AxioLab.A1 (фирма Zeiss, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гибель животных в экспериментальной группе наблюдали, начиная с восьмого дня после заражения, а к восемнадцатому дню эксперимента фиксировали гибель всех зараженных мышей (Рис. 1).

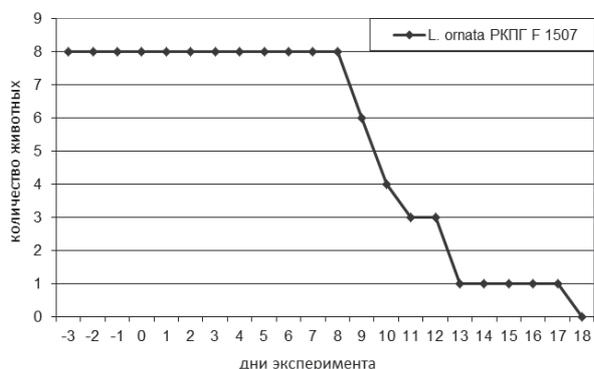


Рис. 1 Выживаемость в группе зараженных экспериментальных животных.

При посеве тканей лёгких погибших животных на среду Сабуро агар во всех случаях был получен рост *L. ornata*.

При гистологическом исследовании в тканях легких через восемь суток после заражения были обнаружены разные по площади участки локализации гиф гриба. Последние широкие (10-12 мкм, Рис. 2 а, б, г), редко ветвящиеся под прямым углом (Рис. 2 б, стрелка). Гифы гриба в паренхиме легкого, в основном, располагались довольно плотно и параллельно относительно друг друга (Рис. 2 а, б, г), что характерно для тканевых форм мукоромицетов [7, 8]. В сосудах (Рис. 2 в, е) легких отмечены массивные скопления плотно и хаотично ориентированных гиф мукоромицета, диаметр которых был в 2 раза меньше (5-6 мкм) аналогичных, инфицирующих собственно ткань легкого мышей. Существенное сужение диаметра гиф гриба в сосудах, вероятно, свидетельствует о деструктивных

процессах в них. Также скопления гиф гриба выявляли в просветах бронхов и интерстиции (Рис. 2 д). Воспалительный ответ на микотическую инфекцию слабо выражен, представлен скудной нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрацией, преобладают процессы альтерации.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным зарубежных авторов, *L. ornata* по частоте и вирулентности является одним из трех видов микробиоты, вызывающих 80% всех случаев мукоромикоза [9]. Этот вид обнаружен и среди возбудителей инвазивного мукоромикоза в России. Следует заметить, что видовая идентификация этого микробиота, являющегося сиблинговым (близкородственным) видом для известного возбудителя мукоромикоза *L. corymbifera*, по морфологическим признакам затруднена. Использованный нами для заражения штамм был идентифицирован методом ДНК-секвенирования. В нашем исследовании штамм *L. ornata* РКПГФ-1507 проявил высокую вирулентность для иммуносупрессированных животных: основная часть зараженных мышей (87,5%) погибли в течение пяти дней, с 8-го по 13-й день после заражения.

В разработанной нами ранее экспериментальной модели аспергиллёза легких у мышей [6] была отработана схема и доза для внутрибрюшинного введения циклофосфана с целью введения экспериментальных животных в стойкое состояние нейтропении. Данная схема иммуносупрессии показала эффективность и при заражении мышей мукоромицетами.

Интраназальный способ заражения оказался эффективным для развития мукоромикоза лёгких у мышей и отличается низкой травматизацией животных в состоянии нейтропении.

Данные по выживаемости зараженных животных, а также результаты лабораторных (культуральных и гистологических) исследований свидетельствуют о наличии микотического поражения лёгких у зараженных животных. Разработанная нами модель инвазивного мукоромикоза легких может быть использована для дальнейших научных исследований, испытаний новых лекарственных средств и методов диагностики.

Необходимо продолжить изучение патогенности для животных других возбудителей мукоромикоза, а также влияние на течение патологического процесса применяемых в клинической практике антимикотических препаратов.

Данная работа выполнена в рамках Госзадания «Изучение морфо-биологических особенностей патогенных мукоромицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитом» (2019-2021 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Pana Z.D., Seidel D., Skiada A., et al. Invasive mucormycosis in children: an epidemiologic study in European and non-European countries based on two registries. BMC Infectious Diseases. 2016; 16 (1): 667.
2. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. 3-е изд., перераб и доп. М.: Фармтек, 2017: 272 с. [Klimko N.N. Mikozy: diagnostika i lechenie. Rukovodstvo dlya vrachej. 3-e izd., pererab i dop. M.: Farmtek, 2017: 272 s. (In Russ)].
3. Schwartze V.U., Jacobsen I.D. Mucormycoses caused by *Lichtheimia* species. Mycoses, 2014; 57 (3): 73-78.
4. Chander J., Kaur M., Singla N., et al. Mucormycosis: Battle with the Deadly Enemy over a Five-Year Period in India. J. Fungi. 2018; 4 (2): 46.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012: 944 с. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. CHast' pervaya. M.: Grif i K, 2012: 944

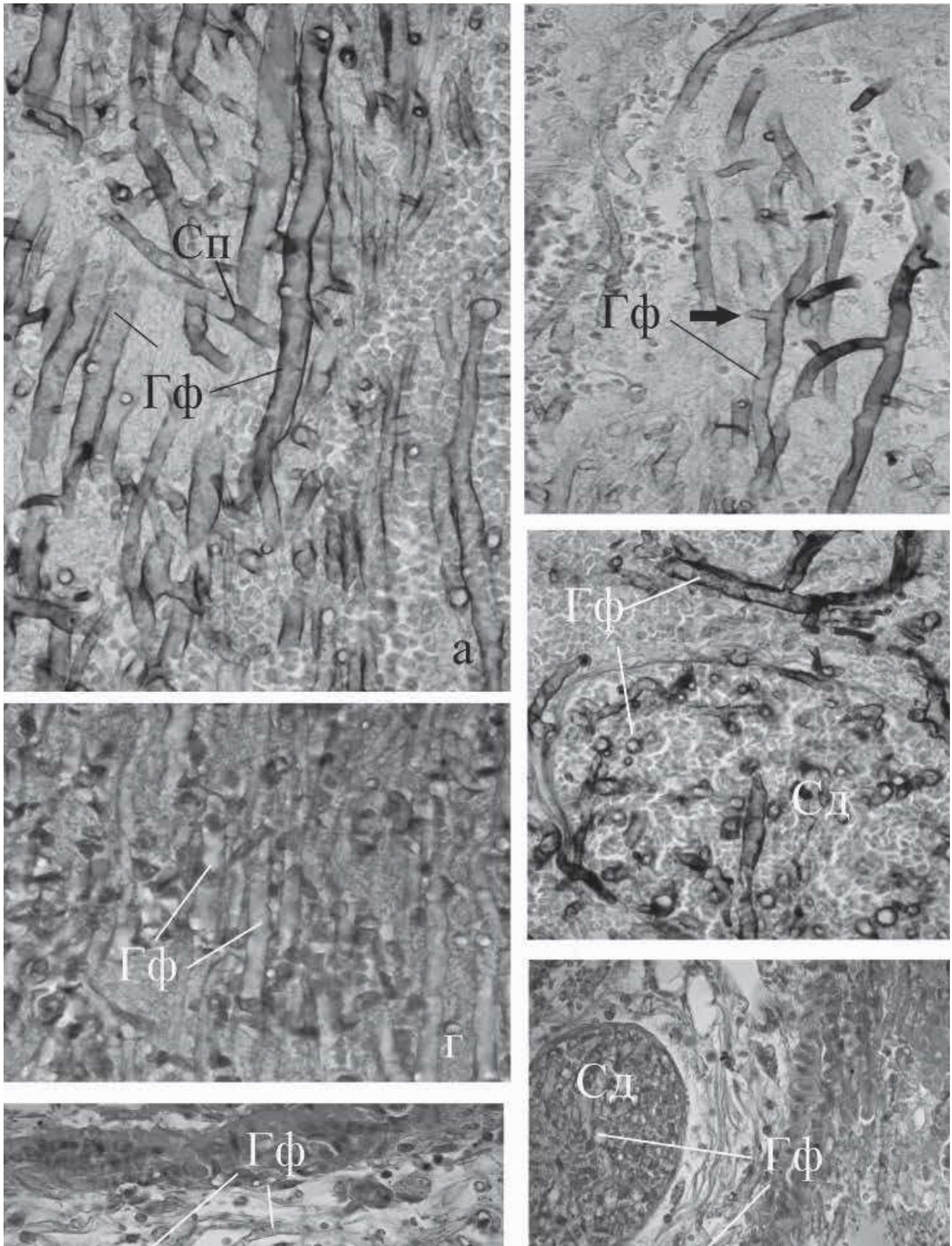


Рис. 2. Скопления гиф *L. ornata* (РКПГФ-1507) в тканях легких мышей:
 а, б, г – гифы в паренхиме легких, в, е – скопления гиф вблизи и в просвете сосудов,
 д – скопления гиф гриба в интерстиции. Условные обозначения: Гф – гифы, Сд – сосуд, Сп – септа.
 а, б, в – Гомори-Грокотт, г – Г-Э. а, б, г – x1000; в, д, е – x400.

- s. (In Russ)].
6. Васильева Н.В., Богомолова Т.С., Степанова А.А. и др. Особенности моделирования аспергиллёза легких у мышей в зависимости от вирулентности штаммов *Aspergillus fumigatus*. Проблемы медицинской микологии. 2014; 16 (2): 50. [Vasil'eva N.V., Bogomolova T.S., Stepanova A.A. i dr. Osobennosti modelirovaniya aspergillyoza legkih u myshej v zavisimosti ot virulentnosti shtammov *Aspergillus fumigatus*. Problemy medicinskoj mikologii. 2014; 16 (2): 50 (In Russ)].
 7. Степанова А.А., Хостелиди С.Н., Аравийский Р.А. и др. Электронно-микроскопическое исследование *Lichtheimia* spp. *in vivo* и *in vitro*. Проблемы медицинской микологии. 2012; 14 (4): 55-61. [Stepanova A.A., Hostelidi S.N., Aravijskij R.A. i dr. EHlektronno-mikroskopicheskoe issledovanie *Lichtheimia* spp. *in vivo* i *in vitro*. Problemy medicinskoj mikologii. 2012; 14 (4): 55-61 (In Russ)].
 8. 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., Stepanov A.A., Bogomolova T.S. i dr. *Mucor* species i ego associanty – *Aspergillus* spp. i *Candida* spp. pri disseminirovannom mikoze u pacienta s lejkozom. Problemy medicinskoj mikologii. 2013; 15 (3): 73-78 (In Russ)].
 9. Schwartz V.U., Hoffmann K., Nyilasi I., et al. *Lichtheimia* species exhibit differences in virulence potential. PLoS ONE. 2012; 7 (7).

Поступила в редакцию журнала 18.03.2019

Рецензент: В.С. Митрофанов



МУКОРМИКОЗ У ДЕТЕЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В САНКТ- ПЕТЕРБУРГЕ

¹Хостелиди С.Н. (доцент кафедры)*, ¹Борзова Ю.В. (зав. микологической клиникой, ассистент кафедры), ²Волкова А.Г. (пульмонолог), ²Попова М.О. (гематолог), ²Колбин А.С. (профессор кафедры), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), ¹Криволапов Ю.А. (зав. отд.), ³Бойченко Э.Г. (зав. отд.), ²Зубаровская Л.С. (зам. директора института), ⁴Белогурова М.Б. (зав. отд.), ²Афанасьев Б.В. (директор института), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; ²Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; ³Детская городская больница №1; ⁴Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург, Россия

В проспективное исследование в 2004-2018 гг. в Санкт-Петербурге включили 26 детей с инвазивным мукоормикозом (у 5 больных диагноз был установлен по результатам вскрытия). Медиана возраста – 10 лет (3 месяца-17 лет), мальчиков – 54%. Основными фоновыми заболеваниями были острые лейкозы (68%), факторы риска: цитостатическая полихимиотерапия (91%), аллогенная трансплантация стволовых клеточных элементов (42%), длительная нейтропения (85%) и лимфоцитопения (81%). Поражение легких выявили у 65% пациентов, 2 и более органов – у 44%. Возбудители мукоормикоза – *Lichtheimia corymbifera* (42%), *Rhizopus spp.* (33%) и *Rhizomucor spp.* (25%). Антимикотическую терапию применяли у 81% больных, хирургическое лечение – у 35%. У получавших антимикотическую терапию детей с мукоормикозом общая выживаемость в течение 12 недель составила 52%.

Ключевые слова: *Lichtheimia corymbifera*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, мукоормикоз, дети, острый лейкоз

MUCORMYCOSIS IN CHILDREN: RESULTS OF PROSPECTIVE STUDY IN SAINT-PETERSBURG, RUSSIA

¹Khostelidi S.N. (associate professor of the department), ¹Borzova U.V. (head of the mycological clinic, assistant professor of the department), ²Volkova A.G. (pulmonologist), ²Popova M.O. (hematologist), ²Kolbin A.S. (professor of the department), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Avdeenko U.L. (senior scientific collaborator), ¹Krivozapov U.A. (head of the clinical department), ³Boychenko E.G. (head of the clinical department), ²Zuborovskaya L.S. (deputy director of the institute), ⁴Belogurova M.B. (head of the clinical department), ²Afanasyev B.V. (director of the institute), ¹Klimko N.N. (head of the department)

* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна, e-mail: sofianic@mail.ru

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: Department of Medical Microbiology; Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology; ²I. Pavlov St. Petersburg State Medical University; ³Pediatric City Hospital №1; ⁴St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialised Types of Medical Care (Oncological); ⁵Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

In 2004-2018 years in St. Petersburg, Russia we prospectively observed 26 children with mucormycosis (in 5 patients diagnosis was made post-mortem). Median of age was 10 years (3 month - 17 years), males – 54%. The most frequent underlying diseases were acute leukemia (68%), and main risk factors were cytostatic chemotherapy (91%) and allogeneic HSCT (42%), prolonged neutropenia (85%) and lymphocytopenia (81%). Pulmonary mucormycosis was main clinical form (65%), and ≥ 2 organs involvement was noted in 44% patients. The etiology agents were *Lichtheimia corymbifera* (42%), *Rhizopus spp.* (33%), and *Rhizomucor spp.* (25%). Antifungal therapy was used in 81% patients, surgery – 35%. In treated with antifungals patients 12 weeks overall survival was 52%.

Key words: mucormycosis, *Lichtheimia corymbifera*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, acute leukemia, children

ВВЕДЕНИЕ

Мукоормикоз – тяжелая микотическая инфекция, которая развивается преимущественно у иммунокомпрометированных больных. Главными факторами риска инвазивного мукоормикоза являются: онко- и гематологическая патология, нейтропения (абсолютное число нейтрофилов менее $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ в течение 1 недели или более), трансплантация стволовых клеток крови (ТСКК), декомпенсированный сахарный диабет, СПИД, состояние после трансплантации органов [1]. Отметим, что ранее основным фактором риска мукоормикоза был декомпенсированный сахарный диабет. В настоящее время почти половина всех больных мукоормикозом – это пациенты гематологических отделений. Данная тенденция наблюдается как в категории больных старше 18 лет, так и у детей.

Количество публикаций о факторах риска, симптоматике и лечении этого заболевания у детей в отечественной и зарубежной литературе невелико. Мы представляем результаты проспективного исследования мукоормикоза у детей в Санкт-Петербурге (2004-2018 гг.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проспективным, динамическим и обсервационным. Учитывали более 200 показателей, включающих данные об анамнезе основного заболевания, наличии факторов риска развития инвазивных микозов, результаты лабораторного и инструментального обследования, анализ проведенной антимикотической терапии и хирургического лечения. Диагноз инвазивного мукоормикоза и оценку терапии осуществляли на основании критериев Европейской организации по изучению и лечению рака (EORTC) и группы по изучению микозов (MSG) Национального института аллергологии и инфекционных заболеваний (NIAID) США [2, 3].

Полученные в процессе исследования медико-биологические данные обрабатывали с использованием программной системы STATISTICA for Windows (версия 10.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В период с 2004 по 2018 г. мы наблюдали 102 случая мукоормикоза в различных стационарах Санкт-

Петербурга. В 25% случаев он развивался у детей (n=26). Возраст пациентов – от 3 месяцев до 17 лет (медиана – 10 лет), мальчиков – 54%, девочек – 46%. У всех больных мукормикоз развился после длительного нахождения в стационаре (медиана – 35±10 дней).

Основными фоновыми заболеваниями инвазивного мукормикоза были онкогематологические заболевания – 92%. У двух детей он развился на фоне: 1) респираторного дистресс-синдрома и асфиксии в родах с последующей длительной ИВЛ; 2) врожденного порока сердца (ВПС) и магистральных артерий и последующего хирургического лечения с длительным пребыванием в ОРИТ (табл. 1).

Таблица 1.

Фоновые заболевания мукормикоза у детей в Санкт-Петербурге

Нозология МКБ-10	n=26	%
Острый лимфобластный лейкоз	10	38
Острый миелобластный лейкоз	8	30
Нейробластома	2	8
Миелодиспластический синдром	1	4
Миелоидная саркома	1	4
Анемия Фанкони	1	4
Апластическая анемия	1	4
ВПС и магистральных артерий	1	4
Респираторный дистресс-синдром, асфиксия в родах	1	4

Изучение факторов риска показало, что мукормикоз развивается преимущественно на фоне выраженной ятрогенной иммуносупрессии; в единичных случаях – на фоне проведенного хирургического вмешательства и длительного лечения в ОРИТ с применением ИВЛ. ТКСК проводили у 42% больных.

Основными факторами риска были: применение высокодозной полихимиотерапии (ПХТ) – 91%, среднее число курсов – 5 (табл. 2); тяжелая нейтропения (число нейтрофилов <0,5·10⁹/л) продолжительностью в среднем 31 день (85%); лимфоцитопения (<1,0·10⁹/л) продолжительностью в среднем 20 дней (81%); использование кортикостероидов (46%, медиана – 21 день). Иммуносупрессивную терапию для профилактики и лечения РТПХ получали 11 больных (42%). У этих пациентов мукормикоз развивался в позднем посттрансплантационном периоде (медиана – 240 дней). Длительное (более 21 дня) пребывание в ОРИТ до выявления мукормикоза отмечали у двух детей.

Таблица 2

Факторы риска и фоновые состояния у больных мукормикозом детей

Факторы риска и фоновые состояния	n=26	
	Абсол.	%
Цитостатическая или иммуносупрессивная терапия	24	91
Число курсов терапии	медиана – 5	
Агранулоцитоз	22	85
Длительность агранулоцитоза	медиана – 31 день	
Лимфоцитопения	21	81
Длительность лимфоцитопении	медиана – 20 дней	
Глюкокортикостероиды	12	46
Длительность приема глюкокортикостероидов	медиана – 21 день	
Алло-ТКСК	11	42
РТПХ	11	42
Хирургическое лечение основного заболевания	2	8
Длительное пребывание в ОРИТ	2	8
Длительное ИВЛ	2	8

Первичную противогрибковую профилактику получали 84% больных: флуконазол (46%), вориконазол (19%), эхинокандины (15%) и позаконазол (4%).

Основными клиническими проявлениями мукор-

микоза были: повышение температуры тела выше 38,5 °С – 84%, одышка – 73%, локальный болевой синдром – 62%, кашель – 54%, а также кровохарканье – 27%.

Первичный очаг поражения наиболее часто локализовался в легких (65%) и придаточных пазухах носа (27%). У двух пациентов (8%) первичный очаг инфекции локализовался в желудочно-кишечном тракте (табл. 3).

Таблица 3

Клинические варианты мукормикоза у детей в Санкт-Петербурге

Клинические варианты	n=26	
	Абсол.	%
Поражение легких	17	65
Поражение придаточных пазух носа	7	27
Поражение кишечника	2	8
Поражение 2 и более органов	11	44

Дальнейшее распространение мукормикоза и вовлечение других органов и систем наблюдали у 44% больных.

Всем пациентам проводили инструментальные исследования: компьютерную томографию легких (КТ) и околоносовых придаточных пазух, по показаниям – магнитно-резонансную томографию (МРТ) и ультразвуковые исследования.

У больных легочной формой мукормикоза отмечали очаговые поражения одного (56%) и обоих легких (44%); признаки плеврита отмечали у 25%. Очаговые изменения наиболее часто определяли в С6, С9, С10 сегментах легких. Деструкцию ткани легких выявили у 46% пациентов, симптом «ореола» – у 27%, «обратного ореола» – у 19% (Рис. 1).

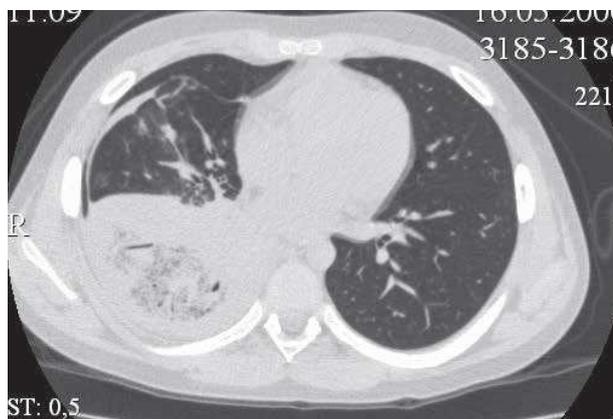


Рис. 1. КТ грудной полости. Пациент 11 лет, ОМЛ. Симптом «обратного ореола».

КТ придаточных пазух носа выполнили 46% детей. Признаки синусита установили у 86% этих пациентов.

МРТ центральной нервной системы провели 38% больных. У половины из них выявили признаки поражения головного мозга.

С диагностической целью провели забор материала из очагов поражения. Исследовали промывную жидкость из бронхов, плевральную жидкость, спинномозговую жидкость, промывные воды придаточных пазух носа (ППН), кровь, биоптаты тканей, а также послеоперационный материал (резецированные ткани и органы).

Наличие несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом, отмечали у всех больных (Рис. 2).

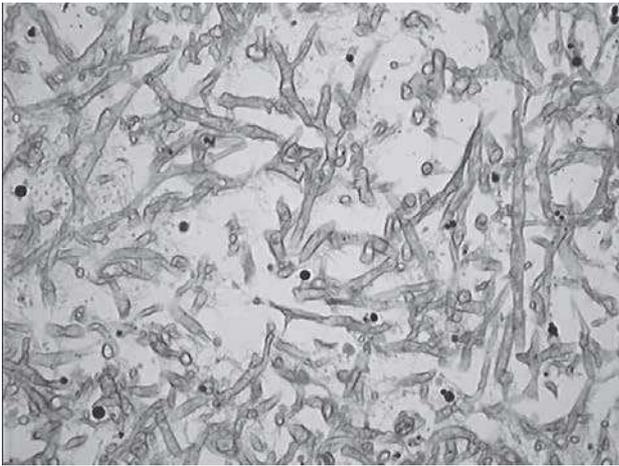


Рис. 2. Гистологическое исследование ткани легкого (аутопсия). Визуализируются нити несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$.

Положительные результаты посева материала из очагов поражения были получены у 46% пациентов. Возбудителями мукормикоза у детей в Санкт-Петербурге были *Lichtheimia corymbifera* (42%), *Rhizopus* spp. (25%) и *Rhizomucor* spp. (25%), *Rhizopus oryzae* (8%). Гистологическое исследование провели у двух третей больных (биопсия тканей – 44%, аутопсия органов и тканей – 33%, исследование послеоперационного материала – 22%).

Антимикотическую терапию проводили 81% пациентов (у 19% детей диагноз был установлен посмертно). Липидный комплекс амфотерицина В (3-5 мг/кг/сутки) применяли у 73% больных, позаконазол (600-800 мг/сутки) – у 50%, эхинокандины – у 45%, амфотерицин В (1-1,5 мг/кг/сутки) – у 23%, липосомальный АмВ (3-5 мг/кг/сутки) – у 10%. У 29% детей, получавших амфотерицин В (АмВ), развились признаки почечной недостаточности, что потребовало коррекции дозы препарата. Комбинированную терапию получал 71% больных (эхинокандины и АмВ, эхинокандины и липидный комплекс АмВ, эхинокандины и позаконазол). Продолжительность лечения составила от 3 до 261 дней (медиана – 53 дня), а комбинированной антимикотической терапии – 3-137 (медиана – 22 дней).

У 35% применение антимикотиков сочетали с хирургическим лечением. Проводили синусотомии, лобэктомии, резекцию ребер, резекцию кишечника, а также некрэктомию кожи и мягких тканей.

У получавших антимикотическую терапию больных мукормикозом общая выживаемость в течение трех месяцев составила 52% (Рис. 3).

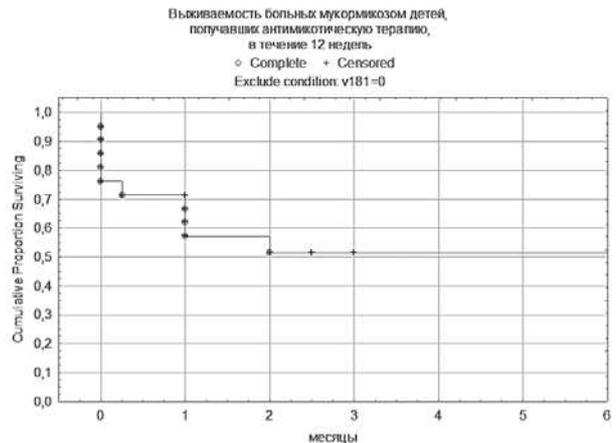


Рис. 3. Выживаемость больных мукормикозом, получавших антимикотическую терапию, в течение 3 месяцев.

Прогностически благоприятным фактором было использование комбинированной антимикотической терапии ($p=0,04$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мукормикоз – тяжелое заболевание с высокой атрибутивной летальностью [2-4].

Основные зарубежные исследования мукормикоза у детей демонстрируют ту же тенденцию, что и у взрослых. Если ранее основным фоновым заболеванием считали декомпенсированный сахарный диабет, то в настоящее время – это онкогематологические болезни (50-80%) [4, 5]. Согласно данным зарубежных регистров, онкогематологические заболевания являются фоновыми у более чем двух третей больных мукормикозом детей [6]. Наиболее часто фоновыми заболеваниями были острые лейкозы (острый миелоидный лейкоз и острый лимфобластный лейкоз (до 70%)) [6, 7]. При этом основными факторами риска развития мукормикоза у детей являются: длительный агранулоцитоз, иммуносупрессивная и высокодозная цитостатическая терапия, а также длительное применение глюкокортикостероидов [6-8]. В группе наблюдаемых нами детей с мукормикозом пациенты с гемобластозами составили 92% (38% – ОЛЛ, 30% – ОМЛ). Основными факторами риска были: ПХТ (91%), агранулоцитоз (85%), лимфоцитопения (81%), а также ТКСК (42%).

Известно, что клинические проявления мукормикоза во всех возрастных категориях неспецифичны и во многом зависят от локализации инфекционного процесса. Согласно нашим данным, у детей наиболее часто диагностируют поражение легких (65%), реже – в придаточных пазухах носа (27%). В работах [6-9] показано, что поражения легких выявляли у 19-27% больных детей, до 50% – у отдельных групп пациентов.

Диагностика мукормикоза требует не только анализа биосубстратов методом прямой микроскопии, но и использования специфических окрасок биоматериала, культурального и гистологического исследований. Последнее зачастую трудно выполнимо ввиду тяжести состояния больных (мы диагностировали мукормикоз посмертно у 19% детей). Микроскопические признаки наличия микромицетов в биосубстратах обнаружили у всех пациентов. Посевы материала из очагов поражения были позитивными у 46% наблюдаемых нами детей.

По данным Pava Z.D., et al., основными возбудителями мукормикоза у детей являются *Rhizopus* spp.

(39,7%), *Lichtheimia* spp. (17,5%), *Mucor* spp. (12,7%), *Cunninghamella bertholletiae* (6,3%), и не удается идентифицировать возбудителя почти у четверти пациентов (23,8%) [6]. Muggeo P., et al. показано, что возбудителями мукормикоза в Италии чаще были *Mucor* spp. (более 50%), реже – *Lichtheimia corymbifera* и *Rhizopus oryzae* [7]. Во Франции и Германии также основными возбудителями были *L. corymbifera* (более 50%) и *Mucor* spp. [5, 10]. Согласно полученным нами данным, наиболее часто у данной когорты больных выделяли в качестве возбудителя *L. corymbifera* (42%), но вторым по частоте возбудителем были представители рода *Rhizopus*. *Mucor* spp. у наших пациентов не обнаруживали.

На сегодняшний день основными противогрибковыми препаратами, назначаемыми для лечения мукормикоза, являются липидные производные амфотерицина В (50-90%) [5, 6, 10]. Согласно международным данным, комбинированную терапию применяли до 50% пациентов [6, 11], хирургическое лечение – 30-54% [5, 6, 9, 11].

Мы также часто использовали липидный комплекс амфотерицина В (73%), и 23% детей получали амфотерицина В деоксихолат. 71% больных назначали комбинированную терапию (амфотерицин В + каспофунгин, липидный комплекс амфотерицина В + каспофунгин, амфотерицина В + позаконазол).

Общая летальность при мукормикозе остается высокой. В то же время можно отметить положительную тенденцию. В 2011 г. Dabritz et al. сообщали об общей летальности 67% больных мукормикозом детей [5]. В 2016 г. Pana et al. представили данные об общей летальности 33% в данной когорте пациентов [6].

В нашем исследовании у получавших антимикотическую терапию детей общая летальность в течение 12 недель составила 48%. Наши результаты сходны с

опубликованными в 2019 г. показателями итальянской группы исследователей [7].

Мы не обнаружили влияния ранее проведенной трансплантации стволовых кроветворных клеток на общую выживаемость больных мукормикозом, которая была отмечена в европейском исследовании [6]. У наших пациентов прогностически благоприятным фактором стало использование комбинированной антимикотической терапии.

Таким образом, мукормикоз является жизнеугрожающей инфекцией у детей с различными вариантами иммуносупрессии. Для эффективного лечения мукормикоза важно добиться стабилизации основного заболевания и уменьшения выраженности факторов риска. Необходимы проведение адекватной антифунгальной терапии с использованием комбинации разных групп антимикотических препаратов, а также хирургическое удаление пораженных тканей.

ВЫВОДЫ

1. Мукормикоз развивается преимущественно у детей с онкогематологической патологией, получавших интенсивную цитостатическую терапию и трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, с длительной нейтропенией и лимфоцитопенией.

2. Возбудители мукормикоза у детей – *Lichtheimia corymbifera* (42%), *Rhizopus* spp. (33%) и *Rhizomucor* spp. (25%).

3. При мукормикозе у детей наиболее часто развивается поражение легких (65%), диссеминацию инфекции выявили у 44% пациентов.

4. При проведении лечения общая выживаемость больных в течение 12 недель – 52%.

5. Использование комбинированной антимикотической терапии является прогностически благоприятным фактором ($p=0,04$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kontoyannis D.P., Marr K.A., Park B.J., et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. Clin. Infect. Dis. 2010; 50 (8): 1091-100.
2. Klimko N., Khostelidi S., Volkova A., et al. Mucormycosis in hematological patients: case report and results of prospective study in Saint-Petersburg, Russia. Mycoses. 2014; 57: 91-96.
3. 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.
4. Priya A. Prasad, Ana M. Vaughan and Theoklis E. Zaoutis Trends in zygomycosis in children. Mycoses. 2012; 55: 352-356.
5. Jan Dabritz, Andishe Attarbaschi, Kathrin Tintelnot, et al. Mucormycosis in paediatric patients: demographics, risk factors and outcome of 12 contemporary cases. Mycoses. 2011; 54: E785-788.
6. Pana Z.D., Seidel D., Skiada A., et al. Invasive mucormycosis in children: an epidemiologic study in European and non-European countries based on two registries. BMC Infectious Diseases. 2016; 16: 667.
7. Muggeo P., Calore E., Decembrino N., et al. Invasive mucormycosis in children with cancer: A retrospective study from the Infection Working Group of Italian Pediatric Hematology Oncology Association. Mycoses. 2019; 62 (2): 165-170.
8. Tissot F., Agrawal S., Pagano L., et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. Haematologica. 2017; 102 (3): 433-444.
9. Petrikos G., Skiada A., Lortholary O., et al. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. Clin. Infect. Dis. 2012; 54 (1): 23-34.
10. Phulpin-Weibel A., Rivier A., Leblanc T., et al. Focus on invasive mucormycosis in paediatric haematology oncology patients: a series of 11 cases. Mycoses. 2013; 56: 236-240.
11. Cornely O.A., Arikian-Akdagli S., Danmaoui E., et al. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. Clin. Microbiol. Infect. 2014; 20 (1): 5-26.

Поступила в редакцию журнала 14.03.2019

Рецензент: М.А. Шевяков

КОМБИНАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕ- РОВ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬ- НОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕК- ЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ ГЕМА- ТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

^{1,2}Стома И.О.* (доцент кафедры, с.н.с.),
²Карпов И.А. (зав. кафедрой), ¹Искров И.А.
(доцент кафедры, зав. отделом), ¹Лендина И.Ю.
(зав. отделением), ¹Белявская К.И. (зав. лаб.),
¹Усс А.Л. (зам. директора)

¹Минский научно-практический центр хирургии,
трансплантологии и гематологии; ²Белорусский
государственный медицинский университет (кафедра
инфекционных болезней), Минск, Республика Беларусь

Цель исследования – оценка диагностических характеристик комбинаций биологических маркеров сепсиса в ранней диагностике инвазивных микозов у иммунокомпрометированных больных.

В исследование были включены взрослые пациенты гематологического профиля, получавшие химиотерапию по поводу опухолевых заболеваний клеточной ткани, с эпизодами подтвержденной/вероятной инвазивной грибковой инфекции, а также с микробиологически подтвержденной бактериальной инфекцией кровотока. Уровни С-реактивного белка, а также прокальцитонина или пресепсина определяли в свежей крови пациентов в течение первых 48 часов от начала фебрильного эпизода. ROC-анализ в комбинации с логистической регрессией применяли для определения диагностических характеристик комбинаций биологических маркеров.

Всего в исследование было включено 64 пациента, в том числе 53 – с подтвержденной бактериальной инфекцией и 11 – с инвазивными микозами. По результатам анализа уровень С-реактивного белка >120 мг/л в сочетании с уровнем прокальцитонина <1,25 нг/мл или пресепсина <170 пг/мл является ранним комбинированным диагностическим показателем инвазивного микоза у иммунокомпрометированных лиц, при этом площади под ROC-кривыми следующие: 0,962 (95% ДИ 0,868-0,995) – для комбинации с прокальцитонином и 0,907 (95% ДИ 0,692-0,990) – для комбинации с пресепсином.

Наличие значительного повышения уровня С-реактивного белка в сочетании с невысокими уровнями прокальцитонина или пресепсина является высокоинформативным диагностическим показателем инвазивного микоза на фоне иммуносупрессии, что следует учитывать в клинической практике для раннего назначения эмпирической противогрибковой терапии.

Ключевые слова: инвазивные микозы, лабораторная диагностика, фебрильная нейтропения, С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин

BIOMARKERS COMBINATIONS IN DIFFERENTIAL DIAGNOS- TICS OF INVASIVE MYCOSES AND BACTERIAL INFECTIONS IN HEMATOLOGICAL PATIENTS

^{1,2}Stoma I.O. (associate professor of the department,
senior scientific collaborator), ²Karpov I.A. (head of
the department), ¹Iskrov I.A. (associate professor
of the department, head of the department of cell

* Контактное лицо: Стома Игорь Олегович,
e-mail: igor.stoma@gmail.com

transplants), ¹Lendina I.Yu. (head of the department
of hematology), ¹Belyavskaya K.I. (head of the
laboratory), ¹Uss A.L. (deputy director)

¹Minsk Scientific Practical Center of Surgery, Transplantation
and Hematology; ²Belarusian State Medical University
(Department of Infectious Diseases), Minsk, Belarus

The aim of the study was to assess the diagnostic characteristics of combinations of sepsis biological markers in the early diagnosis of invasive mycoses in immunocompromised patients.

Hematological patients hospitalized to receive chemotherapy with proven or probable invasive fungal infection or microbiologically proven bacterial bloodstream infection were included in the study. C-reactive protein was assessed daily during the profound neutropenia period, while procalcitonin or presepsin were measured during the first 48 hours after the onset of febrile episode.

There were totally 64 patients included in the study, 53 with bacterial bloodstream infections and 11 with invasive fungal infections. Combination of CRP>120 with PCT<1,25 or presepsin<170 was shown to be an effective combined biomarker for invasive fungal infections in immunocompromised patients, with areas under the ROC-curves: 0,962 (95% CI 0,868 to 0,995) for PCT-based combination and 0,907 (95% CI 0,692 to 0,990) for presepsin-based combination.

The presence of a significant increase of the level of C-reactive protein in combination with low levels of procalcitonin or presepsin is highly informative diagnostic indicator of invasive mycosis against the background of immunosuppression, which need to consider in clinical practice for early prescribe of empirical antifungal therapy.

Key words: invasive mycoses, laboratory diagnostics, febrile neutropenia, C-reactive protein, procalcitonin, presepsin

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивные микозы (ИМ) являются актуальной угрозой для значительной популяции иммунокомпрометированных лиц, в том числе пациентов с химиотерапевтически-индуцированной нейтропенией. Ранний диагноз, а также дифференциальная диагностика с бактериальными инфекциями весьма затруднена, что часто приводит к задержке назначения эмпирической противогрибковой терапии и повышает риск фатального исхода. Доступность, срок выполнения и диагностические характеристики тестов на специфические грибковые антигены все еще невысоки, в то время как ПЦР-диагностика грибковых инфекций недостаточно изучена в клинической практике. В то же время биологические маркеры сепсиса (прокальцитонин, С-реактивный белок, пресепсин) уже широко внедрены в практику и рутинно применяются в большинстве стационаров.

На сегодняшний день *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. являются двумя наиболее важными родами, составляющими около 95% всех случаев инвазивных микозов [1], а ранняя диагностика ИМ по-прежнему остается сложной проблемой [2, 3]. В дополнение к клиническим и инструментальным данным широко используют определение антигена галактоманна при аспергиллезе и маннанового антигена при кандидемии. Однако концентрация этих антигенов напрямую связана с инвазивностью инфекционных агентов [4-6]. ПЦР-диагностику считают перспективным методом подтверждения ИМ, однако пока не рекомендуют для рутинного применения в клинической практике из-за отсутствия окончательной валидации коммерчески доступных анализов, различий в методологии в литературе и вопросов о том, в какой степени результаты помогают различить инфекцию и колонизацию патогеном [7]. Отметим, что именно из-за сложности в диагностике и подтверждении грибковой этиологии в

международных рекомендациях ИМ все ещё классифицируются по шкале вероятности: доказанной, вероятной и возможной этиологии [7, 8].

Основываясь на текущих рекомендациях Европейской конференции по инфекциям при лейкозах и рекомендациях Общества инфекционных заболеваний Америки, в случае фебрильной нейтропении эмпирическую противогрибковую терапию назначают только после 72-96 часов антибактериальной терапии широкого спектра действия в отсутствии клинического улучшения [9, 10]. Это означает, что во многих случаях пациенты с нейтропенией и грибковой инфекцией не получают никакого эффективного лечения, по крайней мере, в течение первых 72 часов эпизода лихорадки, что может иметь ожидаемый эффект, вплоть до летального исхода. В связи с этим крайне необходимо улучшить раннюю дифференциальную диагностику между бактериальными и грибковыми инфекциями у пациентов с лихорадкой и нейтропенией.

На современном этапе биологические маркеры входят в число широко используемых диагностических методов, а наиболее часто применяют С-реактивный белок (СРБ), пресепсин, прокальцитонин (ПКТ).

В то время как уровни СРБ повышаются на фоне целого ряда неинфекционных заболеваний и служат для мониторинга воспаления во многих областях медицины, увеличение уровня ПКТ непосредственно связано с инфекциями бактериальной этиологии [11-14]. Пресепсин (sCD14) – новый биологический маркер, внедренный в клиническую практику в 2004 г., является рецептором комплексов липополисахарид-липополисахарид-связывающий белок (LPS-LBP) и генерируется как реакция организма на бактериальную инфекцию, при этом важную роль играет именно процесс антибактериального фагоцитоза, а не только воспалительный ответ [15-17]. Сегодня отсутствует достаточная информация об использовании пресепсина у гематологических пациентов, и существует практическая необходимость оценить диагностические характеристики комбинаций биологических маркеров при развитии ИМ у пациентов с иммуносупрессией.

В качестве практической основы для этого исследования мы приняли клинический опыт в Республиканском центре гематологии и трансплантации костного мозга в г. Минск, где имел место ряд случаев противоположных результатов биологических маркеров сепсиса, а именно увеличение СРБ и низкие уровни ПКТ или пресепсина у пациентов с впоследствии подтвержденными ИМ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проспективное обсервационное клиническое исследование проводили на базе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» в период с 2013 по 2018 гг. В него были включены взрослые пациенты, госпитализированные для химиотерапии опухолевых заболеваний кровяной ткани, с эпизодом грибковой или бактериальной инфекции, подтвержденной микробиологическими методами. Критерии фебрильной нейтропении были приняты на основе определения Общества инфекционных заболеваний Америки [10]. Начало фебрильного эпизода у всех больных было в период госпитализации. Образцы крови (для микробиологи-

ческого анализа и исследования уровня биомаркеров) взяты до начала эмпирической антибактериальной терапии, а все биомаркеры измерены в свежей плазме в первые 48 часов от начала фебрильного эпизода.

СРБ определяли в крови автоматическим биохимическим анализатором Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, Иллинойс, США) с реагентами Dialab (Вена, Австрия). ПКТ в крови выявляли автоматическим анализатором miniVIDAS/Blue с реагентами VIDAS BRAHMS PCT от BioMerieux (Marcy l'Etoile, Франция). Пресепсин измеряли с помощью автоматического анализатора PATHFAST компании Mitsubishi Chemical Medience Corporation (Токио, Япония). Выделение патогенов осуществляли стандартными средствами с помощью стандартных аэробных/анаэробных флаконов BacT/ALERT и автоматизированной системы микробиологической детекции BacT/ALERT, Biomerieux (Marcy l'Etoile, Франция).

Клиническая диагностика инвазивных микозов была основана на классификации вероятностей: доказано/вероятно/возможно [7, 18, 19]. Тест на галактоманн крови и компьютерную томографию органов грудной клетки проводили у всех пациентов с изменениями на рентгенограмме грудной клетки и критериями фебрильной нейтропении. Инфекции кровотока диагностировали в соответствии с критериями Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC) [20]. В случае выделения коагулазонегативного стафилококка (CNS) в крови больного, для исключения контаминации, руководствовались следующими критериями клинической значимости возбудителя: изоляция из обычно стерильного клинического материала в количестве более 10^5 КОЕ/мл; повторное выделение идентичного по антибиотикограмме возбудителя из одного и того же локуса в последовательных посевах или одновременная изоляция из крови и минимум одного дополнительного локуса; отсутствие альтернативных возбудителей инфекции. Для наиболее точного разделения этиологии инфекционных осложнений в исследование не включали пациентов с микст-инфекциями или одновременным выделением бактериальных и грибковых возбудителей, в том числе по причине сложности разделения инфекционного агента и колонизирующего микроорганизма. Несмотря на то, что нередким является сочетание бактериальной и грибковой инфекции у лиц с химиотерапевтически-индуцированной нейтропенией, в данном исследовании такие случаи не учитывали, так как оценивали диагностические комбинации биомаркеров именно для дифференциальной диагностики бактериальной и грибковой этиологии осложнений, а микст-инфекции намеренно не изучали. По результатам исследования все пациенты были определены в группу с бактериальной или грибковой инфекцией. Стандартные протоколы эмпирической антибактериальной терапии фебрильной нейтропении включали эскалационную стратегию на основе цефепима или цефтазидима или дескалационную стратегию на основе высоких доз антисинегнойных карбапенемов. В рамках эмпирической противогрибковой терапии применяли эхинокандины (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин) или вориконазол в стандартных дозировках. Для противогрибковой профилактики назначали флуконазол или микафунгин. Работу выполняли в соответствии с

принципами обсервационных исследований STROBE.

Статистический анализ

Для оценки диагностических параметров биомаркеров [22] был проведен ROC-анализ методом DeLong. Согласно данным Montagna и соавторов, общая распространенность ИМ у взрослых с гематологическими новообразованиями оценена в 5% в ROC-анализе [23]. Индекс J (Youden) и область под кривой (AUC) были использованы для обобщения результатов диагностического теста. Стоимость ложноотрицательного результата (FN) принята в анализе в два раза дороже, чем ложноположительного (FP). Анализ диагностических параметров комбинации биомаркеров осуществляли с использованием модели логистической регрессии с двумя биомаркерами в качестве переменных и последующего ROC-анализа прогнозируемых вероятностей из регрессионной модели. Вероятности $p < 0,05$ считали значимыми. Обработку, анализ и построение графиков выполняли с помощью R версии 3.4.0 (R Development Core Team, Вена, Австрия) и MedCalc версии 16.4.3 (MedCalc Software bvba, Остенде, Бельгия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период 2013-2018 гг. в исследовании участвовали 64 больных с критериями включения. Демографические и клинические характеристики пациентов представлены в таблице 1, этиологическая структура инфекций подробно показана в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Основные клинические и демографические характеристики пациентов в исследовании, видовая характеристика выделенных микроорганизмов

Характеристика	Абс. количество (%)
Возраст (медиана, интеркв. интервал)	41 (34-51)
Пол (муж.)	34 (54)
Основной диагноз:	
Острый миелолейкоз	42 (66,7)
Острый лимфолейкоз	6 (9,4)
Множественная миелома	5 (7,8)
Лимфома Ходжкина	4 (6,2)
Неходжкинские лимфомы	3 (4,7)
Хронический миелолейкоз	2 (3,1)
Апластическая анемия	1 (1,6)
Миелодиспластический синдром	1 (1,6)
Абс. число нейтрофилов < 500 кл/мкл	48 (75,0)
Этиология инфекционного эпизода	
Бактериальная:	
Грам (-):	39 (60,9)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21 (32,8)
<i>Escherichia coli</i>	11 (17,2)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4 (6,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 (3,1)
<i>Proteus spp.</i>	1 (1,6)
Грам (+):	14 (21,9)
CNS	9 (14,1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 (1,6)
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (1,6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (4,7)
Грибковая:	
<i>Candida albicans</i>	3 (4,7)
<i>Candida glabrata</i>	1 (1,6)
<i>Candida krusei</i>	1 (1,6)
<i>Aspergillus spp.</i>	6 (9,4)

*CNS – коагулазонегативные стафилококки

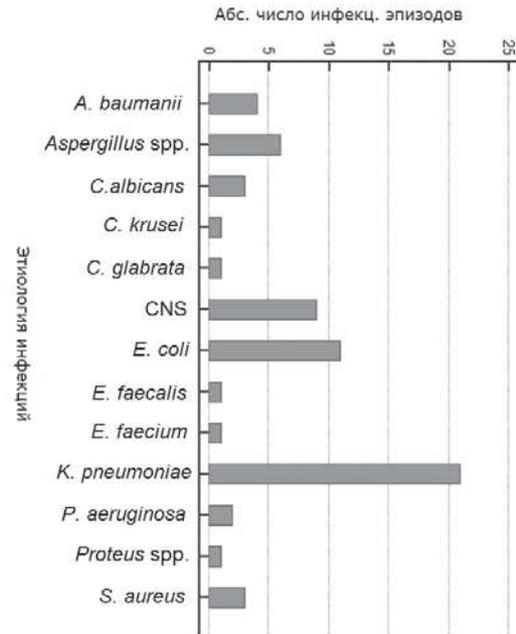


Рис 1. Этиологический спектр инфекций у пациентов в исследовании.

Таким образом, в этиологию бактериальных инфекций кровотока наибольший вклад внесли грамотрицательные возбудители, а именно представители *Enterobacteriaceae* spp., в частности *K. pneumoniae* (21/32,8%) и *E. coli* (11/17,2%). Среди грибковых инфекций наблюдали кандидемии, вызванные *C. albicans* (3/4,7%), *C. krusei* (1/1,6%) и *C. glabrata* (1/1,6%), а также инвазивный аспергиллёз лёгких (6/9,4%), установленный на основании микроскопического подтверждения *Aspergillus* spp. в мокроте больного в комбинации с характерными изменениями на КТ органов грудной клетки и положительным тестом на галактоманнан в крови. Видовую характеристику *Aspergillus* spp. в данном исследовании не проводили. В ходе предварительного анализа мы уже отмечали, что у большинства пациентов с ИМ был невысокий уровень ПКТ или пресепсина и резко повышенный уровень СРБ, что соответствовало нашему клиническому опыту. В качестве первого шага ROC-анализа мы провели оценку оптимальной точки порогового значения для диагностики ИМ для всех изучаемых биомаркеров на основе индекса J (табл. 2).

Таблица 2.

Результаты определения оптимальной точки порогового значения для диагностики ИМ

	С-реактивный белок	Прокальцитонин	Пресепсин
Индекс J	0,443	0,786	0,600
Оптимальное пороговое значение	>120,4 мг/л	<=1,26 нг/мл	<=173 пг/мл

Основываясь на полученных данных, был выполнен второй этап анализа для оценки диагностических характеристик комбинаций «низкий уровень ПКТ и высокий уровень СРБ» и «низкий уровень пресепсина и высокий уровень СРБ» с обозначенными пороговыми значениями. По результатам второго этапа ROC-анализа, обе комбинации показали высококачественные диагностические характеристики (Табл. 3, Рис. 2 и 3).

Таблица 3

Диагностические характеристики комбинаций СРБ, ПКТ и пресепсина у пациентов с инвазивными микозами

Диагн. характеристика	Комбинация биомаркеров	
	ПКТ <1,25 нг/мл и СРБ >120 мг/л	Пресепсин <170 пг/мл и СРБ >120 мг/л
Площадь под ROC-кривой	0,962 (95% CI 0,868-0,995)	0,907 (95% CI 0,692-0,990)
Диаг. чувствительность (%)	90,0 (95% CI 55,5-99,7)	80,0 (95% CI 28,4-99,5)
Диаг. специфичность (%)	92,9 (95% CI 80,5-98,5)	86,67 (95% CI 59,5-98,3)
Пол. отн. правдоподобия	12,6 (95% CI 4,2-38,2)	6,0 (95% CI 1,5-23,4)
Отр. отн. правдоподобия	0,11 (95% CI 0,02-0,70)	0,23 (95% CI 0,04-1,3)
Пол. прогност. ценность	39,9 (95% CI 17,9-66,8)	24,0 (95% CI 7,5-55,2)
Отр. прогност. ценность	99,4 (95% CI 96,5-99,9)	98,8 (95% CI 93,4-99,8)
Станд. ошибка площади	0,0287	0,0758
Значение p площади	<0,0001	<0,0001
Стоимость	0,0779	0,147
Индекс J	0,83	0,6667

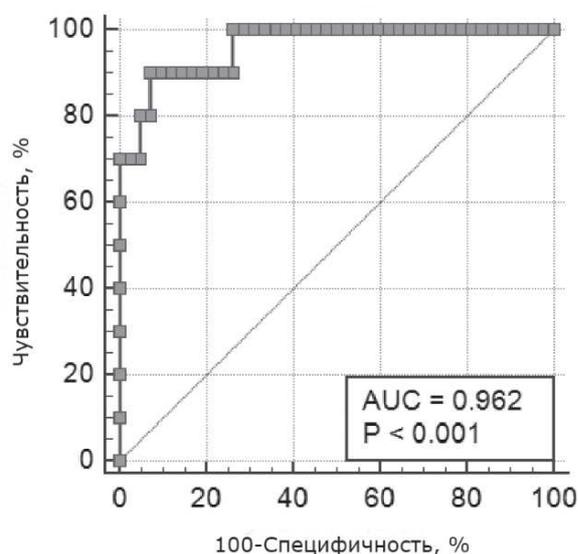


Рис. 2. ROC-кривая для комбинации ПКТ <1,25 нг/мл и СРБ >120 мг/л у пациентов с ИМ.

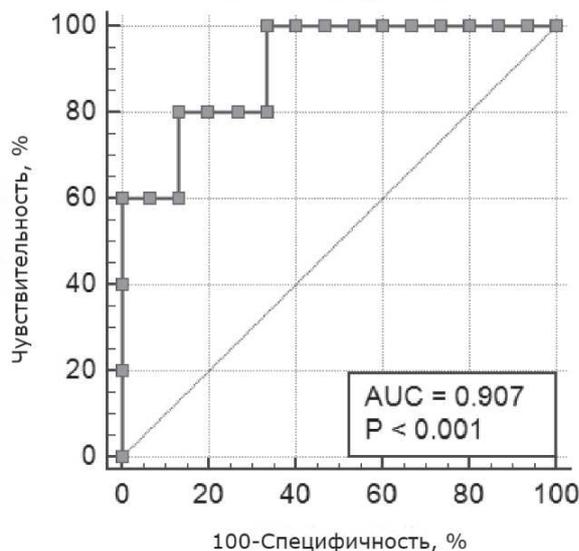


Рис. 3. ROC-кривая для комбинации пресепсин <170 пг/мл и СРБ >120 мг/л у пациентов с ИМ.

Таким образом, обе комбинации продемонстрировали высококачественные диагностические характеристики. На заключительном этапе анализа мы провели парное сравнение ROC-кривых для описанных комбинаций биомаркеров («низкий ПКТ и высокий СРБ» в сравнении с «низкий пресепсин и высокий СРБ») методом DeLong и не обнаружили значимых различий в диагностических характеристиках (разница между площадями ROC – 0,0933, ст. ошибка – 0,0758; 95% ДИ 0,0552-0,242, $p = 0,2180$).

Выполненное исследование является клиническим обоснованием использования комбинаций пресепсина, СРБ и ПКТ для ранней диагностики инвазивных микозов и инициации эмпирического противогрибкового лечения. Отметим, что наши результаты не противоречат данным исследований, выполненных на других популяциях пациентов, однако получены на большей выборке и включают показатели в отношении трёх наиболее распространенных биологических маркеров [24-25]. Повышение СРБ наблюдали у большинства больных в нашем исследовании, тогда как повышение ПКТ или пресепсина – только у пациентов с бактериальными инфекциями. О низкой практической ценности измерения ПКТ как маркера грибковых инфекций ранее показано в публикациях [26-28], в то время как работ на тему использования пресепсина в качестве диагностического маркера грибковых инфекций в процессе систематического поиска в сети PubMed по ключевым словам «presepsin AND fungal infections» не найдено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные, позволяющие расценивать повышение уровня СРБ (более 120 мг/л) в сочетании с низким уровнем ПКТ (<1,25 нг/мл) или низким уровнем пресепсина (<170 пг/мл) в качестве комбинированного раннего диагностического биомаркера инвазивной грибковой инфекции у пациентов с иммуносупрессией. Данные лабораторных исследований стоит расценивать как основание для инициации эмпирической противогрибковой терапии при фебрильной нейтропении, что может оказать положительное влияние на выживаемость в данной клинически сложной группе пациентов.

Конфликт интересов

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в связи с предметом или материалами, обсуждаемыми в публикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Tacke D., Buchheidt D., Karthaus M., et al.* Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies. 2014 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party of the German Society for Haematology and Oncology. *Ann Hematol.* 2014; 93 (9): 1449-56.
2. *Lamoth F., Calandra T.* Early diagnosis of invasive mould infections and disease. *J. Antimicrob. Chemother.* 2017; 72 (1): i19-28.
3. *Hoeningl M., Zollner-Schwetz I., Sill H., et al.* Epidemiology of invasive fungal infections and rationale for antifungal therapy in patients with haematological malignancies. *Mycoses.* 2011; 54 (5): 454-9.
4. *Hope W.W., Kruhlak M.J., Lyman C.A., et al.* Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* and the kinetics of galactomannan in an in vitro model of early invasive pulmonary aspergillosis: implications for antifungal therapy. *J. Infect. Dis.* 2007; 195 (3): 455-66.
5. *Marr K.A., Balajee S.A., McLaughlin L., et al.* Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (3): 641-9.
6. *Maertens J., Buvé K., Theunissen K., et al.* Galactomannan serves as a surrogate endpoint for outcome of pulmonary invasive aspergillosis in neutropenic hematology patients. *Cancer.* 2009; 115 (2): 355-62.
7. *Patterson T.F., Thompson G.R., Denning D.W., et al.* Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63 (4): e1-60.
8. *Hoeningl M., Strenger V., Buzina W., et al.* European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) host factors and invasive fungal infections in patients with haematological malignancies. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012; 67 (8): 2029-33.
9. *Averbuch D., Orasch C., Cordonnier C., et al.* European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica.* 2013; 98 (12): 1826-35.
10. *Freifeld A.G., Bow E.J., Sepkowitz K.A., et al.* Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin. Infect. Dis. Off Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2011; 52 (4): e56-93.
11. *Reinhart K., Meisner M.* Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin. *Crit. Care Clin.* 2011; 27 (2): 253-63.
12. *Kim D.Y., Lee Y-S., Ahn S., et al.* The Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein as early diagnostic markers of bacteremia in cancer patients with febrile neutropenia. *Cancer Res. Treat. Cancer. Res. Treat.* 2011; 43 (3): 176-80.
13. *Aimoto M., Koh H., Katayama T., et al.* Diagnostic performance of serum high-sensitivity procalcitonin and serum C-reactive protein tests for detecting bacterial infection in febrile neutropenia. *Infection.* 2014; 42 (6): 971-9.
14. *Fleischhack G., Cipic D., Juettner J., et al.* Procalcitonin—a sensitive inflammation marker of febrile episodes in neutropenic children with cancer. *Intensive Care Med.* 2000; 26 (2): S202-11.
15. *Shozushima T., Takahashi G., Matsumoto N., et al.* Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J. Infect. Chemother Off J. Jpn. Soc. Chemother.* 2011; 17 (6): 764-9.
16. *Zou Q., Wen W., Zhang X-C.* Presepsin as a novel sepsis biomarker. *World J. Emerg. Med.* 2014; 5 (1): 16-9.
17. *Shirakawa K., Naitou K., Hirose J., et al.* Presepsin (sCD14-ST): development and evaluation of one-step ELISA with a new standard that is similar to the form of presepsin in septic patients. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2011; 49 (5): 937-9.
18. *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. Off Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2008; 46 (12): 1813-21.
19. *Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D.R., et al.* Executive Summary: Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis. Off Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2016; 62 (4): 409-17.
20. *Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection).* Available at: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clabscurrent.pdf. Accessed 13 March 2018.
21. *Tissot F., Agrawal S., Pagano L., et al.* ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica.* 2017; 102 (3): 433-44.
22. *DeLong E.R., DeLong D.M., Clarke-Pearson D.L.* Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988; 44 (3): 837-45.
23. *Montagna M.T., Giglio O.D., Napoli C., et al.* Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies (Aurora Project): lights and shadows during 18-months surveillance. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13 (1): 774-87.
24. *Marková M., Brodská H., Malíčková K., et al.* Substantially elevated C-reactive protein (CRP), together with low levels of procalcitonin (PCT), contributes to diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients. *Support Care Cancer.* 2013; 21 (10): 2733-42.
25. *Martini A., Gottin L., Menestrina N., et al.* Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J. Infect.* 2010; 60 (6): 425-30.
26. *Montagna M.T., Coretti C., Caggiano G.* Procalcitonin: a possible marker of invasive fungal infection in high risk patients? *J. Prev. Med. Hyg.* 2011; 52 (1): 38-9.
27. *Blijlevens N.M., Donnelly J.P., Meis J.F., et al.* Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2000; 7 (6): 889-92.
28. *Petrikos G.L., Christofilopoulou S.A., Tentolouris N.K., et al.* Value of measuring serum procalcitonin, C-reactive protein, and mannan antigens to distinguish fungal from bacterial infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.* 2005; 24 (4): 272-5.

Поступила в редакцию журнала 28.12.2018

Рецензент: Н.Н. Климко

МИКОЗ КОЖИ, ВЫЗВАННЫЙ *NANNIZZIA INCURVATA* (РАНЕЕ – *MICROSPORUM INCURVATUM*): ОПИСАНИЕ РЕДКОГО КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

¹Серебрякова И.С. (ассистент кафедры)*, ¹Корнишева В.Г. (профессор кафедры), ¹Раводин Р.А. (доцент кафедры), ¹Левина Ю.В. (ассистент кафедры), ²Богданова Т.В. (ассистент кафедры), ³Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ²Пчелин И.М. (аспирант кафедры), ³Спиридонова В.А. (н.с.), ²Алексеев А.Ю. (студент), ¹Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: ¹кафедра дерматовенерологии; ²кафедра медицинской микробиологии; ³НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

Впервые в России описан клинический случай микоза гладкой кожи, вызванный дерматомицетами *Nannizzia incurvata*, у мужчины 42 лет, с длительностью болезни 4 недели. Инфицирование произошло в Италии во время отдыха на морском побережье. На разгибательной поверхности левого предплечья имелся округлый эритемато-сквамозный очаг диаметром 6 см с четкими границами неправильной формы. Выделенный в культуру возбудитель определен морфологически и идентифицирован методом ДНК-секвенирования. Клиническое и микробиологическое выздоровление наступило после трехнедельного курса тербинафина.

Ключевые слова: микроспория гладкой кожи, *Microsporum incurvatum*, *Nannizzia incurvata*

MYCOSIS OF SKIN CAUSED BY *NANNIZZIA INCURVATA* (FORMERLY *MICROSPORUM INCURVATUM*): A RARE CASE REPORT

¹Serebryakova I.S. (assistant of the department), ¹Kornisheva V.G. (professor of the department), ¹Ravodin R.A. (associate professor of the department), ¹Levina Yu.V. (assistant of the department), ²Bogdanova T.V. (assistant of the department), ³Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ²Pchelin I.M. (postgraduate student), ³Spiridonova V.A. (scientific collaborator), ¹Alekseev A.Y. (student), ¹Raznatovsky K.I. (head of the department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: ¹Department of Dermatovenereology; ²Department of Medical Microbiology; ³Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia

For the first time in Russia a clinical case of skin mycosis caused by *Nannizzia incurvata* in 42-year-old man with disease duration of 4 weeks was described.

Infection occurred in Italy during a vacation on the seaside. There was a rounded erythematous-squamous focus with a diameter of 6 cm with distinct irregular shape borders on the surface of the left forearm. The pathogen

* Контактное лицо: Серебрякова Ирина Сергеевна, e-mail: i.serebryakova.dok@mail.ru

isolated in culture was identified morphologically and by DNA sequencing. Clinical and microbiological recovery occurred after a three-week course of terbinafine.

Key words: tinea incognito, *Microsporum incurvatum*, *Nannizzia incurvata*

ВВЕДЕНИЕ

Микроспория – это высококонтагиозный микоз кожи, волосистой части головы, реже – ногтей, возбудителями которой являются группы дерматомицетов рода *Microsporum*: антропофильные (*M. ferrugineum*, *M. audouinii*), зоофильные (*M. canis*, *M. distortum*), геофильные (*M. gypseum*, *M. nanum*). При микроскопии пораженного волоса обнаруживаются мелкие споры внутри волоса, расположенные группами, мозаично и снаружи в виде муфты из спор. В кожных чешуйках – септированный мицелий. В эпидемических процессах европейской части России доля *M. canis* составляет 99%, *M. ferrugineum* – около 1%, *M. gypseum* – около 0,5%. Микроспория, вызванная *M. canis*, является доминирующим микозом гладкой кожи и волосистой части головы в детском возрасте [1, 2]. Заражение происходит в основном при контакте с больными животными (кошками) или через предметы, инфицированные их шерстью. Для микроспории характерна сезонность. Осенью отмечается подъем заболеваемости микроспорией среди детей. По глубине поражения выделяют: поверхностную микроспорию волосистой части головы; поверхностную микроспорию гладкой кожи (с поражением пушковых волос, без поражения пушковых волос); глубокую нагноительную микроспорию [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования патологического материала из очага поражения использовали следующие лабораторные методы диагностики: прямая светлопольная и люминесцентная микроскопия препаратов из соскобов эпидермальных чешуек, изоляция в культуру и идентификация морфологическими и молекулярно-биологическими методами.

Для прямой микроскопии готовили препараты исследуемого биологического материала с применением раствора, состоящего из 10% раствора гидроксида калия (KOH), димексида (диметилсульфоксид, DMSO) 400 мл/л, 0,001% метиленового синего и дистиллированной воды 600 мл/л [3]. Препараты просматривали в световом, а затем в люминесцентном микроскопе с добавлением раствора Калькофлюора белого с синим Эванса. Отмечали наличие или отсутствие морфологических структур микромицетов.

Образцы соскобов эпидермальных чешуек засеивали альтернативным (арбитражным) методом – однократным посевом в 20 точек на агар Сабуро в модификации Эммонса с 2% глюкозы и с антибиотиком хлорамфениколом (40 мг/л). Инкубацию проводили при 28 °C в течение 2-3 недель. Чувствительность изолированного возбудителя к воздействию антимикотических препаратов *in vitro* определяли методом микротитрования [4].

Выделение ДНК осуществляли при помощи набора GeneJET Plant Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва) по модифицированному протоколу производителя [5]. Баркодовые локусы ITS и *TEF1α* амплифицировали с использо-

ванием стандартного набора реактивов фирмы Синтол (Москва) в термоциклере C1000 Touch (Bio-Rad, США). Для амплификации региона ITS с праймерами ITS5 GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG и ITS4 TCCTCCGCTTATTTGATATGC [6] применяли программу 95 °C 5 мин; [95 °C 30 с, 56 °C 30 с, 72 °C 1 мин] × 34; 72 °C 10 мин. Локус *TEF1α* амплифицировали с праймерами A133_F1 GAYTTCATCAAGAACATGAT и A133_R2 GACGTTGAADCCCRACRTTGTC [7] по программе 95 °C 5 мин; [94 °C 30 с, 48 °C 45 с, 72 °C 1 мин] × 40; 72 °C 7 мин. Полученные продукты ПЦР очищали набором BigDye Xterminator Purification Kit (Applied Biosystems, США) и секвенировали, как описано ранее [8].

Полученные нуклеотидные последовательности депонировали в базе данных Генбанк под номерами доступа МК631952 (регион ITS) и МК636672 (локус *TEF1α*).

Описание клинического случая

Больной Б, 42 года, житель Санкт-Петербурга, обратился на амбулаторный прием в НИИ медицинской микологии имени П.Н. Кашкина с жалобами на поражение кожи правого предплечья, беспокоившее его на протяжении 4-х недель. В августе пациент отдыхал на морском побережье Италии. В сентябре, после возвращения в Санкт-Петербург, отметил появление розоватого пятна на разгибательной поверхности левого предплечья. Лечился у дерматолога в частной клинике с диагнозом «экзема». В течение 3-х недель получал наружную терапию (комбинированные наружные средства, содержащие глюкокортикостероид, антибиотик, антимикотик) без выраженного эффекта. В детстве пациент страдал атопическим дерматитом.

При осмотре на разгибательной поверхности левого предплечья выявили округлый эритемато-сквамозный очаг диаметром 6 см с четкими неправильной формы фестончатыми границами. По периферии очага наблюдали отслаивающийся роговой слой эпидермиса. Рост волос в очаге не определялся (Рис.1).



Рис.1. Первичный осмотр: на разгибательной поверхности левого предплечья – округлый эритемато-сквамозный очаг диаметром 6 см с четкими неправильной формы фестончатыми границами. По периферии очага – отслаивающийся роговой слой эпидермиса.

Кожные покровы разгибательных поверхностей конечностей и туловища были сухие. Манifestные проявления атопического дерматита отсутствовали.

На основании жалоб, данных анамнеза и клинической картины поставлен диагноз «микоз гладкой кожи». Для лабораторного микробиологического подтверждения диагноза с очага поражения был взят соскоб кожных чешуек. После получения положительного результата микроскопического исследования пациенту был назначен тербинафин по 250 мг в сутки, курс – 3 недели; наружно – крем 1% гидрохлорид тербинафина 2 раза в день. После проведенного лечения в очаге воспалительные явления разрешились (Рис. 2). Клиническое выздоровление подтверждено тоекратно выполненным контрольным исследованием соскобов кожных чешуек с бывшего очага поражения.



Рис.2. После лечения: в очаге воспалительные явления разрешились.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При прямом микрокопировании биоматериала, полученного от пациента на первичном приеме, обнаружено большое количество фрагментов бесцветного септированного ветвящегося мицелия (Рис. 3 – 1а, б). При исследовании биоматериала, полученного при заборе образцов соскобов эпидермальных чешуек в процессе лечения, выявили деструктивный мицелий (Рис. 3 – 2а, б). В дальнейшем при контроле терапии при прямом микроскопическом исследовании соскобов мицелиальных фрагментов не наблюдали, но отмечали единичные округлые почкующиеся клетки микромицета р. *Malassezia* (Рис. 3 – 3а, б).

На питательных средах получен рост колоний культуры во всех 20 точках первичного посева. Выросшие культуры нитчатых грибов идентифицировали до вида сначала по макро- и микроморфологическим признакам как *Microsporum incurvatum* [9] (Рис. 4) и далее ДНК-секвенированием как *Nannizzia incurvata* (ранее – *Microsporum incurvatum*). Колонии на питательной среде Сабуро – «растекающиеся», порошкообразные, сначала белого цвета, вскоре приобретали коричнево-коричневую окраску; обратная сторона колонии имела винно-красный цвет (Рис. 4). При микроскопии обнаружили обилие веретенообразных тонкостенных макроконидий с поперечными перегородками и зернистой поверхностью.

При посеве биоматериала, полученного в процессе лечения, начиная с первого контрольного образца, роста колоний микроскопических грибов на питатель-

ных средах не наблюдали.

Определение изолята по нуклеотидным последовательностям при помощи метода полифазной идентификации референсной базы данных ISHAM <http://its.mycologylab.org/> [10] было неудачным. Ближайшее совпадение составило только 90%. Поэтому инструментом Blastn был проведен поиск в базе данных Генбанк <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>. Наибольшее сходство с полученными последовательностями проявили изоляты видов *Nannizzia incurvata* и *Nannizzia gypsea*. Построение кладограммы с последовательностями региона ITS изучаемого изолята и типовых штаммов *N. gypsea* и *N. incurvata* [11] позволило отнести изолят, выделенный от пациента Б, к виду *N. incurvata*.

На основании результатов микробиологических исследований пациенту был выставлен диагноз микоза гладкой кожи, обусловленного геофильными грибами *Nannizzia incurvata* (ранее – *Microsporium incurvatum*).

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) антимикотиков по отношению к культуре возбудителя составили: к тербинафину – 16 мкг/мл, к итраконазолу – 0,125 мкг/мл, к гризеофульвину – 0,8 мкг/мл и к сертоконазолу нитрату (раствор для наружного применения) – 1 мкг/мл.

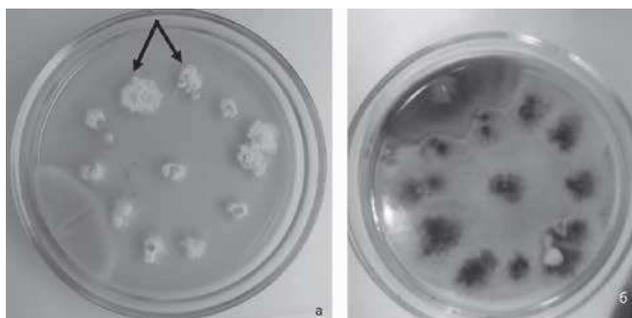


Рис. 4. Колонии *Microsporium incurvatum*, изолированные из образца биоматериала, через 14 суток после посева на питательную среду Сабуро (а; б – обратная сторона).

ОБСУЖДЕНИЕ

Частота встречаемости микроспории среди взрослых колеблется от 8 до 12%, в основном болеют женщины молодого возраста и подростки. У взрослых поражения волос практически не наблюдается, что можно объяснить наличием в волосах взрослых людей фунгистатических органических кислот. Особенностью данного случая является выявление микоза гладкой кожи у мужчины. *N. incurvata* высоко устойчива к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. Этой инфекцией болеют как дети, так и взрослые, имеющие контакт с землей [12, 13]. Представленный в нашей статье больной заболел во время отдыха на море. Вероятно, воздействие солнца, частые морские купания, тесный контакт с песком создали благоприятные условия для инфицирования. В научной литературе имеются сообщения о заболевании взрослых в Италии микозом, вызванным микромицетом,

близкородственным к выявленному возбудителю – *M. gypseum*, который развился после длительного профессионального контакта с почвой и пылью на фоне сниженного иммунитета [14]. Souza B. S. и соавторы (2016) указывали на значение контакта с песком в передачи инфекции *M. gypseum* [15].

Клинически поражение *M. gypseum* гладкой кожи не отличается от очагов при поверхностной трихофитии. Очаги округлой или овальной формы с резко отграниченным периферическим валиком, состоящим из пузырьков, корочек с умеренными воспалительными явлениями. Микроспория может осложняться вторичной пиококковой инфекцией [2]. Нераспознанный или стертый микоз (*Tinea incognito*) развивается у больных с любой инфекцией, вызванной дерматомицетами, которые с целью лечения применяли наружные глюкокортикостероиды. В результате развивается атипичная клиническая картина: в одних случаях – со скудными воспалительными явлениями, в других – с формированием концентрических везикулярных высыпаний, узлов или керион-подобных образований [16]. У нашего больного клинические проявления были выражены незначительно, так как в течение 3 недель он применял крем, содержащий глюкокортикостероид, антимикотик и антибиотик. Выздоровление наступило после трехнедельного курса тербинафина, несмотря на самую низкую чувствительность выделенной культуры к тербинафину (16 мкг/мл) по сравнению с другими антимикотиками ($p < 0,01$).

Giudice M.C. и соавторы [12] провели ДНК-секвенирование полученной культуры, которое позволило отнести ее к роду *Nannizzia*. Согласно современной филогенетической таксономии дерматомицетов, при секвенировании геофильные и зоофильные виды *Microsporium* подразделяются на *Arthroderma*, *Lophophyton* и *Nannizzia* [11]. ДНК-секвенирование более точно проводит детализацию родов грибов, что приводит к появлению новых подвидов. Молекулярный метод постепенно входит в микологическую практику. Так, для постановки диагноза микоза гладкой кожи, вызванного *Nannizzia* [13], наравне с традиционными микологическими методами, был использован молекулярный метод, с помощью которого была идентифицирована *Nannizzia* [12].

ВЫВОДЫ

Впервые в Санкт-Петербурге описан клинический случай микоза гладкой кожи, вызванный дерматомицетами *Nannizzia incurvata*, у мужчины 42 лет. Выделенный в культуру возбудитель определен морфологически и идентифицирован методом ДНК-секвенирования. Клиническое и микробиологическое выздоровление наступило после трехнедельного курса тербинафина, несмотря на низкую чувствительность культуры микромицета, определенную *in vitro*. Свойства *N. incurvata* как редко встречающегося возбудителя микроспории в дальнейшем будут тщательно исследованы.

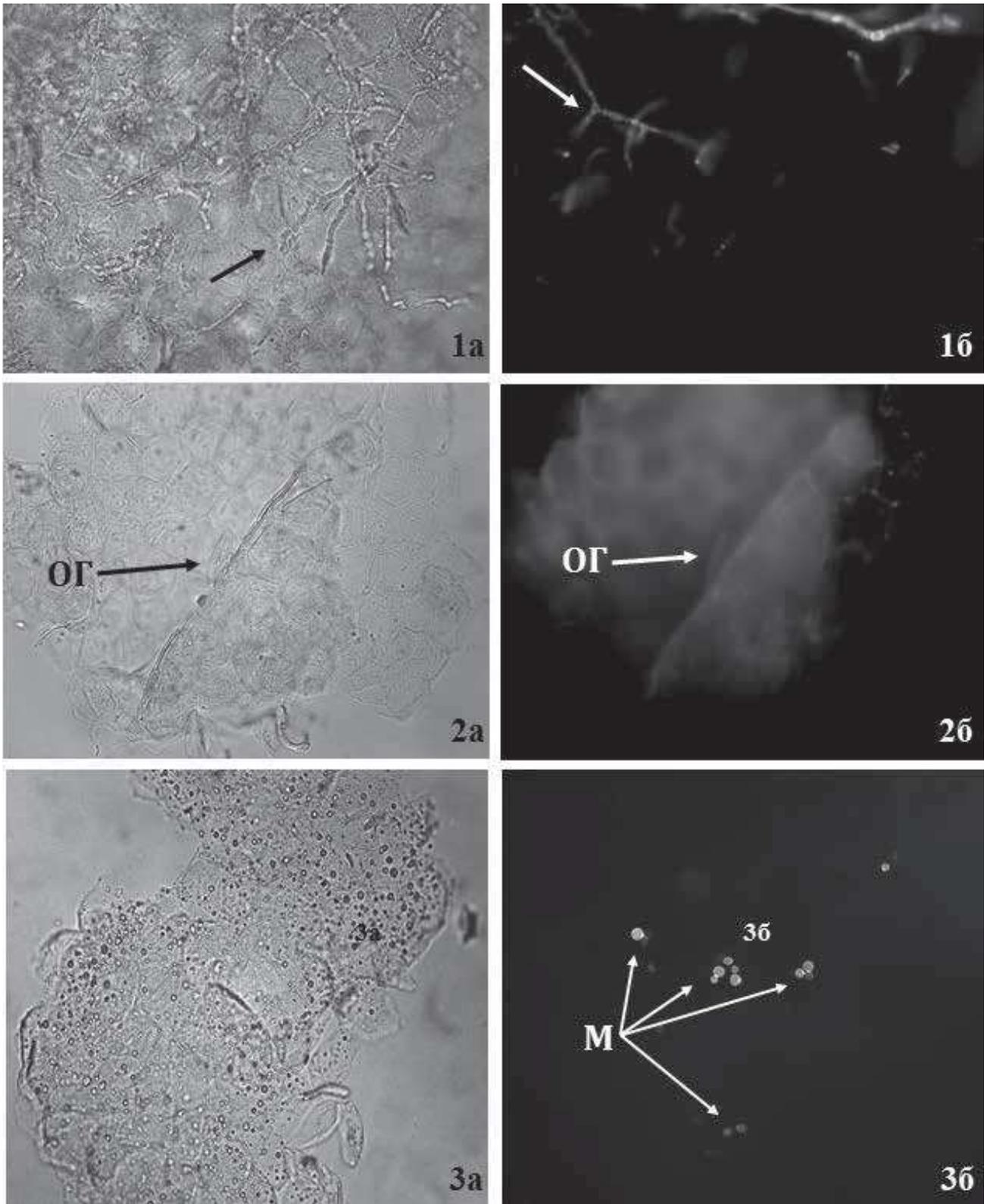


Рис. 3. Микроскопическое исследование биоматериала.
 1 – первичный прием (1а – световая микроскопия, 1б – люминесцентная микроскопия);
 2 – повторный прием (2а – световая микроскопия, 2б – люминесцентная микроскопия);
 3 – контроль лечения (3а – световая микроскопия, 3б – люминесцентная микроскопия).
 На рисунке стрелками показаны гифы микромицета;
 ОГ – деструктивный мицелий, М – микромицеты рода *Malassezia*.
 Ув.: – x400.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлев А.Б. Микроспория, трихофития, фавус. Пособие для врачей. М.: ООО «Новик», 2013: 135. [Yakovlev A.B. Mikrosporiya, trihofitiya, favus. Posobie dlya vrachej. M.: ООО «Novik», 2013: 135 (In Russ)].
2. Корнишева В.Г. Дерматомикозы. СПб., 2015:190 с. [Kornisheva V.G. DermatomiKOzy. SPb., 2015:190 s. (In Russ)].
3. *Laboratory Methods/Microscopy_Techniques_and_Stains/dmsO.html* (<http://www.mycology.adelaide.edu.au>).
4. Клинические рекомендации по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2018-03) [Электронный ресурс] URL: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf>. [Klinicheskie rekomendacii po opredeleniyu chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam (2018-03) (In Russ)].
5. Пчелин И.М., Крючкова М.А., Чилина Г.А. и др. Генетический полиморфизм серийных изолятов гриба *Trichophyton rubrum* (Castellani) – возбудителя онихомикоза и микоза стоп. Проблемы медицинской микологии. 2018; 20: 35-9. [Pchelin I.M., Kryuchkova M.A., Chilina G.A. i dr. Geneticheskij polimorfizm serijnyh izolyatov griba *Trichophyton rubrum* (Castellani) – vOzbuditelya onihomikoza i mikoza stop. Problemy medicinskoj mikologii. 2018; 20: 35-9 (In Russ)].
6. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M., Gelfand D., Sninsky J., White T (eds), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Orlando, FL: Academic Press, 1990: 315-22.
7. Robert V., Szöke S., Eberhardt U., et al. The quest for a general and reliable fungal DNA barcode. The Open and Applied Informatics Journal. 2011; 5: 45-61.
8. Pchelin I.M., Zlatogursky V.V., Rudneva M.V., et al. Reconstruction of phylogenetic relationships in dermatomycete genus *Trichophyton* Malmsten 1848 based on ribosomal internal transcribed spacer region, partial 28S rRNA and beta-tubulin genes sequences. Mycoses. 2016; 59: 566-75.
9. de Hoog G., Guarro J., Gene J., Figueras M. Atlas of Clinical Fungi – The ultimate bench tool for diagnostics. CBS, The Netherlands, Reus, Spain. 2018.
10. Meyer W., Irinyi L., Hoang M.T.V., et al. Database establishment for the secondary fungal DNA barcode Translational Elongation Factor 1 α (TEF1 α). Genome. 2018 Nov 22. doi: 10.1139/gen-2018-0083. [Epub ahead of print].
11. de Hoog G.S., Dukik K., Monod M., et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. Mycopathologia. 2017; 182: 5-31.
12. Giudice M.C., Reis-Menezes A.A., Rittner G.M., et al. Isolation of *Microsporium gypseum* in soil samples from different geographical regions of Brazil, evaluation of the extracellular proteolytic enzymes activities (keratinase and elastase) and molecular sequencing of selected strains. Braz. J. Microbiol. 2012; 43 (3): 895-902.
13. Soankasina A.H., Rakotozandrindrainy N., Andrianteloasy S., et al. Dermatophyte infection caused by *Nannizzia gypsea*: A rare case report from Madagascar. Med. Mycol. Case Rep. 2018: 7-9.
14. Romano C., Massai L., Gallo A., Fimiani M. *Microsporium gypseum* infection in the Siena area in 2005-2006. Mycoses. 2009; 52: 67-71.
15. Souza B.S., Sartori D.S., de Andrade C., et al. Dermatophytosis caused by *Microsporium gypseum* in infants: report of four cases and review of the literature. An Bras. Dermatol. 2016; 91 (6): 823-825.
16. Polilli E., Fazii P., Ursini T., et al. Tinea incognito caused by *Microsporium gypseum* in a patient with advanced HIV infection: A case report. Case Rep. Dermatol. 2011; 3 (1): 55-59.

Поступила в редакцию журнала 11.03.2019

Рецензент: А.В. Чаплыгин



АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ МИКОЗОМ СТОП, КИСТЕЙ И ОНИХОМИКОЗОМ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ В 2000-2017 ГОДАХ

Иванова Ю.А. (главный врач)*

Краевой кожно-венерологический диспансер, Алтайский край, Барнаул, Россия

В статье описана динамика заболеваемости микозом стоп, кистей и онихомикозом среди взрослого и детского населения Алтайского края с 2000 по 2016 годы, проанализировано количество активно выявленных больных, проведено сравнение полученных данных с уровнем заболеваемости в Российской Федерации и других странах.

Ключевые слова: заболеваемость, микоз стоп, микоз кистей, онихомикоз

ANALYSIS OF MORBIDITY OF HANDS AND FEET MYCOSIS AND ONYHOMYCOSIS IN CHILDREN AND ADULTS IN THE ALTAI TERRITORY IN YEARS 2000-2016

Ivanova Yu.A. (chief physician)

Regional Dermatovenerologic Dispensary, Altai Territory, Barnaul, Russia

The article describes the dynamics of the morbidity of hands and feet mycosis and onychomycosis in adult and children population of the Altai Territory from 2000 to 2016, analyses the number of actively identified patients, and compares the results with morbidity in the Russian Federation and other countries.

Key words: morbidity, foot mycosis, hand mycosis, onychomycosis

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции стоп и кистей, в том числе и в межпальцевой локализации, часто встречаются у людей. *Tinea pedis* – распространенная грибковая инфекция у взрослых, которая поражает от 30% до 70% населения (А.И. Hasan et al., 2004). Несмотря на то, что эти заболевания, как правило, не несут существенную угрозу здоровью, они влияют на качество жизни пациентов в нашей стране и во всем мире. Некоторые патогены и факторы риска играют ведущую роль в возникновении инфекций стоп [1]. Этиологическими агентами инфекции между пальцами чаще всего являются дерматомицеты, за которыми следуют дрожжи, плесени и реже – бактерии. Поверхностные микозы представляют собой воспаление кератиновой ткани, вызванное патогенными и условно-патогенными грибами. Процесс воспаления часто сопровождается образованием пузырьков, покраснением. Инфекция может распространяться от человека к человеку [2].

Определение поверхностных микотических агентов в разных регионах предоставит дополнительные эпидемиологические данные, а также повысит эффективность лечения. Социально-экономические, геоэкологические характеристики и растущее число групп риска в популяции являются основными детерминантами различных вариаций болезней и распространенности грибковых процессов по всему миру [3]. Многие исследователи отмечают изменение клинической картины инфекционного процесса, увеличение числа случаев, лишенных нозологической специфичности клинического проявления [4]. Это диктует необходимость проведения эпидемиологического исследования, направленного на установление уровня, особенностей, тенденций заболеваемости микозами стоп и другими поверхностными микозами кожи, перспективного прогнозирования вероятной эволюции клинических болезней и разработки эффективных способов, предупреждающих их распространение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения распространенности микоза стоп, кистей и онихомикоза среди взрослого и детского населения Алтайского края использовали отчетную форму №34 «Сведения о больных заболеваниями, передаваемыми половым преимущественно путем, грибковыми кожными болезнями и чесоткой», утвержденную постановлением Госкомстата России от 07.10.2003 №88, отчетную форму №9 «Сведения о заболеваниях, передаваемых преимущественно половым путем, грибковых кожных заболеваниях и чесоткой», утвержденную постановлением Госкомстата России от 10.09.2002 №175.

Обработку показателей провели по методике ретроспективного эпидемиологического анализа первичной заболеваемости по данным обращаемости. Заболеваемость была рассчитана как число заболеваний, впервые выявленных за год, деленное на среднегодовую численность населения.

Диагноз «микоз стоп, кистей и онихомикоз» выставляли на основании положительных результатов микроскопического исследования.

Для более удобного отображения выявленных тенденций и колебаний заболеваемости населения Алтайского края поверхностными микозами их динамика

* Контактное лицо: Иванова Юлия Александровна, e-mail: ivanova.ua@gmail.com

представлена в виде таблиц и графиков.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика заболеваемости микозами кистей и стоп, в том числе онихомикозом, населения Алтайского края в 2000-2017 гг. имеет два этапа: в 2002 г., по сравнению с 2000 г., число зарегистрированных больных сначала увеличилось до 104,2 случаев на 100 000 населения, затем снизилось в 2004 г. до 56,4 случаев на 100 000 населения, в том числе количество онихомикозов уменьшилось с 58,8 до 38,3 случаев на 100 000 населения соответственно. Затем с 2004 по 2017 гг. заболеваемость существенно не менялась, ежегодно регистрировали общее количество микозов стоп и кистей от 1718 (68,1 – в интенсивных показателях) до 1192 (49,2 – в интенсивных показателях), в том числе от 1087 (43,1 – в интенсивных показателях) до 858 (35,2 – в интенсивных показателях) новых случаев онихомикозов. В целом заболеваемость микозами стоп и кистей, в том числе онихомикозами, в Алтайском крае в указанный период незначительно снижалась, в то время как по Российской Федерации в 2017 г. наблюдали умеренный рост по сравнению с 2000 г. Отметим, что по статистическим данным заболеваемость в крае у этой категории больных существенно ниже, чем по России. Например, в 2007 г. микозы стоп и кистей в РФ составили 152,6 на 100 000 населения, в Алтайском крае – 56,9 на 100 000 населения (в 2,7 раза ниже); онихомикозы в РФ в 2007 г. – 85,6 на 100 000 населения, на Алтае – 43,2 на 100 000 населения (в 2 раза ниже), что, вероятно, служит показателем низкой выявляемости данной инфекции и неполной ее регистрации как государственными, так и коммерческими медицинскими структурами (Рис. 1-3).

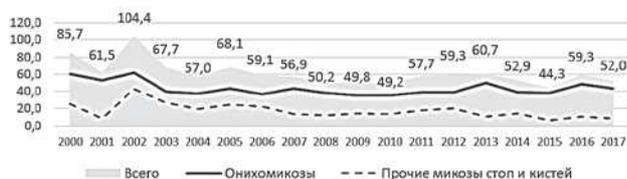


Рис. 1. Динамика заболеваемости микозами кистей и стоп, в том числе онихомикозом, населения Алтайского края в интенсивных показателях на 100 тысяч населения (2000-2017).



Рис. 2. Динамика заболеваемости микозами кистей и стоп, в том числе онихомикозом, микроспорией и трихофитией, населения Алтайского края в 2000-2017 гг. в интенсивных показателях на 100 тысяч населения.

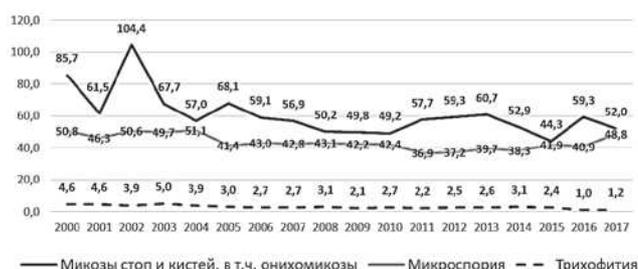


Рис. 3. Динамика заболеваемости микозами кистей и стоп, в том числе онихомикозом, микроспорией и трихофитией, населения РФ в интенсивных показателях на 100 тысяч населения (2000-2017).

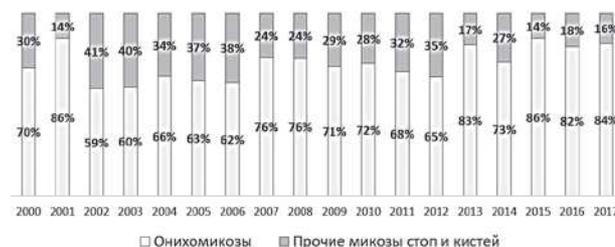


Рис. 4. Соотношение числа первичных обращений онихомикозом и прочими микозами стоп и кистей в 2000-2017 гг. в Алтайском крае в процентах.

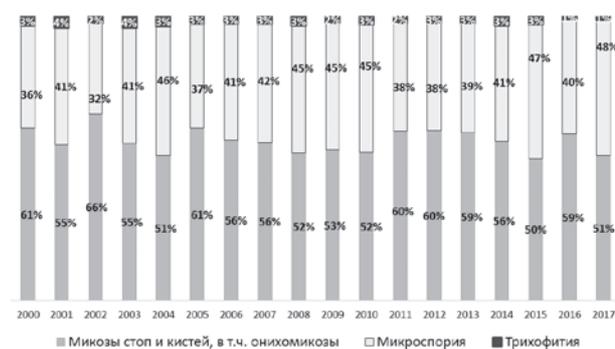


Рис. 5. Соотношение числа первичных обращений микозами стоп и кистей, в том числе онихомикозами, микроспорией и трихофитией, в 2000-2017 гг. в Алтайском крае в процентах.



Рис. 6. Соотношение числа первичных обращений микозами стоп и кистей, в том числе онихомикозами, микроспорией и трихофитией в 2000-2017 гг. в РФ в процентах.

В течение последних восемнадцати лет доля больных онихомикозом составляла от 59% до 86% соответственно, прочие микозы стоп и кистей – от 14% до 41%. При этом в последние три года доля больных онихомикозом увеличилась, а прочими микозами снизилась.

Если рассмотреть структуру первичных обращений больных всеми поверхностными микозами в Ал-

тайском крае на протяжении 18 лет, то можно констатировать, что в течение всего периода преобладали микозы стоп и кистей, в том числе онихомикозы, хотя в 2017 г. их доля уменьшилась на 9% по сравнению с 2000 г. Однако маловероятно, что данный факт снижения отражает истинную картину заболеваемости, так как обращает на себя внимание неестественно низкий показатель в этой группе больных у жителей Алтайского края по сравнению с другими регионами и Российской Федерацией в целом (Рис. 2-6).

В Алтайском крае доля больных трихофитией за этот период уменьшилось с 3% до 1%, микроспорией, напротив, увеличилась с 36% до 48% (Рис. 2, 3, 5, 6).

Заболеваемость микозами стоп, кистей и онихомикозом в интенсивных показателях в 2011 и 2012 гг. преобладала среди мужчин и достигла максимального значения, составив 61,6 случаев на 100 000 мужского населения. В 2013 г. заболеваемость среди мужчин и женщин существенно не отличалась, а в 2014 г. вновь преобладала среди лиц мужского пола. Начиная с 2015 г., заболеваемость у женщин существенно не менялась, но в сравнении с мужчинами начинала преобладать, так как среди мужского контингента наблюдали снижение количества случаев грибковых заболеваний стоп, кистей, в том числе онихомикозов (Рис. 7).



Рис. 7. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, среди женщин и мужчин Алтайского края в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Если рассматривать количество заболевших грибковыми инфекциями стоп, кистей и ногтевых пластинок, проживающих в городе и селе с 2011 по 2017 гг., то среди городских жителей данный интенсивный показатель был стабильно выше, чем среди сельских (Рис. 8).

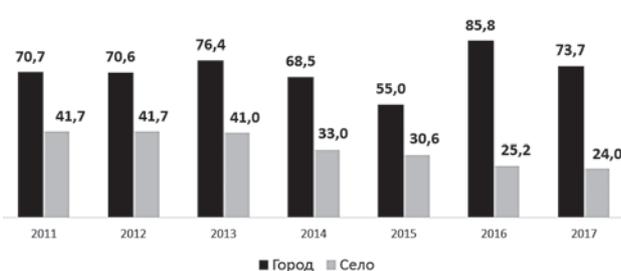


Рис. 8. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, жителей города и села в Алтайском крае в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Онихомикоз так же, как и все грибковые инфекции стоп и кистей в целом в последние годы чаще регистрируют у женщин. Максимальное количество больных с поражением ногтевых пластинок наблюдали в 2013 и 2017 гг. Максимальный показатель – 56,3 случаев онихомикоза на 100 000 женского населения отмечен в 2015 г. (Рис. 9).



Рис. 9. Динамика заболеваемости онихомикозом среди женщин и мужчин Алтайского края в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Число случаев онихомикоза, выявленных среди городских жителей, в несколько раз превышает количество случаев среди жителей села. Данная тенденция сохраняется на протяжении всего изучаемого периода (Рис. 10).

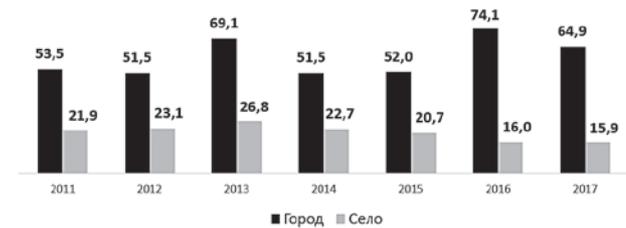


Рис. 10. Динамика заболеваемости онихомикозом среди жителей города и села в Алтайском крае в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

С 2012 по 2017 гг. количество выявленных случаев прочими микозами стоп и кистей у мужчин было больше, чем у женщин. В остальные годы число заболевших женщин преобладало, разница в интенсивных показателях у пациентов разного пола была, как правило, незначительной (Рис. 11).

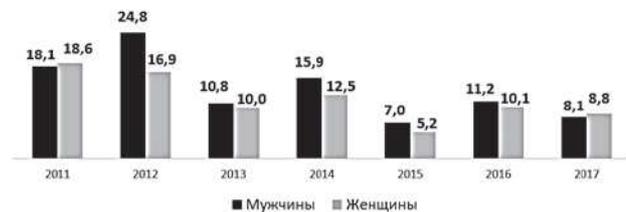


Рис. 11. Динамика заболеваемости прочими микозами стоп и кистей среди женщин и мужчин в Алтайском крае в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

При изучении прочих микозов стоп и кистей среди городских и сельских жителей нет четкой тенденции, как в случае онихомикозов. Если при регистрации онихомикозов всегда преобладала городские жители, то при выявлении прочих грибковых заболеваний стоп и кистей в 2013 и 2015 гг. превалировал сельский контингент пациентов, а в 2011 г. разница между сельскими и городскими жителями была незначительной (Рис. 12).



Рис. 12. Динамика заболеваемости прочими микозами стоп и кистей среди жителей города и села в Алтайском крае в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Максимальную заболеваемость всеми вместе взя-

тыми грибковыми инфекциями стоп и кистей наблюдали среди женщин сорока лет и старше. Лица женского пола от 30 до 39 лет в несколько раз реже страдали данными болезнями. Заболеваемость молодых женщин от 18 до 29 лет варьировала от 10,6 до 19,9 случаев на 100 000 населения в год. Девочки от 15 до 17 лет чаще встречались среди заболевших, чем в возрасте от 0 до 14 лет. В группе самых маленьких пациенток микозы стоп, кистей, в том числе онихомикозы, регистрировали в интенсивных показателях от 3,5 до 10,7 случаев в год. Четкой взаимосвязи между ростом заболеваемости среди женщин в целом и ростом количества случаев среди заболевших пациенток младшего возраста или тенденции к постоянному росту заболеваемости в течение изучаемого периода не прослеживается (Рис. 13).

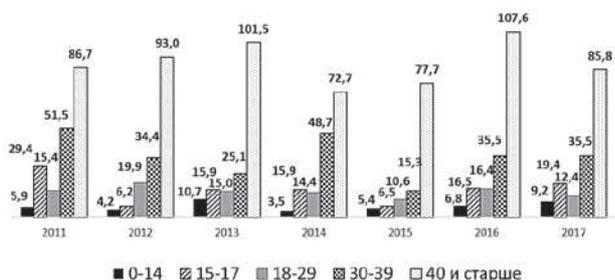


Рис. 13. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, среди женщин Алтайского края в зависимости от половозрастного состава в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Максимальную заболеваемость среди мужчин, также как и среди женщин, отмечали в старшей возрастной группе. При этом последние три года в интенсивных показателях количество больных мужчин старше сорока лет меньше, чем женщин этой же возрастной категории. Напротив, мужчины в возрасте от 30 до 39 лет болеют грибковыми инфекциями данной локализации, как правило, чаще, чем женщины. Данная тенденция сохранялась до 2015 г. Возрастная категория пациентов от 0 до 14 лет самая малочисленная, за исключением 2017 г., когда количество маленьких мальчиков с грибковыми инфекциями превысило количество заболевших подростков и составило 8,3 случая на 100 000 детей этого возраста (Рис. 14).

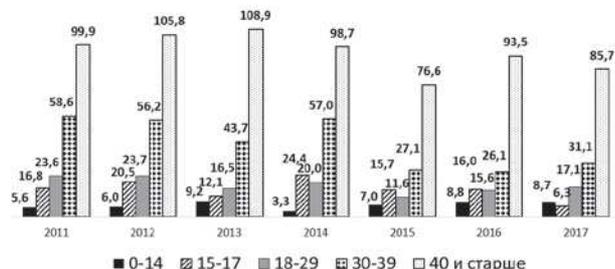


Рис. 14. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом среди мужчин Алтайского края в зависимости от половозрастного состава в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Дети в возрасте от 15 до 17 лет, проживающие в городах и селах Алтайского края, чаще болеют микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом. Максимальная заболеваемость среди подростков, проживающих в городе зарегистрирована в 2011 г. – 29,5 на 100 000 детей, среди подростков живущих в селе – в 2014 г. –

25,0 на 100 000 детей. Только в 2015 г. интенсивный показатель был незначительно выше среди городских жителей от 0 до 14 лет, по сравнению с сельскими и составил 7,8 на 100 000 детей (Рис. 15, 16).

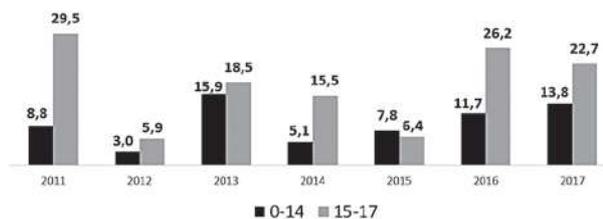


Рис. 15. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, среди детей, проживающих в городах Алтайского края, в зависимости от половозрастного состава в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

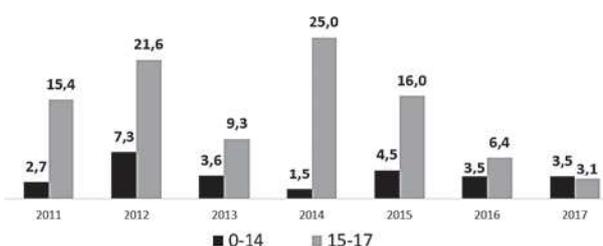


Рис. 16. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, среди детей, проживающих в селах Алтайского края, в зависимости от половозрастного состава в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

В отношении детей от 0 до 14 лет не прослеживается четкой взаимосвязи между полом и количеством зарегистрированных случаев. Например, в 2012, 2015 и 2016 гг. больше болели мальчики, а в 2013 г. – девочки. В 2011 и 2017 гг. показатели заболеваемости среди лиц обоих полов существенно не отличались, но среди девочек были несколько выше: 5,6 и 5,9 случаев на 100 000 детей в 2011 г. и 8,7 и 9,2 случаев на 100 000 детей в 2017 г. соответственно (Рис. 17).



Рис. 17. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, среди детей от 0 до 14 лет Алтайского края в зависимости от пола в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Среди младших школьников городские жители имели более высокий уровень заболеваемости, чем сельские. Только в 2012 г. количество выявленных случаев среди жителей села превысило количество случаев среди городского населения (Рис. 18).

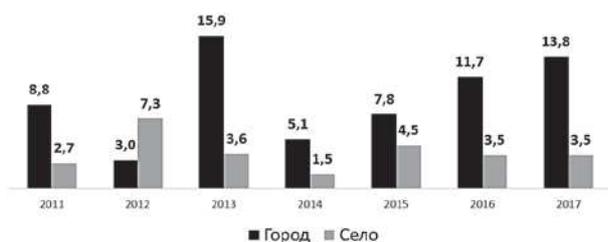


Рис. 18. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе ониомикозом, среди детей от 0 до 14 лет Алтайского края в зависимости от места проживания в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

У подростков от 15 до 17 лет показатель заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе ониомикозом, среди лиц разного пола менялся в течение изучаемого периода. В 2011 и 2017 гг., в отличие от младших школьников, чаще болели девушки, а в 2012, 2014, 2015 гг. – юноши (Рис. 19).

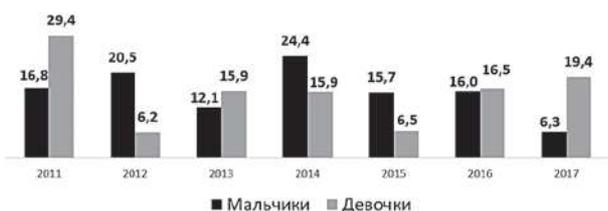


Рис. 19. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе ониомикозом, среди детей от 15 до 17 лет Алтайского края в зависимости от пола в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

Контингент детей от 15 до 17 лет, болеющих грибковыми инфекциями стоп и кистей, преваляровал то среди городских, то среди сельских жителей. Заболеваемость была выше среди городских жителей в 2011, 2013, 2016 и 2017 гг., в остальные годы она преобладала у жителей села; максимальные интенсивные показатели среди городских подростков составили 29,5 случаев на 100 000, среди сельских – 25,0 случаев на 100 000 населения (Рис. 20).

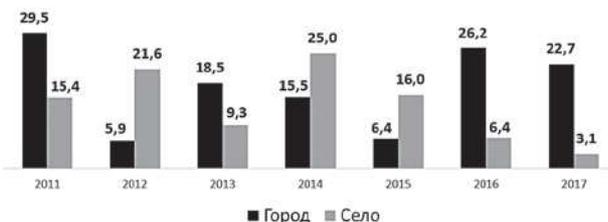


Рис. 20. Динамика заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе ониомикозом, среди детей от 15 до 17 лет Алтайского края в зависимости от места проживания в 2011-2017 гг. на 100 000 населения.

ОБСУЖДЕНИЕ

По различным статистическим данным, около миллиарда человек во всем мире имеют грибковые инфекции кожи, ногтей и волос, многие миллионы страдают кандидозом слизистых оболочек и более 150 миллионов имеют серьезные грибковые заболевания, которые оказывают серьезное влияние на их жизнь или являются смертельными.

Однако степень тяжести микоза колеблется от бессимптомно-легкого слизисто-кожного процесса до потенциально опасных для жизни системных инфекций.

Социальные, экономические, геоэкологические ха-

рактеристики и увеличение числа групп риска популяции служат основными детерминантами вариаций заболеваемости и распространенности грибковых заболеваний по всему миру [5].

В большинстве случаев именно микозы стоп являются основными источниками распространения грибковой инфекции среди населения (Потекаев Н.Н., 2008), своего рода «перевалочным пунктом» для распространения патологического процесса на ногти стоп, кожу и ногти кистей.

Статистические данные, касающиеся заболеваемости микозами стоп, кистей, в том числе ониомикозом, существенно отличаются в зависимости от региона. В большинстве стран Европы дерматофитии стоп в совокупности с ониомикозом занимают одно из ведущих мест среди всех грибковых инфекций, вызванных *Trichophyton rubrum* [6]. Заболеваемость ониомикозом в Европе варьирует от 3 до 7%, а в отдельных территориях достигает 60% среди пациентов в возрасте от 18 до 45 лет. В России доля больных ониомикозом среди лиц в возрасте до 65 лет составляет 24,9%. В структуре дерматологической заболеваемости населения Республики Татарстан установлен высокий удельный вес грибковых поражений кожи и ногтей (27,8%), из которых микозы стоп составляют 75,3% [7].

В Алтайском крае заболеваемость грибковыми инфекциями стоп и кистей в совокупности с ониомикозами с 2000 г. незначительно снижается, в то время как по Российской Федерации в 2017 г. выявлен умеренный рост заболеваемости по сравнению с 2000 г.

По данным Сергеева А.Ю. (2008) и Иванова О.Л. (2007), с увеличением возраста растет и число больных поверхностными микозами, достигая максимального пика к 80 годам. Однако в других регионах земного шара возрастные категории с максимальной распространенностью существенно разнятся. Например, в северной Индии максимальное число случаев микозов стоп отмечено в возрастной группе от 21 до 30 лет (23,3%), затем следуют пациенты 31-40 лет (20,5%) [8], а в Сингапуре большинство изолятов для проведения микологического исследования при подозрении на микоз стоп забирают от пожилых людей [9]. В Алтайском крае максимальная заболеваемость микозом стоп и кистей зарегистрирована среди пациентов старше 40 лет.

Несмотря на то, что ониомикоз считается возрастной инфекцией с увеличивающейся распространенностью в пожилой возрастной группе, он больше не является редким проявлением у детей. В последние годы рост частоты этого заболевания встречается у детей во всем мире. Ониомикоз становится все более распространенным у детей и подростков из-за частых воздействий грибка в течение длительного времени в окружающей среде, высокой плотности инфекционных гиф и спор, например, в общественных бассейнах, общежитиях, при ношении модной узкой обуви, травмах ног во время занятий спортом. Все это является значительными предрасполагающими факторами развития ониомикоза. Болеющие члены семьи также могут быть источником инфекции. Высокая заболеваемость ониомикозом может быть вызвана использованием системных антибиотиков, химиотерапией и другими иммунодепрессантами [10].

В разных частях света исследователи показывают распространенность ониомикоза у детей от 0% до

2,6% [11, 12]. В нашей работе установлено, что число детей, зарегистрированных с микозом стоп и кистей, в том числе с онихомикозом, в Алтайском крае за последние семь лет остается достаточно низким. Меньше всего данной поверхностной инфекцией болеют дети от 0 до 14 лет. Впервые в 2017 г. интенсивный показатель среди младших школьников превысил таковой среди подростков и составил 8,7 на 100 000 населения, что дает основания предполагать эпидемиологически неблагоприятный прогноз у детей в будущем.

ВЫВОДЫ

1. Заболеваемость микозом стоп и кистей, в том числе онихомикозом, в течение изучаемого периода имела периоды как умеренного снижения с 2006 по 2012 г., так и незначительного увеличения числа регистрируемых больных с 2013 по 2017 гг. в относительных показателях и находилась в диапазоне от 104,2 до 44,3 на 100 000 населения Алтайского края.

2. В структуре заболеваемости поверхностными микозами в Алтайском крае микоз стоп и кистей, в том числе онихомикозом, с 2000 по 2017 гг. занимал от 66% до 50%, что меньше чем по РФ в целом.

3. Заболеваемость микозами стоп, кистей, в том

числе онихомикозом, у жителей Алтайского края в 2011-2017 гг. была выше среди городских жителей, до 2014 г. включительно – среди мужчин, с 2015 по 2017 гг. – среди женщин.

4. Заболеваемость онихомикозом у жителей Алтайского края в 2011-2017 гг. также была выше среди жителей городов и в большинстве случаев – среди лиц женского пола.

5. Заболеваемость прочими микозами стоп и кистей у жителей Алтайского края в 2011-2017 гг. чаще была выше среди мужчин и не имела четкой взаимосвязи с типом городского или сельского проживания.

6. Вне зависимости от пола среди пациентов с микозами стоп, кистей, в том числе онихомикозом, проживающих в Алтайском крае, преобладали лица 40 лет и старше. Самая малочисленная возрастная категория больных – дети от 0 до 14 лет.

7. Среди младших детей от 0 до 14 лет городские жители имели более высокий уровень заболеваемости, чем сельские, при этом взаимосвязи между полом и уровнем заболеваемости не прослеживается.

8. В случае детей от 15 до 17 лет уровень заболеваемости в изучаемый период не имел взаимосвязи ни с полом, ни с местом проживания пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Fatma Mutlu Sariguzel, A. Nedret Koc, Gülhan Yagmur, Elife Berk* Interdigital foot infections: *Corynebacterium minutissimum* and agents of superficial mycoses. *Braz. J. Microbiol.* 2014; 45 (3): 781-784.
2. *Summerbell R.C., Weitzman I., Padhye A.* *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton* and agents of superficial mycoses. B: *Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C., Tenover F.C., et al.* - editors. *Guidelines for clinical Microbiology.* 9-e Izd. Volume 2. Washington, DC: 2007: 1874-1897.
3. *Brown G.D., Denning, D.W., Gow N.A.R., et al.* Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Sci. Transl. Med.* 2012; 4: 1-9.
4. *Сергеев В.Ю., Сергеев А.Ю.* Дерматофитии: новое в диагностике, терапии и профилактике наиболее распространенных микозов человека. *Дерматология.* 2008; 1: 30-35. [*Sergeev V.Y., Sergeev A.Y.* *Dermatofitii: novoe v diagnostike, terapii i profilaktike naibolee rasprostranennykh mikofov cheloveka. Dermatologiya.* 2008; 1: 30-35 (In Russ)].
5. *Felix B., Sara G.* Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases – Estimate Precision. *Jurnal of Fungi.* 2017: 2-29.
6. *Blanka H., Czaika V., Friedrich M.* Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses.* 2008; 51 (4): 2-15.
7. *Хисматуллина И.М.* Микоз стоп: рационализация терапии : автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009: 20 с. [*Hismatullina I.M.* *Mikoz stop: racionalizaciya terapii : avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 2009: 20 s (In Russ)*].
8. *Pragyan Swagatika Panda, Kabir Sardana and Sahanawaj Khan.* Mycological pattern of dermatomycoses in a Tertiary Care Hospital Ravinder Kaur. *J. Trop. Med.* 2015.
9. *Jonathan Yi Yu Pang, Stephanie Fook-Chong and Ai Ling Tan.* Tinea unguium onychomycosis caused by dermatophytes: a ten-year (2005–2014) retrospective study in a tertiary hospital in Singapore Shiu Ming Pang. *Med J.* 2018; 59 (10): 524-527.
10. *Kaur R., Kashyap B., Bhalla P.* Onychomycosis – epidemiology, diagnosis and management. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2008; 26 (2): 108-16.
11. *Климко Н.Н.* Микозы: диагностика и лечение : руководство для врачей. 3-е изд. перераб. и доп. М.: Фармтек, 2017: 274. [*Klimko N. N.* *Mikozy: diagnostika i lechenie : rukovodstvo dlya vrachej. 3-e izd. pererab. i dop. M.: Farmtek, 2017: 274 (In Russ)*].
12. *Brendan P. Kelly.* Superficial Fungal Infections. *Pediatrics in Review.* 2012; 33(4): 22-26.

Поступила в редакцию журнала 28.02.2019

Рецензент: Н.Н. Климко



УЗКОПОЛОСНОЕ СРЕДНЕВОЛНОВОЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ В ТЕРАПИИ МИКРОБНОЙ ЭКЗЕМЫ

Резцова П.А. (аспирант кафедры)*, Котрехова Л.П. (доцент кафедры), Разнатовский К.И. (зав. кафедрой), Вашкевич А.А. (доцент кафедры)

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

Микробная экзема составляет 12-27% от всех экзематозных поражений кожи. За последние 10 лет отмечена стойкая тенденция утяжеления течения экзематозных процессов, сопровождающихся частыми рецидивами, большой площадью поражения кожного покрова и резистентностью к стандартным методам терапии. Особое место занимает микробная экзема, которая развивается на фоне нерационального использования местных иммуносупрессивных препаратов. Хронически рецидивирующее течение, мучительный зуд, мокнутие в очагах поражения при микробной экземе значительно ухудшает качество жизни пациентов. Применение фототерапии позволяет добиться полного разрешения процесса и избежать в дальнейшем рецидивов заболевания без применения антибактериальных препаратов.

Цель исследования – доказать эффективность средневолнового узкополосного (311 нм) ультрафиолетового излучения в терапии микробной экземы, обусловленной бактериальной инфекцией.

Обследованы и пролечены 60 больных микробной экземой (34 женщины и 26 мужчин в возрасте 32-79 лет). Проведено сравнительное, открытое исследование эффективности узкополосной фототерапии 311 нм (n=30) и традиционной терапии с использованием антибиотиков широкого спектра (n=30). Для статистического анализа результатов исследования применяли программы Statistica 10.0 portable (StatSoft) и Microsoft Excel 2016.

Доказана эффективность фототерапии на фоне нормализации показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в обеих группах исследования.

Установлено, что эффективность узкополосной средневолновой фототерапии длиной волны 311 нм сопоставима с эффективностью стандартной терапии с применением антибактериальных препаратов и топических глюкокортикостероидов, а по скорости купирования зуда и мокнутия превосходит ее.

Ключевые слова: микробная экзема, узкополосная средневолновая фототерапия, иммунитет

NARROWBAND UVB ULTRAVIOLET RADIATION IN THE TREATMENT OF MICROBIAL ECZEMA

Reztsova P.A. (graduate student), Kotrehova L.P. (associate professor), Raznatovsky K.I. (head of the department), Vashkevich A.A. (associate professor)

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

Microbial eczema affects 12-27% of patients from all types of eczematous dermatoses. Analyzing the latest data, there was found a tendency to have a more severe form of dermatosis, more frequent recurrences, more wide areas of skin involved and resistance to the traditional treatment. Microbial eczema takes a special place. One of the reasons of its developing is irrational therapy using topical immunosuppressive agents. Chronically

recurrent course, painful itching, weeping in lesions with microbial eczema significantly impairs the quality of life of patients. The use of phototherapy allows to achieve full resolution of the process and to avoid further relapses of the disease without the use of antibacterial drugs.

The purpose of the study was to evaluate efficacy of using phototherapy in treating patients with microbial eczema.

There were 60 patients with microbial eczema (34 females and 26 males from 32 to 79 years old) examined and treated. 30 patients were treated with classical therapy, including broad-spectrum antibiotics; and 30 patients were treated with therapy including narrowband UVB and excluding broad-spectrum antibiotics use. The research findings were processed with Statistica 10.0 portable (StatSoft) and Microsoft Excel 2016.

Both groups of patients demonstrated normalization of the cell and humoral immunity.

It was established that method of treating patients with microbial eczema using narrowband UVB and excluding broad-spectrum antibiotics use is comparable with the classical therapy, including broad-spectrum antibiotics, but do not have its side-effects.

Key words: microbial eczema, phototherapy, immune system

ВВЕДЕНИЕ

Микробная экзема представляет собой островоспалительный экссудативный процесс, обусловленный сенсibilизацией кожи к антигенам бактерий и дрожжевых грибов (Скрипкин Ю.К. и Зверькова Ф.А.) [1]. Впервые болезнь была описана Engman в 1902 г., который назвал патологию «стафилогенный экзематоидный дерматит». Далее над изучением этиопатогенетических механизмов и методов терапии работали многие зарубежные и отечественные авторы: Sutton (1920), Kennedy et al. (1953), Karvonen et al. (1992), Архангельская Е.Н. и Мрачковская А.Н. (1979). Значительный прогресс в лечении микробной экземы отмечен в конце 40-х годов прошлого столетия, когда впервые были применены антибиотики (Cohen T.M., Pfaff R.O., 1945). Существует некоторое несоответствие между отечественной и зарубежной трактовкой термина «микробная экзема». В зарубежной литературе можно встретить термины «infectious dermatitis» (инфекционный дерматит), «infectious eczematoid dermatitis» (инфекционный экзематоидный дерматит), что тождественно российскому понятию «микробная экзема».

Клиническая картина микробной экземы характеризуется островоспалительными везикулезными высыпаниями в ответ на антигенную стимуляцию из инфекционного очага и появлением капельного мокнутия после вскрытия везикул [3]. Развившийся экзематозный процесс распространяется на симметричные участки кожи и далее протекает, как при истинной экземе (Родионов А.Н. Микробная экзема. СПб., 2012). Основными бактериальными триггерами в развитии микробной экземы являются *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus* spp. Известно, что стафилококковый экзотоксин усиливает аутосенсibilизацию путем активации Т-клеточного звена иммунитета не только в роли суперантигена, но и как обыкновенный аллерген [4]. Более того, кератиноциты больных атопическими дерматозами (атопический дерматит, экземы) не способны в полной мере синтезировать антимикробные пептиды (AMP, АМП), необходимые для инициации врожденного иммунитета против патогенной микробиоты. Основной клеточный механизм развития экзематозных дерматитов – Fas-индуцированный апоптоз кератиноцитов, вызванный Т-клетками кожи, причем как CD4 (Т-хелперы), так и CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты). В сыворотке крови при этом имеет место нарушение клеточного и гуморального звеньев

* Контактное лицо: Резцова Полина Александровна, e-mail: Polina.Reztsova@szgm.ru

иммунного реагирования, что подтверждено рядом наблюдений [5-7].

Стандартная терапия дерматоза включает дезинтоксикацию, гипосенсибилизацию, применение системных антибактериальных препаратов и топических противовоспалительных агентов (глюкокортикостероиды и/или ингибиторы кальциневрина). Подбор антибактериальных препаратов может быть затруднен из-за моно-/поливалентной сенсбилизации, а также из-за растущей антибиотикорезистентности. В силу этих обстоятельств использование традиционного лечения может быть ограничено или отсрочено до момента получения результатов типирования возбудителей и определения их чувствительности к антибиотикам, а также аллергологического обследования на индивидуальную непереносимость препаратов. Известно, что ультрафиолетовое излучение обладает иммуностимулирующим действием. Ультрафиолетовое излучение типа В (средневолновое) может индуцировать образование Fas-лигандов на кератиноцитах, которые, в свою очередь, могут связываться с Fas-рецепторами на поверхности Т-клеток, инфильтрирующих эпидермис в экзематозных поражениях. Это взаимодействие индуцирует апоптоз интраэпидермальных Т-клеток, что является одним из механизмов положительного (иммуносупрессивного) воздействия фототерапии на Т-клеточные индуцированные поражения, такие как псориаз, атопический дерматит и экзема [7]. Ультрафиолетовое излучение также обладает прямым и косвенным антибактериальным воздействием (индуцирует синтез антимикробных пептидов (АМП, AMPs) [8]). Эти данные позволили нам включить фототерапию в схему лечения больных микробной экземой, обусловленной бактериальной инфекцией, и оценить ее эффективность.

Цель исследования – доказать эффективность фототерапии для лечения больных микробной экземой, обусловленной бактериальной инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол исследования был утвержден на заседании локального этического комитета СЗГМУ им. И.И. Мечникова в октябре 2015 г. По дизайну исследование было одноцентровым, открытым, рандомизированным. Критерии включения: наличие информированного согласия, мужчины и женщины в возрасте от 18 лет и старше, наличие экзематозного процесса, связанного с бактериальной инфекцией. В исследование не включали больных с сопутствующими тяжелыми соматическими заболеваниями в стадии декомпенсации, имевших алкогольную и наркотическую зависимости; находившихся в состоянии беременности, лактации.

Диагноз считали верифицированным при наличии характерных для экземы высыпаний, положительных симптомов мокнутия или скрытого мокнутия, а также результатов бактериологического исследования (культурального посева). Тяжесть экземы оценивали при помощи общепринятого в дерматологической практике индекса EASI. Для его подсчета анализировали симптомы воспалительной реакции: эритему, инфильтрацию (отек), экссудацию, эксфолиацию, лихенификацию. Отдельно оценивали интенсивность зуда (по 10-балльной шкале) и мокнутие (по трёхбалльной шкале). Эффективность терапии устанавливали по

динамике индекса EASI и степени разрешения зуда и мокнутия.

Для анализа иммунного статуса было проведено иммунофенотипирование лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD25+) методом проточной цитометрии с применением проточного цитометра «FC-500» с программным обеспечением CXP Software и моноклональных антител, меченных флуорохромами (Beckman Coulter, США); определение количественного уровня иммуноглобулинов А, G, Е, М – иммунотурбидиметрическим методом на полуавтоматическом анализаторе с проточной кюветой «Vitalon 400» («Vital Development Corporation», Россия). Оценку гуморального и клеточного звеньев иммунитета выполняли до начала лечения и на 21 день.

Для фототерапии использовали кабину Daavlin 3 Series PC, США. Все больные получали курс лечения фототерапией в субэритемных дозах - 15 сеансов, 5 раз в неделю. Методом генератора случайных чисел пациенты были распределены в две группы: получающих классическое лечение с антибиотиками и получающих терапию ультрафиолетовым излучением с длиной волны 311 нм.

На этапе скрининга было обследовано 109 больных экземой, из них удовлетворяющих всем критериям включения/исключения оказалось 60. Пациенты с помощью генератора случайных чисел были распределены в 2 группы по 30 человек: первая группа – получавшие лечение, предусматривающее назначение антибиотиков широкого спектра действия, вторая группа – получавшие терапию узкополосным средневолновым облучением. Динамику изменений клинико-иммунологических показателей оценивали на 3, 7 и 21 сутки от начала лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование были включены 60 больных (34 женщины и 26 мужчин) в возрасте 32-79 лет с диагнозом «микробная экзема» (L30.3 – инфекционный дерматит). Индекс EASI составлял от 8,8 до 51 балла. Со средней степенью тяжести заболевания (индекс EASI 7,1-21,0) было 27 пациентов (45%), с тяжелой (индекс EASI 21,1-50,0) – 32 (53,3%), с очень тяжелой (индекс EASI 50,1-72,0) – 1 (1,7%). В результате посева были выделены следующие возбудители: *Staphylococcus aureus* – 41 случай (68%), *Staphylococcus epidermidis* – 25 (41%), *Enterococcus faecalis* – (2,3%), *Streptococcus pyogenes* – 10 (16%), *Streptococcus viridans* – 5 (8%), *Pseudomonas aeruginosa* – 2 (3%). Выявление нескольких возбудителей (от 2 до 5) отмечали у каждого больного.

Пациенты были распределены случайным образом в две группы, в результате все исследуемые клинико-иммунологические показатели не имели статистически значимых различий ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблица 1

Клинические и иммунологические показатели (популяционного и субпопуляционного спектра лимфоцитов и гуморального иммунитета) у больных микробной экземой до лечения и после его окончания

	До начала терапии		Через 21 день от начала терапии	
	группа 1 (n=30)	группа 2 (n=30)	группа 1 (n=30)	группа 2 (n=30)
EASI	24,3±8,9	24,3±9,3	12,7±5,7 ^a	11,1±5,9 ^b
CD3 (норма 0,8-2·10 ⁹ /л)	1,16±0,34	1,04±0,34	1,56±0,3 ^a	1,43±0,37 ^b

CD4 (норма 0,68-1,1·10 ⁹ /л)	1,2±0,28	1,2±0,26	0,91±0,22 ^a	0,94±0,15 ^b
CD8 (норма 0,28-0,7·10 ⁹ /л)	0,31±0,07	0,31±0,07	0,51±0,14 ^a	0,52±0,10 ^b
CD16 (норма 0,2-0,4·10 ⁹ /л)	0,22±0,07	0,21±0,08	0,29±0,05 ^a	0,29±0,05 ^b
CD25 (норма 0,22-0,4·10 ⁹ /л)	0,2±0,09	0,21±0,07	0,44±0,19 ^a	0,29±0,04 ^b
IgG (норма 7-15 г/л)	19,5±2,8	19,7±2,7	11,2±2,9 ^a	10,9±2,3
IgA (норма 0,7-4 г/л)	1,26±0,67	1,29±0,48	2,62±0,7 ^a	2,41±0,66 ^b
IgM (норма 0,4-2,6 г/л)	1,6±1,5	1,4±1,3	1,4±0,7 ^a	1,7±0,7
IgE (норма 0-100 МЕ/мл)	293,7±30,4	328,6±32,2	33,2±3,5 ^a	30,5±5,8 ^b
ASLO (норма 0-200 МЕ/мл)	327,4±18,0	281,2±17,0	103,4±5,2 ^a	102,3±68,2 ^b

Примечание: а – р<0,05 сравнение между значениями показателей в начале и по окончании лечения у больных 1 группы, б – р<0,05 сравнение между значениями показателей в начале и по окончании лечения у больных 2 группы.

При анализе показателей иммунитета до лечения выявили нарушения показателей иммунного статуса больных микробной экземой. Наиболее выраженные изменения отмечали в параметрах популяционно-го и субпопуляционного спектра лимфоцитов (CD4, CD16, CD25), а также в уровнях иммуноглобулинов (IgE, IgG). Помимо этого, установлено повышение уровня антистрептолизина-О в обеих группах. В группах исследования средний показатель количества Т-лимфоцитов (CD3) находился в пределах нормы, но стандартное отклонение составило величину, отражающую наличие наблюдений, находящихся за пределами нижней границы нормы. Это отражает несовершенство иммунного реагирования и наличие персистирующего инфекционного очага.

Субпопуляционное количество Т-хелперов (CD4) было повышено, а уровень цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8) стремился к нижней границе нормы. Эти данные дополнительно свидетельствуют о нарушении противoinфекционной защиты у больных микробной экземой с формированием хронизации. Процесс инфекционной экземы также сопровождался сниженным количеством натуральных киллеров (CD16) и лимфоцитов, активированных посредством интерлейкина-2 (CD25).

Средние показатели IgE превышали верхнюю границу нормы почти в 3 раза в обеих группах исследования, также было выявлено значимое повышение IgG, что отражает инфекционно-аллергическую природу дерматоза. Повышенные уровни антистрептолизина-О демонстрируют важную роль стрептококковых антигенов в развитии микробной экземы у обследованных пациентов.

Исследование закончили все 60 больных микробной экземой, по 30 человек в каждой группе. За время лечения ни у одного из пациентов развития нежелательных явлений зарегистрировано не было. В результате проведенного лечения клинического улучшения удалось добиться в обеих группах. Индекс EASI снизился с 24,3±8,9 баллов до 12,7±5,7, у больных первой группы и с 12,7±5,7 баллов до 11,1±5,97 баллов во второй группе. В результате проведенного лечения удалось также добиться нормализации значения иммунологических показателей крови (табл. 1.)

На 21 день терапии у пациентов обеих групп отмечали положительную динамику всех изучаемых клинико-иммунологических показателей. Результаты этих изменений отражены на рисунке.

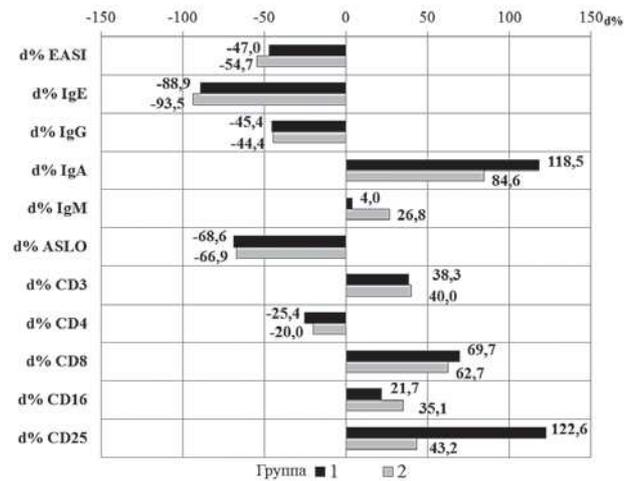


Рис. Динамика изменения клинико-иммунологических показателей (d% – темп прироста/убыли) в начале и по окончании терапии.

В результате проведенного исследования наблюдали значимые изменения всех показателей иммунограммы в обеих группах. Динамика IgE, IgM, CD3 и CD16 была более выраженной в группе с использованием фототерапии 311 нм, чем в группе классического лечения, что демонстрирует мощное десенсибилизирующее и иммуносупрессирующее воздействие узкополосной фототерапии. Темп прироста (убыли) IgG, ASLO, CD4 и CD8 различался незначительно между группами пациентов с различным лечением, что свидетельствует о сопоставимости антимикробной активности классической антибактериальной терапии и фототерапии. Различия в динамике IgA и CD25 были более сильными в группе классической терапии. Однако, согласно таблице 1, уровень IgA после проведенного лечения попадал в референтные интервалы в обеих группах исследования, а средний уровень CD25 стал превышать верхнюю границу нормы группе с использованием классической терапии.

Уровень EASI снизился в обеих группах. Средние показатели после проведенного лечения соответствовали средней степени тяжести экземы (табл. 1). Более выраженную динамику EASI наблюдали в группе с использованием фитотерапевтического лечения (Рис.). Наиболее выраженные изменения выявили в показателях зуда, все больные 2 группы отмечали быстрое его купирование уже на 3 сутки от начала лечения. Уменьшение интенсивности зуда на 3 и 7 сутки у пациентов, получавших фототерапию, статистически достоверно превышал этот показатель у лиц, пролеченных с применением антибиотиков (табл. 2).

Таблица 2

Динамика разрешения зуда у больных исследуемых групп

Зуд/дни наблюдения	Группа 1				Группа 2				P
	M	25	Me	75	M	25	Me	75	
1 сутки	8,1	7,0	8,0	9,0	7,5	7,0	8,0	9,0	0,47
3 сутки	7,1	6,0	7,0	8,0	5,0	4,0	5,0	7,0	<0,001
7 сутки	3,2	2,0	3,0	4,0	2,2	1,0	2,0	3,0	0,01
21 сутки	0,6	0,0	0,0	1,0	0,23	0,0	0,0	0,0	0,07

В группе I (классическая терапия) у 19 человек (63%, ДИ 46-80) установлено разрешение процесса, у 11 - значительное улучшение (37%, ДИ 20-54); в группе II (с применением фототерапии) - у 21 пациента (70%, ДИ 54-86) наблюдали разрешение процесса, у 9 – зна-

чительное улучшение (30%, ДИ 14-46) ($p=0,24$).

ВЫВОДЫ

Результаты исследования показали, что использование фототерапии 311 нанометров позволило достичь нормализации клеточных и гуморальных показателей иммунитета, а также значительного улучшения клинической картины у больных микробной экземой,

обусловленной бактериальной инфекцией. Согласно полученным данным, лечение с исключением антибиотиков, но с добавлением в схему фототерапии узкополосным светом демонстрирует результаты, сопоставимые с классическим лечением, что свидетельствует о целесообразности включения в классическую схему фототерапии 311 нм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скрипкин Ю.К., Кубанова А.А. Экзема. В: Кожные и венерические болезни. Руководство для врачей: в 4 т. Под ред. Ю.К. Скрипкина. М.: Медицина, 1995; 2: 28-55 [Skripkin Y.K., Kubanova A.A. Ekhzema. V: Kozhnye i venericheskie bolezni. Rukovodstvo dlya vrachej: v 4 t. Pod red. Y.K. Skripkina. M.: Medicina, 1995; 2: 28-55 (In Russ)].
2. Yamany T., Schwartz R.A. Infectious eczematoid dermatitis: a comprehensive review. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2015; 29 (2): 203-208.
3. Breuer K., Werfel T., Kapp A. Staphylococcal exotoxins as trigger factors of atopic eczema. In: New trends in allergy. Ring J., Behrend H. edition. Berlin, New York, 2002: 145-216.
4. Абдрахимова Н.А., Мустафина Г.Р., Хисматуллина З.Р., Захарченко В.Д. Иммунологическая концепция развития микробной экземы. Мед. Вестн. Башкорт. 2014; 1:109-118. [Abdrahimova N.A., Mustafina G.R., Hismatullina Z.R., Zaharchenko V.D. Immunologicheskaya koncepciya razvitiya mikrobnoj ehkzemy. Med. Vestn. Bashkort. 2014; 1:109-118 (In Russ)].
5. Лысенко О.В., Зиганшин О.Р., Лукьянчикова Л.В. Иммунологические критерии в диагностике инфекционной экземы. Клини. Дерматол. и венерол. 2015; 6: 50-55. [Lysenko O.V., Ziganshin O.R., Luk'yanchikova L.V. Immunologicheskie kriterii v diagnostike infekcionnoj ehkzemy. Klin. Dermatol. i venerol. 2015; 6: 50-55 (In Russ)].
6. Лукьянчикова Л.В. Некоторые характеристики состояния клеточного иммунитета у больных микробной экземой ГУЗ ОКВД «Областной кожно-венерологический диспансер № 3», г. Челябинск, Россия: 171-172. [Luk'yanchikova L.V. Nekotorye harakteristiki sostoyaniya kletochnogo immuniteta u bol'nyh mikrobnoj ehkzemoj GUZ OKVD «Oblastnoj kozhno-venerologicheskij dispanser № 3», g. Chelyabinsk, Rossiya: 171-172 (In Russ)].
7. Horio T. Indications and action mechanisms of phototherapy. J. Dermatol. Sci. 2000; 23 (1): 17-21.
8. Wang T.T., Nestel F.P., Bourdeau V., et al. Cuttingedge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. J. Immunol. 2004; 173: 2909-2912.

Поступила в редакцию журнала 19.03.2019

Рецензент: С.К. Клибсон



ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ КОЖНЫХ БОЛЬНЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОБИОТИКА

Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*, Гулордава М.Д. (зав. отд.), Вашкевич А.А. (доцент кафедры), Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

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

Цель исследования – изучение клинической эффективности соединения пробиотика-метаболика «Флористин форте» к стандартной терапии.

Пробиотик «Флористин форте» получили 20 пациентов, из которых 7 – с atopическим дерматитом, 4 – с микробной экземой, 4 – с псориазом, 2 – с дерматитом, 2 – с розовыми угрями, 1 – с многоформной экссудативной эритемой.

Включение в стандартную терапию дерматозов пробиотика-метаболика «Флористин форте» способствовало снижению интенсивности зуда в очагах поражения, оказало благоприятное действие на работу кишечника. Метеоризм и задержка стула разрешились у всех пациентов к 14 дню лечения.

Ключевые слова: atopический дерматит, псориаз, экзема, дисбиоз, пробиотики

FUNCTIONAL NUTRITION OF SKIN PATIENTS WITH THE USE OF PROBIOTIC

Kornisheva V.G. (professor of the department), Gulordava M.D. (head of the clinical department), Vashkevich A.A. (associate professor of the department), Raznatovsky K.I. (head of the department)

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

The aim of the research was to study the clinical efficacy of the addition of probiotic-metabolic «Floristin Forte» to standard therapy.

20 patients received Probiotic «Floristin Forte», 7 of them – with atopical dermatitis, 4 – with microbial eczema, 4 – with psoriasis, 2 – with dermatitis, 2 – with rosacea, 1 – with multiforme exudative erythema.

The inclusion of the probiotic-metabolic «Floristin Forte» in the standard therapy of dermatoses contributed to the decrease in the intensity of itching in the lesions had a favorable effect on the bowel. Flatulence and stool retention were resolved in all patients by the 14th day of treatment.

Key words: atopical dermatitis, psoriasis, eczema, dysbiosis, probiotics

ВВЕДЕНИЕ

Распространенность заболеваний кожи неуклонно растет, и наибольшее медико-социальное значение приобретает заболеваемость atopическим дерматитом (АД), который развивается у лиц с генетической предрасположенностью к atopии и имеет рецидивирующее течение с возрастными особенностями клинических проявлений. Дерматоз, начинаясь в раннем детском возрасте, периодически обостряется. Сменяются периоды обострения на периоды ремиссии.

В настоящее время в патогенезе дерматозов аллергического генеза значительную роль отводят триггерным факторам (бактериальным, микогенным, герпетическим и цитомегаловирусным инфекциям), а также дисбиозу кишечника с повышенной пролиферацией патогенной и условно-патогенной биоты. Доказана роль дисбиоза кишечника в увеличении тяжести течения дерматоза у детей [1, 2]. Дисбиоз кишечника был выявлен у 69% пациентов с АД, отмечено возрастание частоты и длительности рецидивов дерматоза у этой группы больных [3].

Основная функция нормобиоты кишечника заключается в поддержке неспецифических защитных реакций и стимуляции ассоциированной с ним иммунной системы. Нормальная микробиота кишечника обеспечивает изменение иммуногенности чужеродных белков путем протеолиза; снижает секрецию медиаторов воспаления в кишечнике; уменьшает интестинальную проницаемость и обеспечивает направление антигена к пейеровым бляшкам. Эти же эффекты реализуются в пробиотических препаратах. Дефицит облигатных бифидум-бактерий и лактобацилл создает условия для адгезии на слизистой оболочке кишечника условно-патогенной бактериобиоты [4]. Жизнедеятельность бифидо- и лактобактерий в кишечнике оказывает иммуномодулирующее действие [5].

В настоящее время пробиотики выпускаются в виде продуктов питания, биологических активных добавок, лекарственных средств. Количество бактерий в разных пробиотиках варьирует в зависимости от рода, вида и штамма микроорганизмов. Дозировки пробиотиков рассчитываются в колониеобразующих единицах (КОЕ) – количестве микроорганизмов, способных образовывать колонии на агаровой среде. Для реализации лечебного эффекта количество микробных тел должно быть не ниже 10^7 в одном грамме или миллилитре.

Продукты с пробиотиками являются представителями функционального питания и предназначены для систематического употребления всеми возрастными группами населения с целью снижения риска связанных с питанием заболеваний, сохранения и улучшения здоровья за счет наличия в их составе физиологически активных пищевых ингредиентов. Сырьем для производства продуктов лечебного питания служат молочные смеси, заквашенные бифидобактериями и лактобактериями в сочетании с кефирной закваской. Продукты гидролиза казеина стимулируют пролиферацию бифидобактерий, способствуют образованию короткоцепочечных жирных кислот и других метаболитов, которые снижают рН кишки и ингибируют рост избыточной условно-патогенной микробиоты. С целью профилактики и лечения дисбиоза кишечника производятся не только кисломолочные продукты,

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

но и соки, каши, кондитерские изделия, мороженое, смеси для детского питания. Функциональное питание с применением пробиотических продуктов должно быть длительным, поэтому является оправданным приготовление кисломолочных продуктов, обогащенных полезными бактериями (лактобактериями, бифидобактериями, термофильными стрептококками), в домашних условиях [2, 6, 7].

Цель исследования – изучение клинической эффективности присоединения пробиотика-метаболика «Флористин форте» к стандартной терапии дерматозов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробиотик «Флористин форте» получили 20 пациентов (женщин – 14, мужчин – 6) в возрасте от 21 до 67 лет. Атопический дерматит диагностирован у 7 больных, микробная экзема – у 4, дерматит – у 2, псориаз – у 4, розовые угри – у 2, многоформная экссудативная эритема – у 1. При поступлении в клинику 3 пациента жаловались на неустойчивый стул, 9 – на запоры, 2 – на тошноту, 13 – на вздутие живота. После обследования и консультации терапевта у 5 человек был выявлен хронический гастрит, у 4 – хронический гастродуоденит, синдром раздраженного кишечника (СРК), у 1 – диарейный вариант, у 2 – СРК, вариант запоров, дисбиоз. Таким образом, у 65% больных выявили заболевание желудочно-кишечного тракта.

С первых дней госпитализации в сочетании со стандартной терапией пациенты получали пробиотик-метаболик «Флористин форте», который состоит из трех компонентов:

1) жидкой культуры активных молочнокислых ацидофильных бактерий *Lactobacillus acidophilus* фармацевтического штамма EP317\402 «Наринэ» в количестве не менее 1 млрд. в 1мл;

2) продуктов метаболизма *L. acidophilus* фармацевтического штамма EP317\402: витамины, микроэлементы, аминокислоты, органические кислоты (молочная, янтарная);

3) антимикробных веществ натурального происхождения.

«Флористин форте» относится к IV поколению жидких комбинированных препаратов (синбиотики), состоящих из штамма бактерий и ингредиентов, способствующих их росту, размножению и метаболической активности.

L. acidophilus обладают способностью вырабатывать молочную кислоту, перекись водорода, лизоцим, бактериоцины и другие вещества, обладающие свойствами природных антибиотиков, подавляют патогенные, гнилостные микроорганизмы;

- разрушают и выводят токсины, бактериальные и пищевые аллергены;

- обеспечивают детоксикацию – блокируют соли тяжелых металлов, органические яды;

- повышают сопротивляемость организма к инфекции и стрессу;

- способствуют устранению симптомов кишечных расстройств, восстанавливают перистальтику кишечника;

- синтезируют витамины группы В, К, фолиевую, биотин, рибофлавин;

- способствуют усвоению кальция, железа, витами-

нов;

- стимулируют рост бифидо- и лактобацилл других видов;

- участвуют в синтезе незаменимых аминокислот (триптофана);

- регулируют метаболизм желчных кислот, холестерина;

- расщепляют лактозу.

L. acidophilus устойчивы к действию желудочного сока и солей желчных кислот.

Пробиотик «Флористин форте» применяли больным по 2 столовые ложки 3 раза в день после еды в комплексе со стандартным лечением (курс – 2 недели), эффективность оценивали через 7 и 14 дней. При антибактериальной терапии пробиотик назначали с первого дня лечения с интервалом 2-4 часа после приема антибиотиков и продолжали на протяжении всего периода их применения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пробиотик «Флористин форте» получили 20 пациентов с различными дерматозами, в основном – с зудящими (65%). Изменение характера зуда и физиологических отклонений кишечника представлены в таблицах 1-2.

Таблица 1

Изменение характера зуда в очагах поражения				
Сроки обследования	Выражен значительно	Умеренно	Слабо выражен	Отсутствует
До лечения	12 (60%)	4 (20%)	0 (%)	4 (20%)
После 7 дней лечения	0 (%)	10 (50%)	6 (30%)	4 (20%)
На 14 день лечения	0 (%)	0 (%)	4 (20%)	16 (80%)

Таблица 2

Изменение функциональной работы кишечника при применении пробиотика «Флористин форте»				
Сроки обследования: симптомы	Выражена значительно	Умеренно	Слабо выражена	Отсутствует нарушение
До лечения:				
Метеоризм	5 (25%)	6 (30%)	5 (25%)	4 (20%)
Спорадический стул	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)	17 (85%)
Задержка стула	6 (30%)	5 (25%)	0 (%)	9 (45%)
После 7 дней лечения:				
Метеоризм	0 (%)	6 (30%)	5 (25%)	9(45%)
Спорадический стул	0 (%)	0 (%)	3(15%)	17(85%)
Задержка стула	0 (%)	4(20%)	7(35%)	9(45%)
На 14 день лечения:				
Метеоризм	0 (%)	0 (%)	0 (%)	20 (100%)
Спорадический стул	0 (%)	0 (%)	1 (5%)	19 (95%)
Задержка стула	0 (%)	0 (%)	0 (%)	20 (100%)

До лечения зуд был значительно выражен у 60% больных, отсутствовал у – 20% (4 чел.); спустя неделю от начала терапии его интенсивность снизилась: он умеренно беспокоил 10 пациентов (50%) и ни у одного не сохранялся на прежнем уровне; к концу срока лечения он оставался слабовыраженным только у 4 (20%) больных.

Таким образом, включение в стандартную терапию дерматозов пробиотика «Флористин форте» способствовало снижению интенсивности зуда в очагах поражения, который у 80% пациентов полностью исчез

к концу лечения.

Изменение функциональной работы кишечника у пациентов при применении пробиотика «Флористин форте» представлено в таблице 2. До лечения метеоризм был значительно и умеренно выражен у 55% больных, отсутствовал – у 20% (4 чел.); через неделю после начала терапии он исчез у 45% и ни у одного человека не оставался значительно выраженным. К концу второй недели лечения у всех пациентов прекратились жалобы на вздутие живота.

Перед лечением неустойчивый, спорадический стул отмечали у 3 человек. К концу 7 дня лечения в этой группе больных наблюдали нормализацию стула. У всех пациентов спорадические случаи его нарушения были слабо выражены. К концу второй недели терапии жалобы на слабовыраженный спорадический стул сохранялись у одного больного.

До лечения у большей части пациентов (55%) имели место запоры.

Спустя неделю задержка стула сохранялась у 11

(55%) человек и не была значительно выраженной. К окончанию курса терапии жалобы на запоры или задержку стула исчезли обследованных лиц. Стул стал ежедневным, не вызывающим трудности.

Прием пробиотика «Флористин форте» больные переносили удовлетворительно. Аллергических реакций отмечено не было.

ВЫВОДЫ

Включение в стандартную терапию дерматозов пробиотика-метаболика «Флористин форте» способствовало снижению интенсивности зуда в очагах поражения.

У лиц с дерматозами применение пробиотика «Флористин форте» оказало благоприятное действие на работу кишечника. Метеоризм и задержка стула разрешились у всех больных к 14 дню лечения.

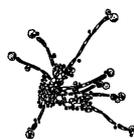
В комплексную терапию пациентам с сопутствующими жалобами на вздутие живота, запоры показано включение пробиотика «Флористин форте» длительностью не менее 14 дней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кунгуров Н.В., Герасимова Н.М., Кохан М.М. Атопический дерматит, типы течения, принципы терапии. Екатеринбург: Из-во Уральского университета, 2000: 267 с. [Kungurov N.V., Gerasimova N.M., Kohan M.M. Atopicheskij dermatit, tipy techeniya, principy terapii. Ekaterinburg: Iz-vo Ural'skogo universiteta, 2000: 267 s. (In Russ)].
2. Незабудкин С.Н., Незабудкина А.С., Антонова Т.И. Роль пробиотиков в лечении атопического дерматита у детей раннего возраста с синдромом дисбиоза кишечника. СПб., 2016: 16 с. [Nezabudkin S.N., Nezabudkina A.S., Antonova T.I. Rol' probiotikov v lechenii atopicheskogo dermatita u detej rannego vozrasta s sindromom disbioza kischechnika. SPb., 2016: 16 s. (In Russ)].
3. Корнишева В.Г., Зверьякина Е.А. Контаминация кишечника *Candida species* при атопическом дерматите. Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (4): 25-28. [Kornisheva V.G., Zveryakina E.A. Kontaminaciya kischechnika *Candida species* pri atopicheskom dermatite. Problemy medicinskoj mikologii. 2010; 12 (4): 25-28 (In Russ)].
4. Копанев Ю.А. Взаимосвязь функции местного иммунитета и микробиоценоза кишечника, возможности иммунокоррекции дисбактериоза. Лечащий врач. 2009; 9: 9-13. [Kopanev YU.A. Vzaimosvyaz' funkcii mestnogo immuniteta i mikrobiocenoza kischechnika, vozmozhnosti immunokorrekcii disbakterioza. Lechashchij vrach. 2009; 9: 9-13 (In Russ)].
5. Шевяков М.А., Соболев А.В. Иммуномодуляция пробиотиками: спектр клинического приложения и условия эффективности. Трудный пациент. 2013;11 (11): 43-47. [Shevyakov M.A., Sobolev A.V. Immunomodulyaciya probiotikami: spektr klinicheskogo prilozheniya i usloviya ehffektivnosti. Trudnyj pacient. 2013;11 (11): 43-47 (In Russ)].
6. Шендеров Б.А. Функциональное и персональное питание. Современное состояние проблемы. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2010; 2-3: 2-5. [Shenderov B.A. Funkcional'noe i personal'noe pitanie. Sovremennoe sostoyanie problemy. Gastroehnterologiya Sankt-Peterburga. 2010; 2-3: 2-5 (In Russ)].
7. Кондрашина Э.А. Современные пробиотики, достоинства и недостатки. СПб., 2016: 22 с. [Kondrashina E.H.A. Sovremennye probiotiki, dostoinstva i nedostatki. SPb., 2016: 22 s. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 18.02.2019

Рецензент: М.А. Шевяков



ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ *PSEUDALLESCHERIA BOYDII*, *P. ELLIPSOIDEA* И *P. ANGUSTA*

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

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

Представлены данные световой и электронной микроскопии по цитологической организации выращенных *in vitro* клеток гиф *Pseudallescheria boydii*, *P. ellipsoidea* и *P. angusta*. На полутонких эпюксидных срезах колоний изученных штаммов *P. boydii*, *P. ellipsoidea* и *P. angusta* особенности анатомического строения были идентичными; выявленные различия в толщине воздушного и субстратного мицелия, а также плотности расположения зрелых конидий различных штаммов *P. boydii* демонстрируют межштаммовые различия.

Клетки мицелия изученных видов содержали одно ядро с низким содержанием конденсированного хроматина. Морфогенез клеток воздушного и погруженного мицелия сопровождался усилением вакуолизации, увеличением числа митохондрий с формированием одной гигантской митохондрии в клетках субстратного мицелия, синтезом разнообразных запасных веществ, компонентов эндомембранной системы и разных типов внеклеточных метаболитов.

Ключевые слова: сравнительный анализ, клетки гиф, *in vitro*, *Pseudallescheria boydii*, *P. ellipsoidea*, *P. angusta*, штаммы, ультраструктура

ELECTRON-MICROSCOPIC INVESTIGATIONS OF *PSEUDALLESCHERIA BOYDII*, *P. ELLIPSOIDEA* AND *P. ANGUSTA*

Stepanova A.A. (head of the laboratory), 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, St. Petersburg, Russia

The light- and electron microscopic data about the cytological organization of *in vitro* growing hyphal cells of *Pseudallescheria boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* were presented. Peculiarities of anatomical structure on semi-thin epoxy sections between the investigated *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* strains colonies were identical; differences in thickness of aerial and substrate mycelium; the density of mature conidia distribution in the different strains cultures in *P. boydii* demonstrated the inter-strains differences.

Cells of the mycelium of investigated species contained one nucleus with the low level of condensed chromatin. Morphogenesis of aerial and submerged mycelium cells included increasing of vacuolization, development of the one giant mitochondrion (in the submerged mycelial cells), synthesis of various types of storage substances, components of endomembrane system and different types of extracellular metabolites.

Key words: comparative analysis, hyphal cells, *in vitro*, *Pseudallescheria boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta*, strains, ultrastructure

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

INTRODUCTION

The genus *Pseudallescheria* (*Ascomycota*, *Euascomycetes*, *Microascales*, *Microascaceae*) include 10 species. *Pseudallescheria* is the teleomorphic state of the anamorph – *Scedosporium*. These fungus are ubiquitous, saprophytic and can be isolated from agricultural soil and polluted water [1]. These fungi cause cutaneous infection and disseminated invasive infections in immunocompromised patient which are potentially fatal [1-3]. The application of septal ultrastructure to ascomycete systematics has been limited [4]. In literature the data on the ultrastructural patterns of hyphal cells morphogenesis of *Pseudallescheria* species is absent. This knowledge is very important for understanding, firstly, the degree of the relationships between the different *Pseudallescheria* species and, secondly, with its anamorphs. Thus, the aim of the present work was comparative analysis of the *in vitro* growing hyphal cell morphogenesis on the example of different strains of *P. boydii* and another species – *P. ellipsoidea* and *P. angusta*. It was important to compare this data with the similar obtained for its anamorphs – *Scedosporium apiospermum* [5] and *S. aurantiacum* [6].

MATERIALS AND METHODS

Four strains of *P. boydii* (CBS 117410, 117432, 120157, 301.79), one of *P. ellipsoidea* (CBS 301.709) and *P. angusta* (CBS 254.72) were cultured *in vitro* on potato dextrose agar (20 days incubation at 28° C) and were verified by rDNA ITS sequencing.

For scanning electron microscopy (SEM) the part of fungal colonies with nutrient medium after 7 and 20 days of sowing was transported in 3% glutaraldehyde (on 0,1 M cacodylate buffer) for 3 hour, post-fixed overnight in 1% osmium tetroxide in the same buffer, dehydrated by ethanol series (30°→70°), critical-point dried (HCP-2) for 15 min, coated with gold and observed in JSM 35 (JEOL, Tokyo, Japan).

For transmission electron microscopy (TEM) the pieces of medium with different part of fungal colonies after 7 and 20 days of cultivation were fixed for 3 h in 3% glutaraldehyde and post-fixed in 1% osmium tetroxide during 10 h. Samples were dehydrated through series of ethanol and acetone and embedded in epon-araldite epoxy resin. Prior to TEM observation, light microscopic investigations of semi-thin epoxy sections (3-5 μm) were performed on Pyramitome 1180 (LKB, Bromma, Sweden) by using glass knives. Epoxy sections were stained with toluidine blue and investigated under a light microscope Leica DM 4000 (Leica Microsystem Inc, US). Ultrathin sections were cut with an Ultratome V 2088 (LKB, Bromma, Sweden), stained with uranyl acetate and lead citrate and examined under a JEM-100 CX II transmission electron microscope (Jeol, Tokyo, Japan).

RESULTS AND DISCUSSION

Semi-thin longitudinal epoxy sections through the 20-days old mature part of strains colony demonstrated the presence of 3-ree distinct layers (Fig. 1 a-e, layers 1-3). The arrows on this figure demonstrate the nutrient medium surfaces. The 1-st outer layer demonstrated the aerial mycelium and 2-nd and 3-rd - submerged. All 3-ree layers were composed from dead or senescent hyphal cells. In one strain of *P. boydii* (CSB 117410) the thickness of aerial and submerged mycelium was equal (Fig. 1 a). In another *P.*

boydii strain (CBS 117432, fig. 1 b) the aerial mycelium was 2 times thinner than the submerged and in the strain CBS 120157 – 7 times (Fig. 1 c). In *P. ellipsoidea* (CBS 301.709) cultures the thickness of aerial mycelium in 6 times thinner than submerged (Fig. 1 d) and in cultures of *P. angusta* (CBS 254.72) the aerial mycelium was in 3 times thinner than the submerged (Fig. 1 e). In cultures of all analyzed species mature conidia were observed in the 3 lower submerged layers, but their concentration in the upper part (layers 2) of submerged mycelium was maximal (Fig. 1 a-e). As it was obvious on the semi-thin sections that the most higher level of the mature conidial concentration were typical for the *P. boydii* strain CBS 117432 (Fig. 2 b, layer 2). Hence, the common patterns of anatomical structure between the investigated *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* strains cultures were identical. Differences in the thickness of aerial and submerged mycelium and the density of mature conidia between the different strains cultures of *P. boydii* show the inter-strains differences.

Under SEM (Fig. 2) in the surfaces of central mature parts of 20 days old cultures of all investigated *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* strains we revealed the single small or variable in sizes clusters of bodies (Fig. 2 a-g). In cultures of the *P. boydii* (strains CBS 117410, fig. 2 a), CBS 117432 (Fig. 2 b), CBS 120157 (Fig. 2 c) we observed the spherical sclerotia (Table) with crystalline texture of surfaces, but according data in literature [3] for this species were typical cleistothecia (Table). In mature cultures of *P. ellipsoidea* (strain CBS 301.79, fig. 2 d, e, table) and *P. angusta* (CBS 254.72) we revealed sclerotia (Fig. 2 d, f) and cleistothecia (Fig. 2 e, g). But in last species sclerotia were ellipsoidal. Sclerotia were also present in mature cultures of *S. aurantiacum* [6], but absent in *S. apiospermum* (Table) [5].

The diameter of the mature hyphal cells of aerial and submerged mycelium of the investigated cultures varied from 3,5 to 4,5 µm. The hyphal cells of all investigated *P. boydii* strains (Table, fig. 3 a, f, q) contain one ellipsoidal interphase nucleus with irregular envelope. Contrary the hyphal cells of *P. ellipsoidea* (Fig. 3e, c, table) and *P. angusta* (Fig. 3 b, d) contain from 1 to 2 nuclei with the similar ultrastructure. For comparison hyphal cells of *S. apiospermum* [5] and *S. aurantiacum* [6] also posses of one interphase nucleus, but vegetative cells of first species has more large interphase nucleus in comparison with *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* (Table). The interphase nucleus localized in the central part of hyphal cell and often occupied its lumens, contain the moderate level of randomly distributed condensed chromatin. Nucleolus localized near nuclear envelope (Fig. 3 j), spherical (0,5 µm), contain granular and fibrillar components.

The morphogenesis of hyphal cells in all investigated strains cultures pass on 3-ree main stages: 1) growth, 2) maturation and 3) senescence. The first (Fig. 3 e, 5 a) and third (Fig. 3 d, q, 5 e) stages pass uniformly, but in second stage (Fig. 5 b-d) significant differences were revealed between mature hyphal cells of *P. boydii* (CBS 117410, 117432, 129157, fig. 5 b), *P. ellipsoidea* (CBS 301.79, fig. 5 c) and *P. angusta* (CBS 254.72, fig. 5 e).

Young hyphal cells contained uniformly localized small vacuoles (Fig. 3 e, 5 a). They may be light or contain thin-fibrillar material (Fig. 3 e). Mitochondria (from 6 to 8 on median cell section) distributed on the periphery of cells near the cell wall. They were single or in small groups, spherical (0,6 µm) or ellipsoidal (0,5 x 0,6 µm). Mitochondrial matrix was dark in comparison with cytosol.

During the growth of hyphal cells of aerial and submerged mycelium the number of mitochondria

Table

The main cytological characteristics of in vitro growing hyphal cells of *S. apiospermum*, *S. aurantiacum*, *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta*

Strains	Size of mature sclerotia/cleistothecia, µm	Number of interphase nuclei	Diameter of the interphase nucleus, µm	Level of chromatinization	Contour of the nuclear envelope	Presence of mitochondrial reticulum in aerial and submerged mycelium	Types of storage substances in mature hyphal cells	Presence of RER and SER	Presence of microbodies in the hyphal cells of aerial and submerged mycelium	Presence of the extracellular slime	Presence of extracellular lipophylic substances
<i>Scedosporium apiospermum</i>											
RCPFF 1491/1057	- / -	1	2,0 x 1,2	Low	Irregular	+ / +	LI, α, GV, PG	+ / +	+ / +	+	+
RCPFF 490/712	- / -	1	2,0 x 1,2	Low	Irregular	+ / +	LI, α, GV, PG	+ / +	+ / +	+	+
<i>Scedosporium aurantiacum</i>											
CBS 116910	100-120/-	1	1,78 x 1,42	Low	Regular	- / -	LI, α	+ / -	+ / +	+	-
CBS 136047	80-110/-	1	1,80 x 1,6	Low	Regular	- / -	LI, α	+ / -	+ / +	+	-
CBS 136049	90-100/-	1	1,70 x 1,4	Low	Regular	- / -	LI, α	+ / -	+ / +	+	-
CBS 136.046	90-100/-	1	2,5 x 2,0	Low	Irregular	+ / +	LI, α, LIV, GV	+ / +	+ / +	+	+
<i>Pseudallescheria boydii</i>											
CBS 117410	50 / -*	1	1,2 x 1,5	Low	Irregular	- / +	LI, α, β	+ / -	+ / +	+	-
CBS 117432	70 / -*	1	1,5 x 3,5	Low	Irregular	- / +	LI, α, β	+ / -	+ / +	+	-
CBS 120157	50 / -*	1	1,2 x 2,0	Low	Irregular	- / +	LI, α, β	+ / -	+ / +	+	-
<i>Pseudallescheria ellipsoidea</i>											
CBS 301.79	50 / 70	1-2	1,3 x 2,0	Low	Irregular	- / +	LI, α, β, GV, FB, PG	+ / -	+ / +	-	-
<i>Pseudallescheria angusta</i>											
CBS 254.72	40 x 60 / 80 x 100	1-2	1,2 x 2,0	Low	Irregular	- / +	LI, α, β, GV, FB, PG	+ / -	+ / +	+	-

Notice: -* – we not revealed cleistothecia, but according Hoog G.S. de, et al. (2011) they were typical for this species; α – alpha-glycogen; β – beta-glycogen; FB – fibrosinous bodies; GER – granular endoplasmic reticulum; GV – protein globule in vacuole; LI – lipid inclusions; LIV – lipophilic substances in vacuole; RER – rough endoplasmic reticulum, PG – polyphosphate granule in vacuole.

was increased (10-17 on median section). They were polymorphic (0,2-0,4 μm), straight or slightly curved and situated in near cell wall. Often on the sections of cells of submerged mycelium of the all investigated in present work species we revealed long (3,5-4,3 μm) profiles of the one giant organelle, so called «mitochondrial reticulum» (Fig. 3 f, q, table).

In the investigated strains of *P. boydii* and *P. ellipsoidea* mitochondrial reticulum was revealed only for hyphal

cells of submerged mycelium, but in *P. angusta* and *S. apiospermum* – in aerial and submerged (Table). In hyphal cells of *S. aurantiacum* (Table) mitochondrial reticulum was absent. The presence of mitochondrial reticulum in hyphal cells of aerial and submerged reticulum of *S. apiospermum*, *S. aurantiacum* (CBS 136.046) and *P. angusta* demonstrated its high metabolic activity. In all analyzed species and strains this component present in cells of submerged mycelium.

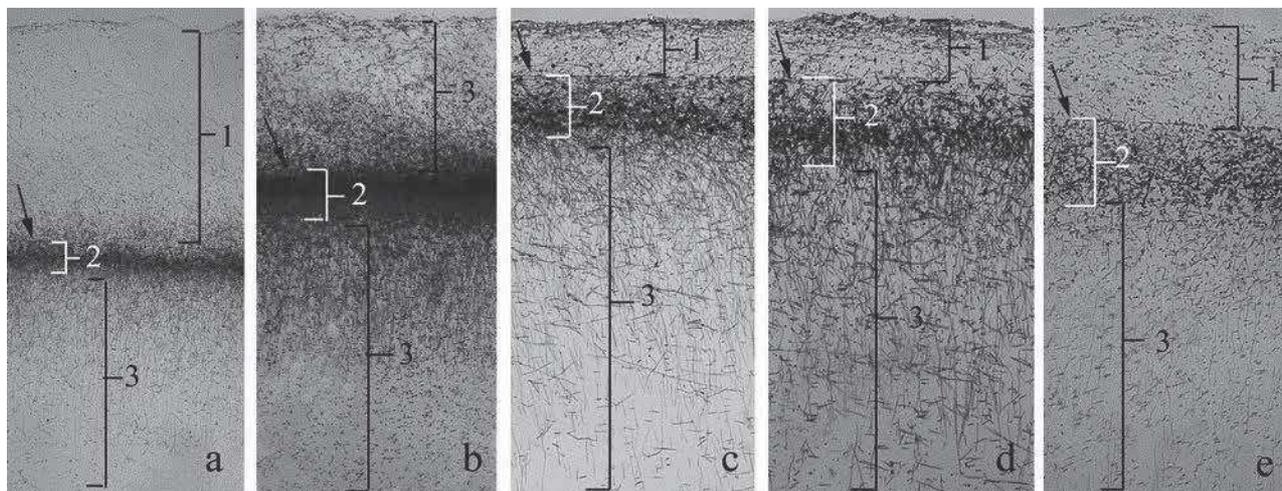


Fig. 1. Light microscopy of longitudinal semi-thin epoxy sections of the mature part of colony *P. boydii* (a-d) and *P. angusta* (e). a – CBS 117410, b – CBS 117432, c – CBS 120157, d – 301.79, e – CBS 254.72. Magnification: a-c – x 400.

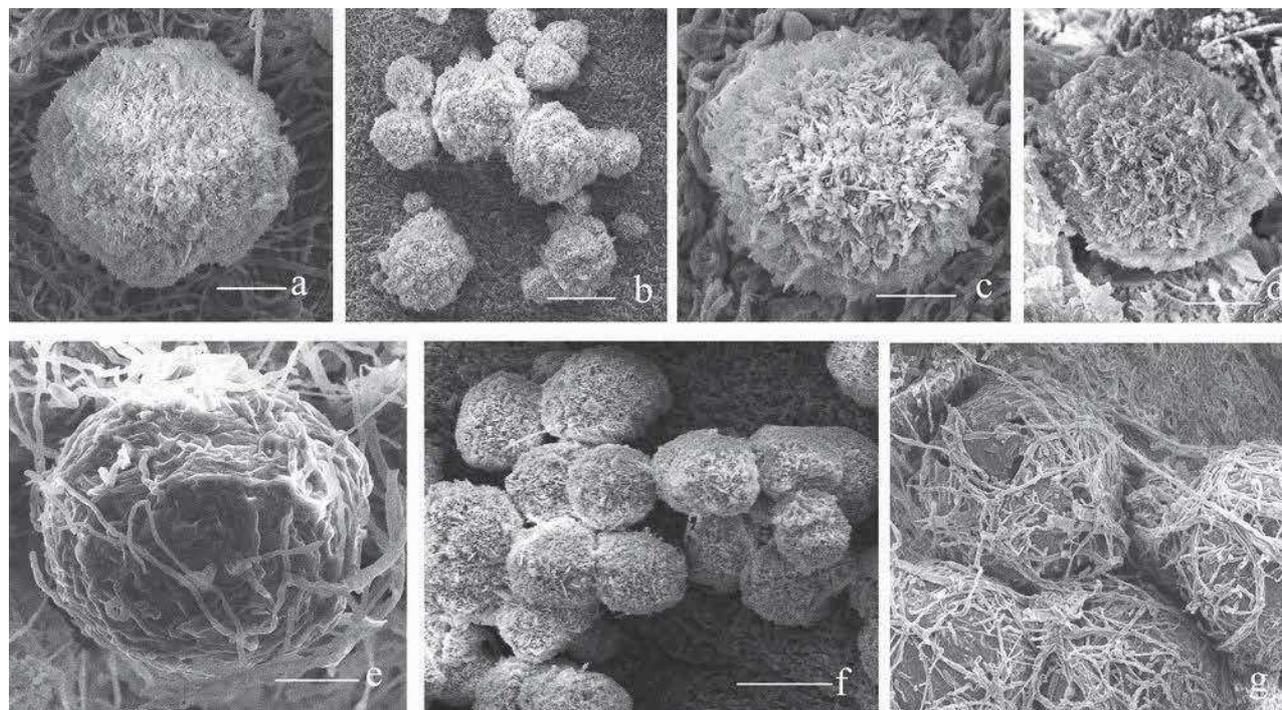


Fig. 2. Ultrastructure of the sclerotia (a-d, f) and cleistotecia (e, g) in cultures of *P. boydii* (a-e) and *P. angusta* (f, g). a – CBS 117410, b – CBS 117432, c – CBS 120157, d, e – 301.79, f, g – CBS 254.72. Scale bars: a, c, d, e, - 10 μm , b, f - 50 μm , g - 20 μm .

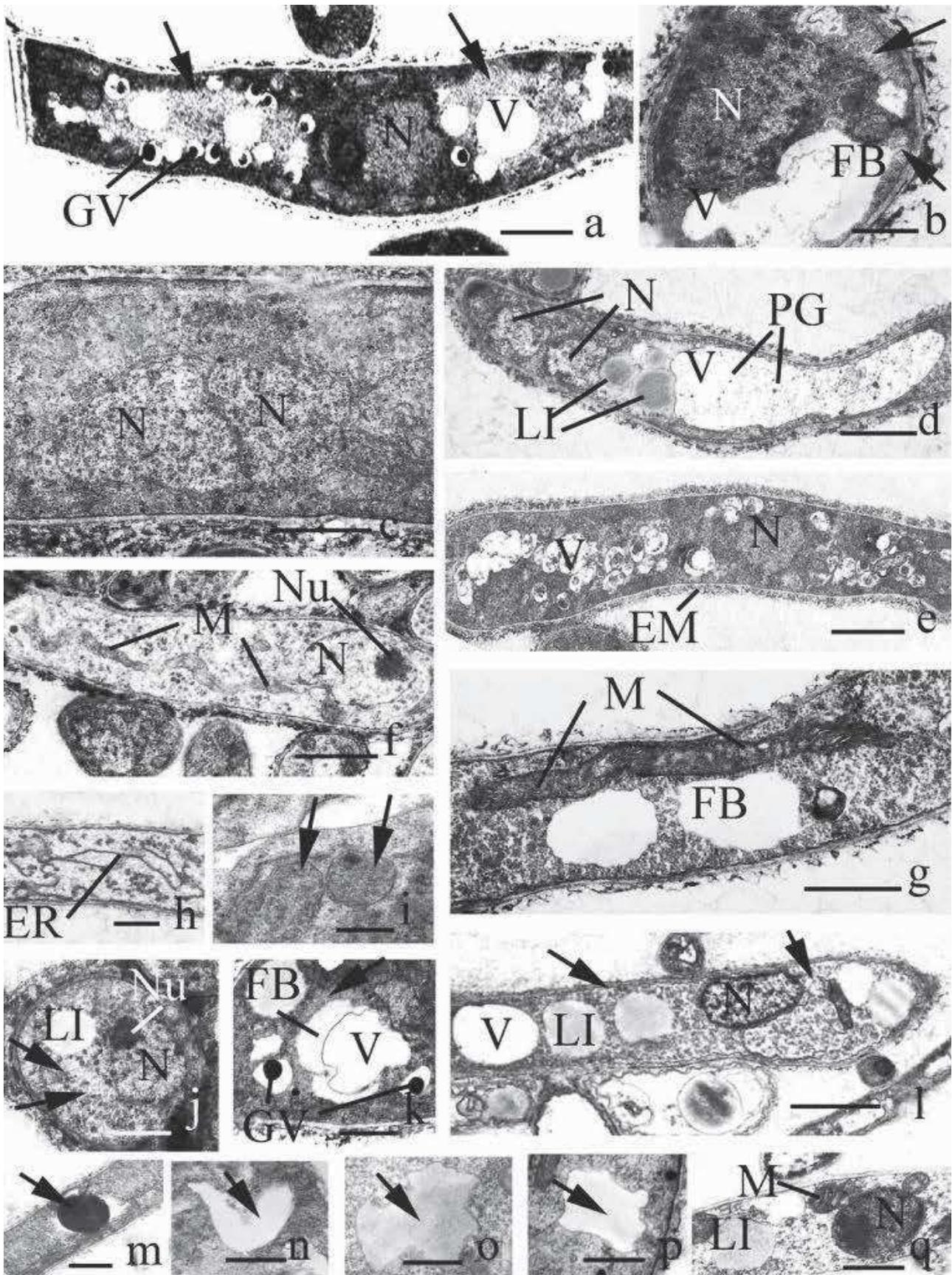


Fig. 3. Ultrastructure of the hyphal cells of *P. boydii* (a, e, f, h, q), *P. angusta* (b, d, j, m-o) and *P. ellipsoidea* (c, g, i, k, l, p). Scale bars: a, d, e, f, l, g, q, h, m – 1 μm, b, c – 1,5 μm, i, j, k – 0,2 μm, n-p – 0,1 μm. Abbreviations used: EM – extracellular matrix, ER – endoplasmic reticulum, FB – fibrosinous body, GV – protein granule in vacuole, LI – lipid inclusion(s), M – mitochondrion, N – nucleus, Nu – nucleolus, PG – polyphosphate granules, V – vacuole.

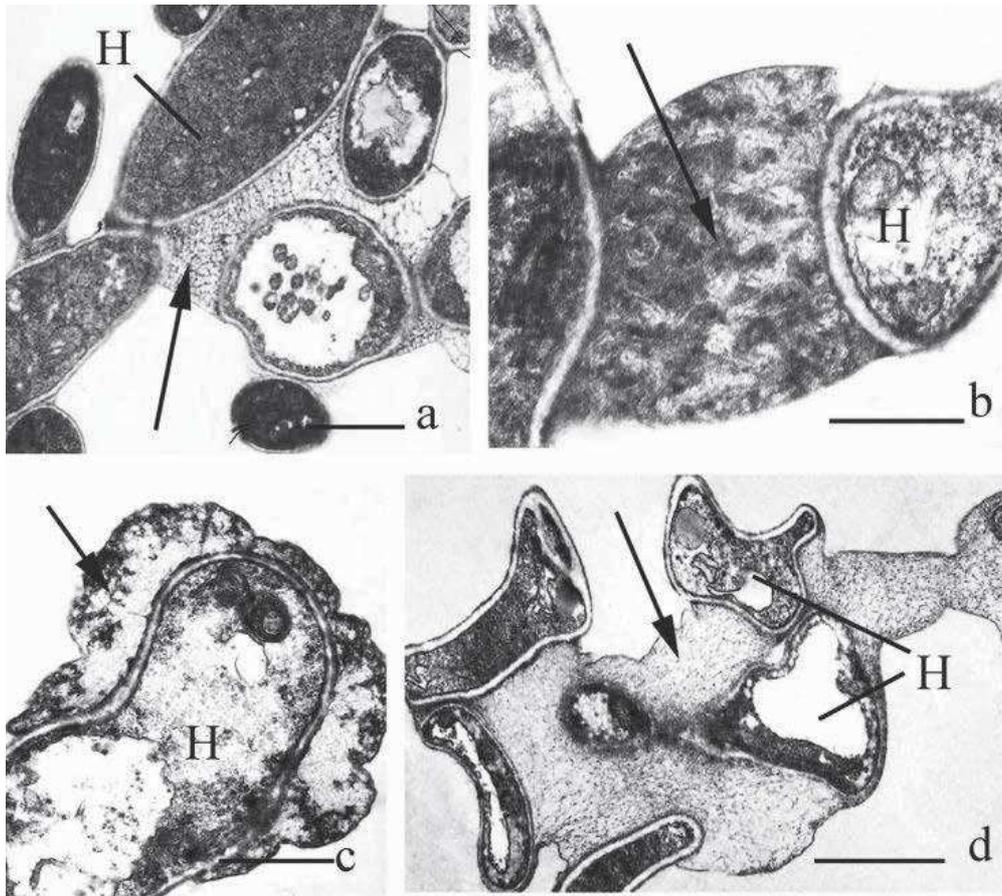


Fig. 4. The structure of the external metabolites of the hyphal cells of aerial mycelium: a – *P. boydii* (CBS 117432), b-d – *P. angusta* (CBS 254.72). Scale bars: a, d – 2 μm , b – 0,5 μm , c – 1, 5 μm .

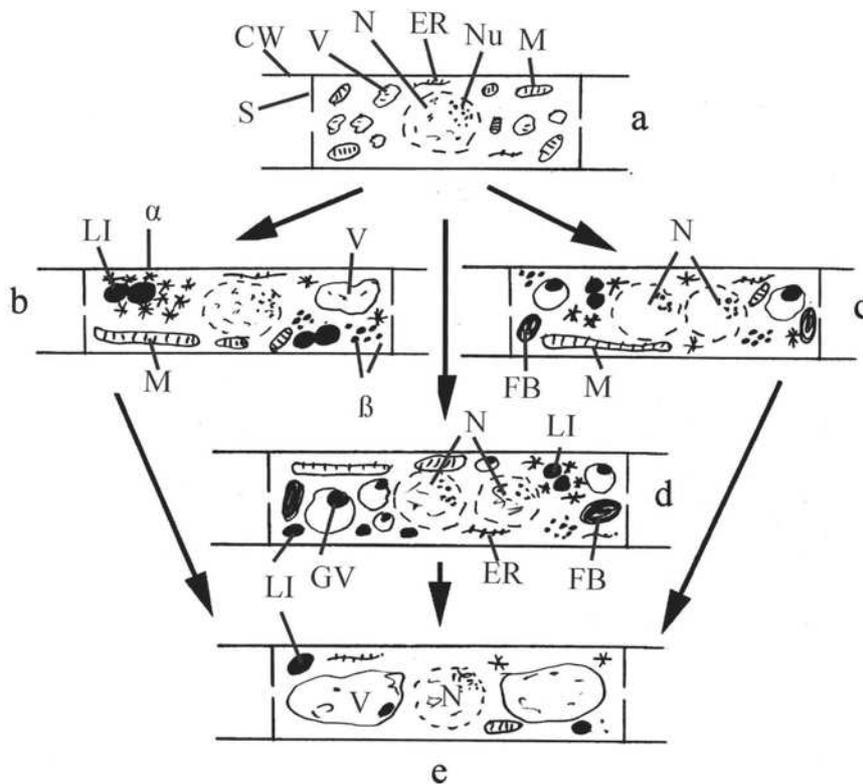


Fig. 5. Diagrams showing the peculiarity of development the hyphal cells of *P. boydii* (a, b, e), *P. ellipsoidea* (a, c, e) and *P. angusta* (a, d, e). Abbreviations used: α – alpha-glycogen, β – beta-glycogen, CW – cell wall, FB – fibrosinous body, ER – rough endoplasmic reticulum, GV – protein globule in vacuole, LI – lipid inclusions, M – mitochondrium, N – nucleus, Nu – nucleolus, S – septum. Polyphosphate granules in vacuoles of *P. ellipsoidea* and *P. angusta* for senescence hyphae (e) not demonstrated.

The components of the endomembranous system were not so good developed. Only moderate number of long straight or slightly curved cisterns of rough endoplasmic reticulum were revealed (Fig. 3 h). Small number (from 3 to 6 on median cell section) single or in small groups light secretory vesicles (60-70 nm) with thin-fibrillar content were distributed in cytosol. The rare (from 1 to 2 on median section) of large (0,3-0,4 μm) microbodies with thin-fibrillar content revealed near the cell wall (Fig. 3 i, f, table) of hyphal cells in *P. boydii* (CBS 120157), *P. ellipsoidea* (CBS 301.79) and *P. angusta* (CBS 254.72).

Cytosol was moderately electron dense and rich with free ribosomes. Plasma membrane was three-layered, closely contact with the electron-transparent thin (0,05 μm) light cell wall (Fig. 3 e, arrow) which in hyphal cells of submerged mycelium covered with dark extracellular matrix (Fig. 3 e).

During the hyphal cell growth the size of vacuoles was increased. When hyphal cells finished growth the stage of maturation start. During this process synthesis of storage substances began. In cells of aerial and submerged mycelium of *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta* the three types of storage substances were revealed: lipid inclusions (Fig. 3 d, l, table), rosettes of α - (Fig. 3 q, j, l, arrows) and granules of β -glycogen (Fig. 3 a, b, k, arrows). In the mature hyphal cells of *P. ellipsoidea* (CBS 301.79, fig. 3 k) and *P. angusta* (CBS 254.72, fig. 3 l) we observed the globule (0,2-0,6 μm) of protein in vacuoles and fibrosinous bodies with variable size and form in cytosol (Table, fig. 3 b, g, n-p). Lipid inclusions dominate, variable in size (0,3-0,6 μm). As a rule, they were surrounded with rosettes of α -glycogen (Fig. 3 l). The rosettes of α - and granules of β - glycogen were numerous and tightly localized. Dark single variable in size (0,2-0,6 μm) protein globules localized in vacuolar content near the tonoplast (Fig. 3 k, m). In fungi fibrosinous bodies are rare type of fungal storage substances. They were revealed in the yeast cells of *Cryptococcus neoformans* [7, 8] and vegetative mycelium of *Aspergillus versicolor* [9] and *A. candidus* [10].

The mature cells of aerial mycelium in *P. boydii* (Table, fig. 4 a, arrow) produced the moderate amount of external thin-fibrillar slime. External secondary metabolites were more abundant and variable in morphology (Fig. 4 b-d) in *P. angusta*. The external metabolites outside the hyphal cells walls of aerial mycelium of *P. ellipsoidea* were absent, what distinguished this species also from investigated species of *S. apiospermum* and *S. aurantiacum* (Table). For hyphal cells of aerial mycelium of *S. apiospermum* [5] and one strain from four investigated *S. aurantiacum* [6] the synthesis and secretion of abundant external lipophilic substances were typical. In our opinion the rare type of smooth endoplasmic reticulum, which we revealed in the cells of aerial mycelium of this species, participate in the synthesis of this lipophilic substance. It may be pigment, which presence of in extracellular space of the hyphal cells of aerial mycelium determinate its yellow color [5, 6].

The presence of different types of extracellular metabolites outside the hyphal cells of investigated in vitro growing strains *S. apiospermum*, *S. aurantiacum*, *P. boydii* and *P. angusta* demonstrated its high metabolic activity, what sharply distinguished this species from *P. ellipsoidea* (Table). For comparison, for the cells of aerial mycelium of another species of pathogenic fungi such peculiarity was not typical [11-14]. In our opinion the external substances

play the adherent, protective and nutrition functions.

In the stage of senescence, large central vacuole was developed in the content of hyphal cells (Fig. 3 d, 5 e). The volume of cytosol, the amount of the storage substances and cell organelles significantly decrease. The volume of the protein globules in vacuoles, lipid inclusions and amount of glycogen in cytosol gradually decreased. Numerous small (0,1 - 0,2 μm) dark polyphosphate granules (Fig. 3 d, table) appeared in the vacuolar content of hyphal cells of *P. ellipsoidea* and *P. angusta*. The process of senescence passes according the way which was typical for *S. apiospermum* [5] and *S. aurantiacum* [6].

CONCLUSION

The longitudinal epoxy semi-thin sections through the 20-days old mature part of strains colony of investigated species of *Scedosporium* (*S. apiospermum*, *S. aurantiacum*) and *Pseudallescheria* (*P. ellipsoidea*, *P. angusta*) demonstrated the presence of three distinct layers: one layer typical for aerial mycelium and two for submerged one. The mature conidia were revealed in all this layers. But strains of this species differ according the thickness of this layers and concentration of mature conidia.

In cultures of *S. apiospermum*, contrary with *S. aurantiacum* (Table), sclerotia and cleistothecia were absent. Cultures of *P. boydii* differ from its same its anamorph *S. apiospermum* by the presence of sclerotia (Table) and cleistothecia [3]. Cultures of *P. ellipsoidea* and *P. angusta* also produced sclerotia and cleistothecia, but differed according its form (spherical in *P. ellipsoidea* and ellipsoidal in *P. angusta*).

The hyphal cells in *P. ellipsoidea* and *P. angusta* differ from the same of *P. boydii*, *S. apiospermum* [5] and *S. aurantiacum* [6] by the presence of variable number (from 1 to 2) of interphase nuclei (Table). Because *S. apiospermum* and its teleomorph *P. boydii* have the same numbers of nuclei was possible to expect that for anamorphs of *P. ellipsoidea* and *P. angusta* were typical presence of 1-2 nucleus. The large interphase nuclei were typical for hyphal strains of *S. apiospermum* and one strain (CBS 136.046) *S. aurantiacum* (Table). Small nuclei were revealed in hyphal cells of *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta*. The hyphal cells of tree strains (CBS 116910, 136047, 136049) of *S. aurantiacum* according to this characteristic occupied the intermediate position.

Hyphal cells of investigated species differ according the presence of mitochondrial reticulum which presence shows the higher level of their metabolic activity. In *S. aurantiacum* hyphal cells (for exclusion CBS 136.046) this component was absent. In hyphal cells of both strains cultures of *S. apiospermum* and one strain *S. aurantiacum* (CBS 136.046) mitochondrial reticulum was typical for aerial and submerged mycelium. It was possible to notice that the last strain of *S. aurantiacum* in comparison with another produced more numerous types of storage substances (Table) [6]. Rough endoplasmic reticulum was revealed in hyphal cells of the mycelium in all species (Table), but smooth – in *S. apiospermum* and *S. auratiacum* (CBS 136.046). Microbodies were typical for all investigated cells of aerial and submerged mycelium (Table).

In general the conducted investigations demonstrated that early and final stages of morphogenesis in investigated fungi pass uniformly and differences in mature hyphal ultrastructure were present between analysed species

and sometimes strains. *S. apiospermum* differ from *S. aurantiacum* and *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angista* by the absence of sclerotium (Table).

Inter-strain differences between the mature hyphal cells of *S. apiospermum*, *S. auranticum* (for exclusion of strain CBS 136.046) and *P. boydii* were absent (Table). Cells of vegetative mycelium in cultures of *P. ellipsoidea* and *P. angista* synthesize the greatest types of the same storage substances. Only the mature cells of analyzed teleomorphic species (*P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angista*) may synthesize in cytosol dark granules of β -gly-cogen (Table). The distinctive structural feature of *P. ellipsoidea* and *P. angista* mature hyphal cells were ability to synthesize the

fibrosinous bodies. Mature hyphal cells of *S. apiospermum* contrary with the same of *P. boydii* synthesized more numerous types of storage substances.

Ultrastructural data about mature hyphal structure provide us more deep information about the morphological and physiological similarity between the strains of one species and different *Scedosporium/Pseudallescheria* species.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank to Prof. G. Sybren de Hoog from the Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) for providing cultures of *P. boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angista* strains used in this study.

REFERENCES

1. Guarro J., Gené, J., Stchigel A.M. Developments in fungal taxonomy. Clin. Microbiol. Rev. 1999; 12 (3): 454-500.
2. Bibashi E., de Hoog G.S., Kostopoulou E., et al. Invasive infection caused by *Pseudallescheria boydii* in an immunocompetent patient. Hippokratia. 2009; 13 (3): 184-186.
3. Hoog G.S. de, et al. Atlas of clinical fungi (a recent electronic version 3.1). 2011.
4. Kimbrough J.W. Septal ultrastructure and ascomycete systematic. Ascomycete Systematics. 1994; 269: 127-141.
5. Stepanova A.A., de Hoog G.S., Vasilyeva N.V. Cytological study of the in vitro growing cells of vegetative mycelium of *Scedosporium apiospermum*. Fungal Biology. 2016; 120: 147-154.
6. Stepanova A.A., Yamaguchi M.M., Chibana H., Vasilyeva N.V. Comparative ultrastructural analysis of the in vitro growing hyphal cells of *Scedosporium aurantiacum*. Problems in medical mycology. 2017; 19 (3): 18-25.
7. 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.
8. 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.
9. Степанова А.А., Синицкая И.А. Цитология клеток выращенного in vitro вегетативного мицелия *Aspergillus versicolor*. Проблемы медицинской микологии. 2006; 8 (3): 22-28. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Citologiya kletok vyrashchennogo in vitro vegetativnogo miceliya *Aspergillus versicolor*. Problemy medicinskoj mikologii. 2006; 8 (3): 22-28 (In Russ)].
10. Степанова А.А., Васильева Н.В., Чжан Ф., Тонг Д. Ультраструктурное исследование клеток вегетативного мицелия *Aspergillus candidus*, выращенных in vitro. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (2): 23-27. [Stepanova A.A., Vasil'eva N.V., Chzhan F., Tong D. Ul'trastrukturnoe issledovanie kletok vegetativnogo miceliya *Aspergillus candidus*, vyrashchennyh in vitro. Problemy medicinskoj mikologii. 2016; 18 (2): 23-27 (In Russ)].
11. Степанова А.А., Синицкая И.А., Авдеенко Ю.Л. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus fumigatus* Fres. Проблемы медицинской микологии. 2004; 6 (3): 34-40. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A., Avdeenko Y.L. Submikroskopicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya *Aspergillus fumigatus* Fres. Problemy medicinskoj mikologii. 2004; 6 (3): 34-40 (In Russ)].
12. Степанова А.А., Синицкая И.А. Морфогенез конидиогенного аппарата *Aspergillus terreus* Thom. по данным электронной микроскопии. Проблемы медицинской микологии. 2009; 11 (3): 26-33. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Morfogenez konidiogenno apparatata *Aspergillus terreus* Thom. po dannym ehlektronnoj mikroskopii. Problemy medicinskoj mikologii. 2009; 11 (3): 26-33 (In Russ)].
13. Степанова А.А. Ультраструктура клеток *Trichophyton violaceum*, выращенных на агаре Чапека. Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (2): 36-42. [Stepanova A.A. Ul'trastruktura kletok *Trichophyton violaceum*, vyrashchennyh na agare SНапека. Problemy medicinskoj mikologii. 2010; 12 (2): 36-42 (In Russ)].
14. Степанова А.А., Хостелиди С.Н., Аравийский Р.А. и др. Электронно-микроскопическое исследование *Lichtheimia* spp. in vivo и in vitro. Проблемы медицинской микологии. 2012; 14 (4): 55-61. [Stepanova A.A., Hostelidi S.N., Aravijiskij R.A. i dr. Elektronno-mikroskopicheskoe issledovanie *Lichtheimia* spp. in vivo i in vitro. Problemy medicinskoj mikologii. 2012; 14 (4): 55-61 (In Russ)].
15. Степанова А.А., Гагкаева Т.Ю. Цитологическое изучение клеток вегетативного мицелия *Fusarium oxysporum* Scltdl. Материалы международной научной конференции "Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке". СПб., 2013: 253-254. [Stepanova A.A., Gagkaeva T.Y. Citologicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya *Fusarium oxysporum* Scltdl. Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii "Problemy mikologii i fitopato-logii v XXI veke". SPb., 2013: 253-254 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала: 22.02.2019

Рецензент: Т.С. Богомолова



ЦИТОЛОГИЯ КЛЕТОК ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ *ASPERGILLUS FUMIGATUS* FRES., ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ТКАНИ ЛЕГКИХ МЫШЕЙ

Степанова А.А. (зав. лаб.)*, Васильева Н.В.
(директор института, зав. кафедрой), Босак И.А.
(с.н.с)

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

Впервые представлены данные по ультраструктуре клеток вегетативного мицелия штамма (РКПГФ-1172) *A. fumigatus*, выделенного из легких мышей, на среде Чапека. Показано наличие пяти основных типов зрелых клеток гиф вегетативного мицелия по: 1) размерам и форме ядер; 2) уровню развития и строению вакуола, хондриома и эндоплазматического ретикулума (ЭР); 3) наличию, отсутствию, числу и строению микротелец; 4) наличию, отсутствию и типу запасных веществ и другим признакам. Установлено, что после инфицирования легких мышей клетки вегетативного мицелия изученного штамма возвращаются в исходное состояние (репарируются), для них опять становится типичным полиморфизм ультраструктуры между смежными клетками вегетативного мицелия.

Ключевые слова: *Aspergillus fumigatus*, вегетативный мицелий, *in vitro*, репарация, ультраструктура

CYTOLOGY OF THE GROWING IN VITRO CELLS OF VEGETATIVE MYCELIUM OF *ASPERGILLUS FUMIGATUS* FRES., ISOLATED FROM MURINE LUNG

Stepanova A.A. (head of the laboratory),
Vasilyeva N.V. (director of the institute, head
of the department), Bosak I.A. (senior scientific
collaborator)

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

At the first time the data regarding the ultrastructure of the cells of vegetative mycelium of *A. fumigatus* strain's (РКПГФ-1172), which isolated from murine lung on Czapek medium were presented. Five main types of mature cells of vegetative mycelium were recognized according: 1) the sizes and form of nucleus; 2) level of development and structure of vacuoles, mitochondria and endoplasmic reticulum; 3) presence or absence, numbering and structure of microbodies; 4) presence or absence and types of storage substances and another features. It is shown that after infection of murine lung the cells of the vegetative mycelium of the studied strain return to the original state (undergo reparation), for them again were typical the polymorphism in the ultrastructure between adjacent mature cells of the vegetative mycelium.

Key words: *Aspergillus fumigatus*, *in vitro*, reparation, ultrastructure, vegetative mycelium

ВВЕДЕНИЕ

Ультраструктурные аспекты морфогенеза клеток вегетативного мицелия *A. fumigatus* изучали *in vitro* [1, 2] и *in vivo* [3-6 и др.]. Однако один из кардинальных вопросов морфогенеза патогенных грибов на ультраструктурном уровне: закрепляются ли происходящие при переходе в тканевую форму изменения в строении клеток вегетативного мицелия или он способен подвергаться репаративным изменениям и возвращаться в характерную до инфицирования «форму» до сих пор оставался открытым.

Цель исследования – на примере модельного объекта проанализировать ультраструктуру клеток вегетативного мицелия *A. fumigatus* у штамма, использованного для изучения тканевой формы гриба в эксперименте на примере легких мышей [3], после его последующего выделения в культуру, а также сравнить изменяется ли и каким образом строение клеток вегетативного мицелия до начала эксперимента (*in vitro*), при переходе его в тканевую форму (легкие мышей) и вновь после изоляции из легких мышей в культуре.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использованный штамм (РКПГФ-1172) *A. fumigatus* Fres. изначально был выделен из промывных вод больного аспергиллезом (В.В., 9.03.1999 г.). Культуру гриба использовали в эксперименте для инфицирования мышей, подробные детали проведения которого были опубликованы нами ранее [3]. Для исследования культуру гриба изолировали из легких инфицированных мышей через 5 дней после начала эксперимента, выращивали на среде Чапека в термостате при температуре 27 °С и изучали через 10 и 20 дней после посева. Методика подготовки материала для просвечивающей электронной микроскопии была описана нами ранее [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В целом дифференциация клеток гиф мицелия в пределах колоний изученного штамма *A. fumigatus* протекала в центростремительном направлении, тогда как процессы старения и отмирания – в центробежном. Такая закономерность морфогенеза был описана нами для клеток вегетативного мицелия ряда видов аспергиллов [7, 8 и др.].

В исследуемых колониях диаметр гиф варьировал от 2,5 до 3,5 мкм. В пределах одной гифы строение зрелых клеток было однотипным, однако между зрелыми клетками разных гиф были выявлены существенные различия.

Можно выделить пять основных типов строения зрелых клеток гиф. Отметим, что общими признаками строения зрелых клеток гиф вегетативного мицелия было наличие 2-4-х интерфазных ядер хроматрического типа, которые содержали одно крупное эксцентричное ядрышко округлой (0,4 мкм) или эллипсоидной (0,5 x 0,6 мкм) формы, состоящее из фибриллярного и гранулярного компонентов. Последний компонент доминировал. Зрелые клетки разных гиф различались по размерам и форме ядер, уровню развития и строению вакуола, хондриома и эндоплазматического ретикулума (ЭР), наличию, отсутствию и типу запасных веществ и другим признакам.

Зрелые клетки гиф **первого типа** содержали 2-4-х интерфазных ядра, расположенных в центральной их

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

части. Форма ядер округлая (в среднем 2,0 мкм, Рис. 1 а; 2 а), контур оболочки ядра слегка волнистый. Степень вакуолизация умеренная. Вакуоли в числе 3-4 на срезе клетки, средних размеров и мелкие, причем первые преобладали. Они округлой или слегка неправильной формы, содержали обрывки мембран, а также рыхло расположенные скопления тонко-фибрилярного материала. Для тонопласта характерен высокий контраст. Митохондрии в числе 8-10 на срезе клетки, округлой (0,2-0,5 мкм) или эллипсоидной (0,5 x 0,7 мкм) формы, с темным матриксом и многочисленными узкими светлыми кристами. ЭР развит слабо, представлен редкими, одиночными, агранулярными короткими, прямыми либо слегка извилистыми периферическими цистернами. Микротельца редкие, одиночные (Рис. 2 б), мелкие, округлой (0,2 мкм) или эллипсоидной (0,2 x 0,3 мкм) формы, умеренной электронной плотности, с тонко-фибрилярным матриксом и высококонтрастной ограничивающей мембраной. Мелкие одиночные светлые пузырьки вблизи клеточной стенки наблюдали крайне редко.

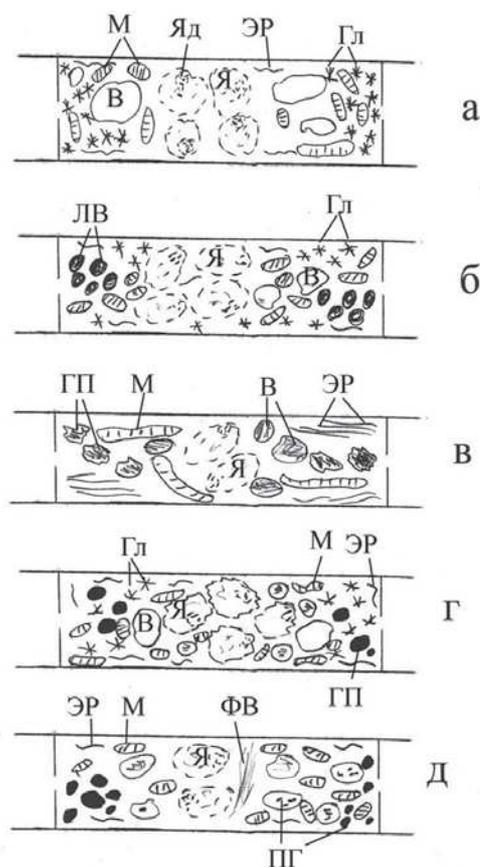


Рис. 1. Схематическое изображение ультраструктуры зрелых клеток разных типов грибов вегетативного мицелия (а-первый тип гриба, б – второй тип гриба, в – третий тип гриба, г – четвертый тип гриба, д – пятый тип гриба) *A. fumigatus*, выращенного на среде Чапека. Микротельца и пузырьки на схеме не показаны. Условные обозначения (здесь и на рис. 2, 3): В – вакуоль; ВМ – внеклеточный матрикс; ГП – гранулы полифосфатов; Гл – гликоген; КС – клеточная стенка; ЛВ – липидное включение; М – митохондрия(и); Мт – микротельце; С – септа; ТВ – тельца Воронина; ФВ – фибриллярное включение; ЭР – эндоплазматический ретикулум; Я – ядро; Яд – ядрышко.

Цитозоль в содержимом зрелых клеток всех изученных типов отличался умеренной электронной плотностью и был насыщен свободными рибосомами. Запасные вещества в виде многочисленных, уме-

ренной электронной плотности розеток α -гликогена, формирующих обширные скопления неправильной формы вблизи септ (Рис. 2 в).

Плазмалемма клеток грибов слегка извилистая, трехслойная. Клеточная стенка тонкая (0,10-0,15 мкм), двуслойная, со светлым гомогенным нижним слоем и верхним более темным фибриллярным (Рис. 2 г). Снаружи клеток грибов воздушного мицелия она несет слой варьирующей толщины (0,3-0,5 мкм), так называемый «внеклеточный матрикс», состоящий из тонко-фибрилярного материала и темных сгустков различной конфигурации. Данное строение плазмалеммы и клеточной стенки характерно и для других нижеопределенных клеток грибов вегетативного мицелия.

Для клеток грибов **второго типа** характерно наличие 2-4-х интерфазных ядер эллипсоидной формы (0,8 x 1,7 мкм, Рис. 1 б). Контур ядерной оболочки слегка волнистый (Рис. 2 д). Вакуоли по уровню развития и строению сходны с таковыми зрелых клеток вегетативного мицелия первого типа. Митохондрии в числе 7-9 на срезе клетки, одиночные либо собраны в группы, полиморфные, с матриксом умеренной электронной плотности и густыми светлыми кристами. ЭР такого же строения, что и в клетках грибов мицелия первого типа. Микротельца не обнаружены. Запасные вещества были в виде небольших скоплений умеренной электронной плотности розеток α -гликогена (Рис. 2 д), а также довольно крупных одиночных либо собранных в немногочисленные группы (Рис. 2 е) липидных включений варьирующего диаметра (0,2-0,4 мкм) и умеренной электронной плотности.

В клетках грибов **третьего типа** наблюдали два интерфазных ядра, локализующихся в их центральной части (Рис. 1 в, 2 ж). Для ядер характерна эллипсоидная (0,8 x 1,2 мкм) форма. Контур ядерной оболочки ровный. Мелкие и средних размеров вакуоли присутствовали в умеренном числе, одиночные или в небольших группах, содержащие плотно расположенные скопления темного фибриллярного материала. Митохондрии многочисленные, формировали скопления из большого числа продольно ориентированных протяженных профилей оргanelл (Рис. 2 з). При анализе серийных срезов клеток грибов третьего типа отмечали наличие в них митохондриального ретикулума – одной гигантской митохондрии. ЭР развит хорошо, состоял из довольно протяженных, собранных в группы по 7-10 агранулярных слабоизвилистых цистерн (Рис. 1 и). Запасные вещества в виде многочисленных скоплений темных крупных (0,5-0,6 мкм) глобул полифосфатов, характеризующихся наличием извилистого контура (Рис. 2 к).

Клетки грибов **четвертого типа** содержали четыре интерфазных ядра эллипсоидной формы (1,7 x 2,1 мкм, Рис. 1 г; 3 а). Оболочка ядра сильноизвилистая. Вакуоли двух типов: редкие крупные светлые и многочисленные мелкие с темными гомогенными включениями. Митохондрии в числе 9-12 на срезе клетки содержали матрикс и кристы умеренной электронной плотности. ЭР умеренно развит, в виде коротких агранулярных слабоизвилистых периферических цистерн. Микротельца обнаруживали редко, мелкие (0,3 мкм), округлой формы, одиночные. Запасные вещества представлены скоплениями из светлых розеток α -гликогена (0,1-0,2 мкм), приуроченных к клеточным стенкам, а также многочисленными одиночными, темными, го-

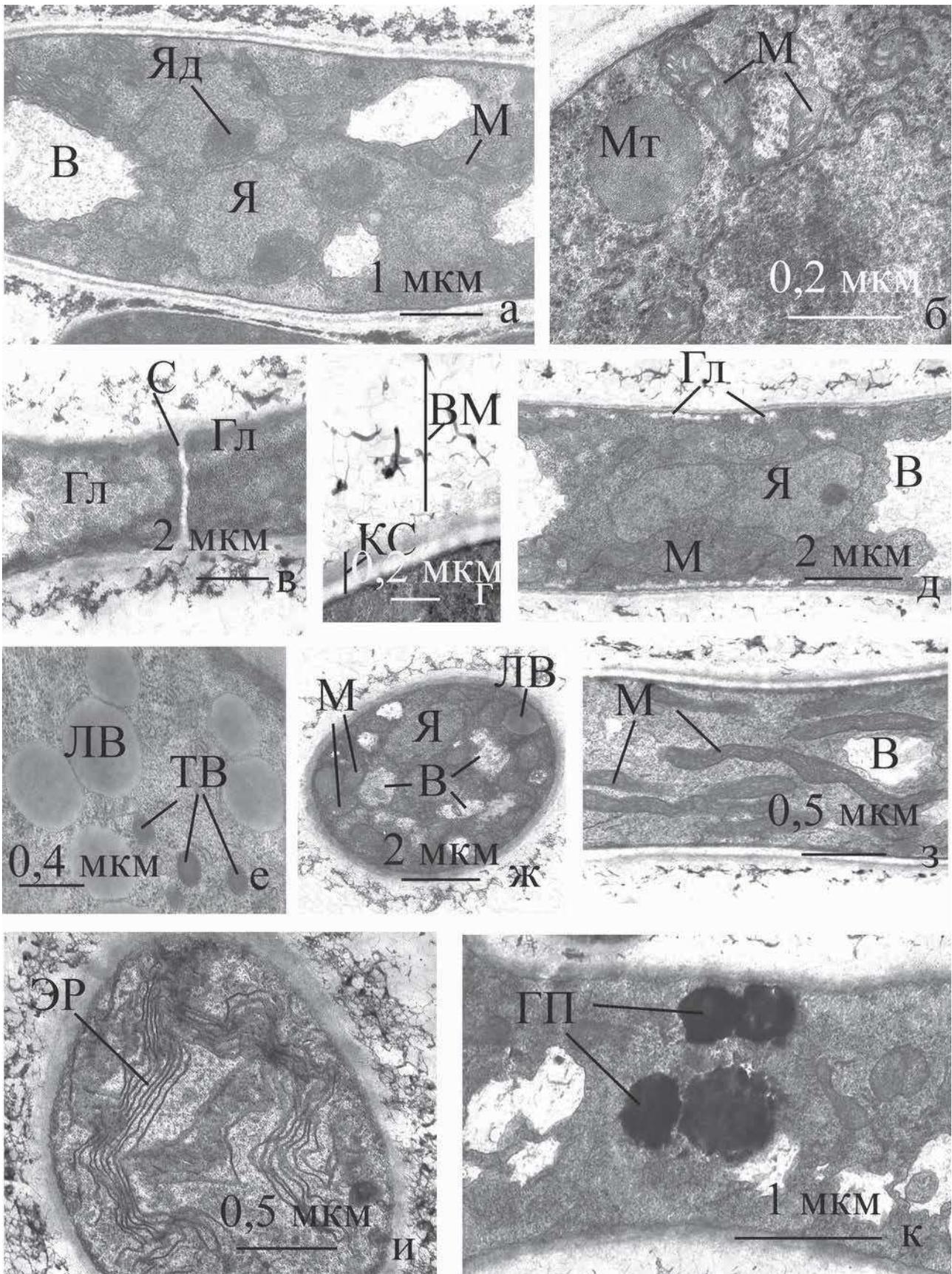


Рис. 2. Ультраструктура клеток вегетативного мицелия *A. fumigatus*, выращенного на среде Чапека. Фрагменты клеток гиф вегетативного мицелия первого (а-г), второго (д, е) и третьего типов (ж-к) с ядрами (а, д, ж), микротельцами (б), запасными веществами (в, е, к), митохондриями (з) и цистернами эндоплазматического ретикулаума.

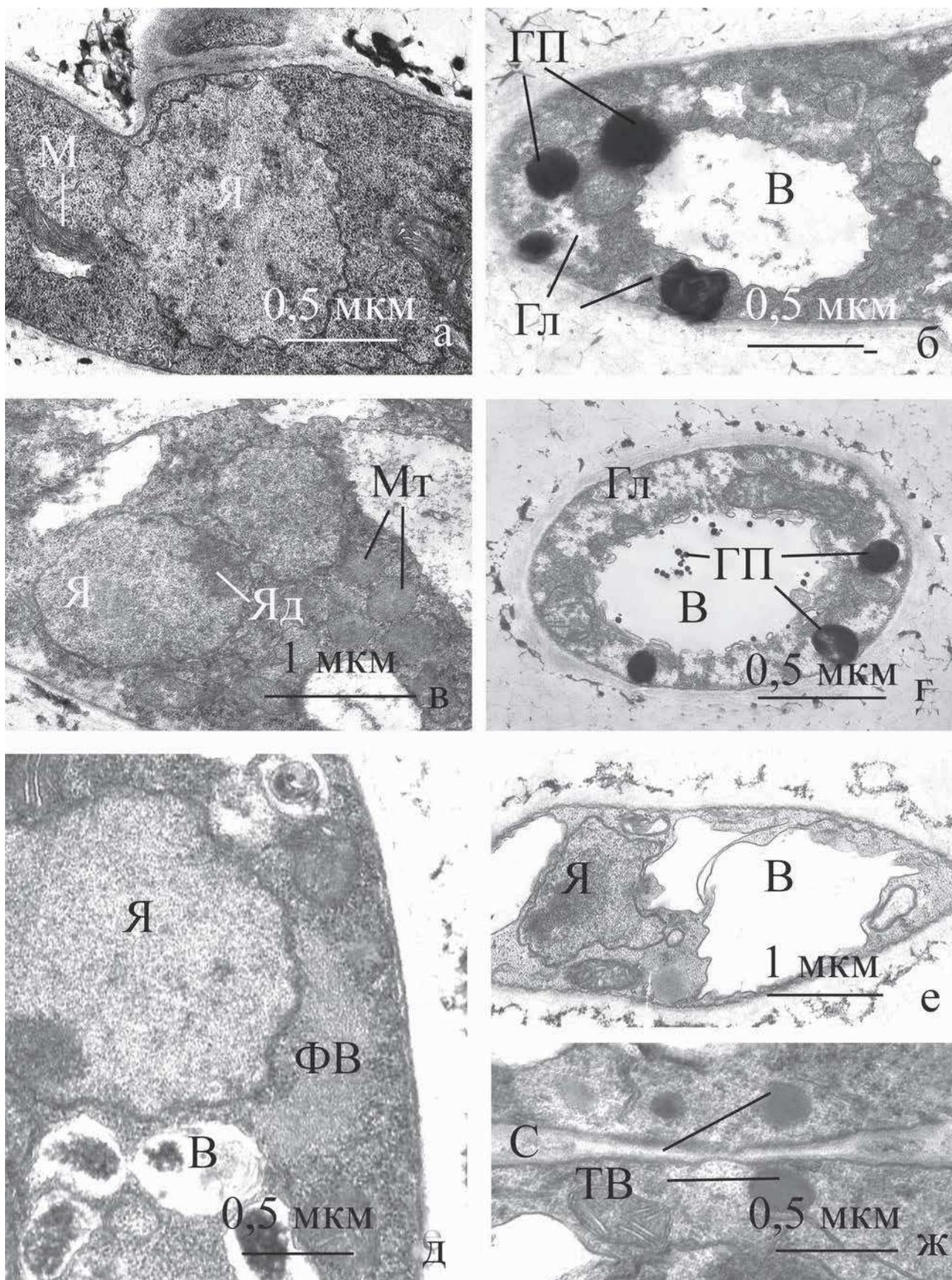


Рис. 3. Электронная микроскопия клеток вегетативного мицелия *A. fumigatus*, выращенного на среде Чапека. Фрагменты клеток гиф четвертого (а, б) и пятого (в-д) типов с ядрами (а, в, д, е), запасными. Особенности строения стареющей запасными веществами (б), центральной вакуолю (е) и компонентами порового аппарата септы (ж). Условные обозначения: В – вакуоль; М – внеклеточный матрикс; ГП – гранулы полифосфатов; Гл – гликоген; С – клеточная стенка; ЛВ – липидное включение; М – митохондрия(и); Мт – микротельце; С – септа; ТВ – тельца Воронина; ФВ – фибриллярное включение; ЭР – эндоплазматический ретикулум; Я – ядро; Яд – ядрышко.

могеными, округлой или неправильной формы гранулами полифосфатов в цитозоле (Рис. 3 б).

На срезах зрелых клеток гиф **пятого типа** можно наблюдать два интерфазных ядра эллипсоидной (1,4 x 1,8 мкм) формы (Рис. 1 д; 3 в). Контур ядерной оболочки ровный. Вакуоль развита умеренно, состояла из мелких вакуолей двух типов – с темным гомогенным и фибриллярным содержимым. Строение митохондрий сходно с аналогичным зрелых клеток гиф первого и четвертого типов, а ЭР – первых трех типов. Другие органеллы отсутствовали. Запасные вещества в виде электронно-плотных, гомогенных, глобулярных (Рис. 1 д; 3 г), мелких, темных гранул, полифосфатных в вакуолях и крупных в цитозоле. Также в цитозоле встречались фибриллярные белковые включения (Рис. 3 д) разного размера, локализующиеся между ядром и клеточной стенкой.

Завершающие стадии морфогенеза клеток гиф вегетативного мицелия протекали однотипно. Существенно (почти в два раза) уменьшались размеры ядер и ядрышек. Из ядрышек исчезал гранулярный компонент. Вакуоли сливались между собой, формируя одну светлую центральную вакуоль (Рис. 3 е), которая занимала основную часть клетки. Заметно снижалась электронная плотность цитозоля, существенно сокращалась численность органелл, исчезали запасные вещества из цитозоля. Диаметр клеток стареющих гиф сильно уменьшался (до 0,5-0,6 мкм).

Поровый аппарат септ. Смежные клетки гиф вегетативного мицелия были отделены друг от друга поперечными светлыми клиновидными септами (Рис. 3 ж). Толщина септ вблизи латеральной клеточной стенки составляла в среднем 0,19 мкм, а в средней части – 0,12 мкм. В их центре была расположена сквозная пора диаметром в среднем 0,12 мкм. Вблизи септальных пор наблюдали тельца Воронина в числе от 1 до 4, которые локализовались на некотором удалении от септальных пор. Форма телец Воронина округлая (в среднем 0,2 мкм, Рис. 3 ж). Для них характерно гомогенное содержимое умеренной электронной плотности и наличие темной трехслойной ограничивающей мембраны.

В данном исследовании нами впервые на примере модельного штамма РКПГФ-1172 была предпринята попытка изучить, каким образом изменяется структура гиф *A. fumigatus* при переходе его из культуральной [2] в тканевую форму [3] и наоборот [данные настоящей работы]. В итоге показано, что вегетативный мицелий анализируемого штамма *A. fumigatus*, как и до начала эксперимента на мышах [2], состоял из пяти основных типов зрелых гиф, клетки которых различались по размерам и форме интерфазных ядер, характеру вакуолизации, строению митохондрий, уровню развития ЭР, отсутствию, наличию и типу запасных веществ, отсутствию и наличию микротелец, их числу,

размерам и строению и другим признакам.

Отметим, что гифы вегетативного мицелия штамма РКПГФ-1172 в ткани легкого мышей через пять суток после начала эксперимента [3] не отличались между собой по ультраструктуре интерфазных ядер, митохондрий и компонентов эндомембранной системы, а различались только по качеству аккумулируемых запасных веществ. Выявили, что морфогенез клеток мицелия *A. fumigatus* в легких мышей сопровождался усилением уровня вакуолизации, аккумуляцией небольшого числа запасных веществ, формированием снаружи клеточных стенок широкого наружного темного гранулярного внеклеточного матрикса. Поскольку использованный штамм *A. fumigatus*, как было показано в работе Васильевой Н.В. с соавторами [9], относится к числу слабовирулентных, то, возможно, поэтому в клетках его тканевых форм мы не отмечали формирование митохондриально ретикулума – одной гигантской органеллы, ответственной за высокий уровень энергетических процессов, формирование которой происходит у тканевых форм дрожжевых клеток *Cryptococcus neoformans* [10] и в клетках гифах вегетативного мицелия высоковирулентного штамма *Aspergillus* spp. [11]. Актуально продолжить начатые исследования и изучить в экспериментальной модели трансформацию ультраструктурной организации клеток *in vitro* → *in vivo* → *in vitro* на примере высоковирулентного штамма *A. fumigatus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электронно-микроскопическое изучение морфогенеза клеток вегетативного мицелия в культуре на примере шести видов рода *Aspergillus* [*A. fumigatus*: 2, *A. niger*: 7, *A. versicolor*: 12, *A. flavus*: 13, *A. terreus*: 14, *A. candidus*: 15] позволило выявить уникальную их особенность – полиморфность ультраструктуры гиф в пределах одной колонии. Актуальным было выяснить, характерна ли такая особенность для других видов мицелиальных грибов либо это прерогатива только представителей рода *Aspergillus*? Для решения этого вопроса мы исследовали морфогенез ряда патогенных видов из родов *Trichophyton* [*T. rubrum*: 16; *T. violaceum*: 17 и др.], *Lichtheimia* spp. [18], *Fusarium* [*F. oxysporum*: 19], *Scedosporium* [*S. aurantiacum*: 20 и др.] и *Pseudallescheria* [*P. ellipsoidea*: 21 и др.]. В итоге у данных представителей не было обнаружено варьирование в строении разных гиф одной колонии, то есть морфогенез протекал однотипно, по сценарию, характерному для клеток вегетативного мицелия микро- и макромицетов в классическом его понимании [22]. По нашему мнению, характерный только для зрелых клеток гиф вегетативного мицелия аспергиллов (в условиях культуры) полиморфизм ультраструктуры обуславливает их большую пластичность и способность колонизировать и разрушать разные типы субстратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Campbell C.K. Fine structure of vegetative hyphae of *Aspergillus fumigatus*. J. Gen. Microbiol. 1970; 64 (3): 373-376.
2. Степанова А.А., Синуцкая И.А., Авдеенко Ю.Л. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus fumigatus* Fres. Проблемы медицинской микологии. 2004; 6 (3): 34-40. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A., Avdeenko Y.L. Submikroskopicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya *Aspergillus fumigatus* Fres. Problemy medicinskoj mikologii. 2004; 6 (3): 34-40 (In Russ)].
3. Степанова А.А., Босак И.А., Синуцкая И.А. Цитологическое исследование *Aspergillus fumigatus* Fres. в легких мышей. Проблемы медицинской микологии. 2013; 15 (1): 52-58. [Stepanova A.A., Bosak I.A., Sinickaya I.A. Citologicheskoe issledovanie *Aspergillus fumigatus* Fres. v legkih myshej. Problemy medicinskoj mikologii. 2013; 15 (1): 52-58 (In Russ)].
4. Muszkieta L., Beauvais A, Pähltz V, et al. Investigation of *Aspergillus fumigatus* biofilm formation by various "omics" approaches.

- Front. Microbiol. 2013; 12 (4).
5. 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., Vasil'eva N.V., Borzova Y.V. i dr. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie asper-gilleza legkih cheloveka na primere arhivnogo materiala. Problemy medicinskoj mikologii. 2014; 16 (3): 70-79 (In Russ)].
 6. Степанова А.А., Васильева Н.В., Чжан Ф.Н. и др. Ультраструктурная организация *Aspergillus* spp. в тканях легких пациентки. Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (2): 29-39. [Stepanova A.A., Vasil'eva N.V., Chzhan F.N. i dr. Ul'trastrukturnaya organizaciya Aspergillus spp. v tkanyah legkih pacientki. Problemy medicinskoj mikologii. 2018; 20 (2): 29-39 (In Russ)].
 7. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Ультраструктура клеток *Aspergillus niger* van Thieghem. Вегетативный мицелий. Проблемы медицинской микологии. 2003; 5 (4): 32-39. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Ul'trastruktura kletok Aspergillus niger van Thieghem. Vegetativnyj micelij. Problemy medicinskoj mikologii. 2003; 5 (4): 32-39 (In Russ)].
 8. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Электронно-микроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus terreus* Thom. Проблемы медицинской микологии. 2007; 9 (3): 26-33. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya Aspergillus terreus Thom. Problemy medicinskoj mikologii. 2007; 9 (3): 26-33 (In Russ)].
 9. Васильева Н.В., Богомолова Т.С., Степанова А.А. и др. Особенности моделирования аспергиллеза легких у мышей в зависимости от вирулентности штаммов *Aspergillus fumigatus*. Проблемы медицинской микологии. 2014; 16 (2): 50-51. [Vasil'eva N.V., Bogomolova T.S., Stepanova A.A. i dr. Osobennosti modelirovaniya aspergilleza legkih u myshej v zavisimosti ot virulentnosti shtamnov Aspergillus fumigatus. Problemy medicinskoj mikologii. 2014; 16 (2): 50-51 (In Russ)].
 10. Васильева Н.В., Степанова А.А., Сеницкая И.А. Электронно-микроскопическое изучение биологии развития клеток слабо и сильно вирулентного штаммов *Cryptococcus neoformans* in vitro и in vivo. Проблемы медицинской микологии. 2007; 9 (2): 47-48. [Vasil'eva N.V., Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie biologii razvitiya kletok slabo i sil'no virulentnogo shtamnov Cryptococcus neoformans in vitro i in vivo. Problemy medicinskoj mikologii. 2007; 9 (2): 47-48 (In Russ)].
 11. Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Zhang F., et al. Electron-microscopic investigations of invasive aspergillosis, caused with *Aspergillus fumigatus*. Problems in medical mycology. 2015; 17 (3): 38-41.
 12. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Цитология клеток выращенного in vitro вегетативного мицелия *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboshi. Проблемы медицинской микологии. 2006; 8 (3): 22-28. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Citologiya kletok vyrashchennogo in vitro vegetativnogo miceliya Aspergillus versicolor (Vuill.) Tiraboshi. Problemy medicinskoj mikologii. 2006; 8 (3): 22-28 (In Russ)].
 13. 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., Sinickaya I.A. Ul'trastruktura kletok vegetativnogo miceliya Aspergillus flavus Link, vyrashchennogo in vitro. Problemy medicinskoj mikologii. 2006; 8 (1): 40-45 (In Russ)].
 14. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Электронно-микроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus terreus* Thom. Проблемы медицинской микологии. 2007; 9 (3): 26-33. [Stepanova A.A., Sinickaya I.A. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya Aspergillus terreus Thom. Problemy medicinskoj mikologii. 2007; 9 (3): 26-33 (In Russ)].
 15. Степанова А.А., Васильева Н.В., Чжан Ф., Тонг Д. Ультраструктурное исследование клеток вегетативного мицелия *Aspergillus candidus* Link, выращенных in vitro. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (2): 23-27. [Stepanova A.A., Vasil'eva N.V., Chzhan F., Tong D. Ul'trastrukturnoe issledovanie kletok vegetativnogo miceliya Aspergillus candidus Link, vyrashchennyh in vitro. Problemy medicinskoj mikologii. 2016; 18 (2): 23-27 (In Russ)].
 16. Савицкая Т.И., Васильева Н.В., Мартынов А.А. и др. Электронно-микроскопическое изучение выращенных in vitro клеток *Trichophyton rubrum* (Castell.) Semon. Проблемы медицинской микологии. 2007; 9 (1): 20-25. [Savickaya T.I., Vasil'eva N.V., Martynov A.A. i dr. Elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie vyrashchennyh in vitro kletok Trichophyton rubrum (Castell.) Semon. Problemy medicinskoj mikologii. 2007; 9 (1): 20-25 (In Russ)].
 17. Степанова А.А. Ультраструктура клеток *Trichophyton violaceum* Sabour. ex E. Bodin, выращенных на агаре Чапека. Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (2): 36. [Stepanova A.A. Ul'trastruktura kletok Trichophyton violaceum Sabour. ex E. Bodin, vyrashchennyh na agare Chapeka. Problemy medicinskoj mikologii. 2010; 12 (2): 36 (In Russ)].
 18. Степанова А.А., Хостелиди С.Н., Аравийский Р.А. и др. Электронно-микроскопическое исследование *Lichtheimia* spp. in vivo и in vitro. Проблемы медицинской микологии. 2012; 14 (4): 55-61. [Stepanova A.A., Hostelidi S.N., Aravijksij R.A. i dr. Elektronno-mikroskopicheskoe issledovanie Lichtheimia spp. in vivo i in vitro. Problemy medicinskoj mikologii. 2012; 14 (4): 55-61 (In Russ)].
 19. Степанова А.А., Галгаева Т.Ю. Цитологическое изучение клеток вегетативного мицелия *Fusarium oxysporum* Scldt. Материалы международной научной конференции "Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке". СПб., 2013: 253-254. [Stepanova A.A., Gagkaeva T.Y. Citologicheskoe izuchenie kletok vegetativnogo miceliya Fusarium oxysporum Scldt. Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii "Problemy mikologii i fitopatologii v XXI veke". SPb., 2013: 253-254 (In Russ)].
 20. Stepanova A.A., Yamaguchi M.M., Chibana H., et al. Comparative ultrastructural analysis of the in vitro growing hyphal cells of *Scedosporium aurantiacum*. Problems in medical mycology. 2017; 19 (3): 18-25.
 21. Степанова А.А. Морфогенез клеток вегетативного мицелия *Pseudallescheria ellipsoidea*. Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (2): 118. [Stepanova A.A. Morfogenez kletok vegetativnogo miceliya Pseudallescheria ellipsoidea. Problemy medicinskoj mikologii. 2018; 20 (2): 118 (In Russ)].
 22. Степанова А.А., Васильев А.Е. Ультраструктурные основы морфогенеза шляпочных грибов. Ашхабад: Изд. «Блым», 1994: 263 с. [Stepanova A.A., Vasil'ev A.E. Ul'trastrukturnye osnovy morfogeneza shlyapochnyh gribov. Ashkhabad: Izd. «Ylum», 1994: 263 s. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала: 30.01.2019 г.

Рецензент: О.Д. Васильев

ПРОБЛЕМЫ МИКОЛОГИИ В ФОКУСЕ XXVII КОНГРЕССА ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)✉*,

²Леина Л.М. (доцент кафедры)

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

© Медведева Т.В., Леина Л.М., 2019

PROBLEMS OF MYCOLOGY IN THE IN THE FOCUS OF THE XXVII CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEROLOGY (EADV)

¹Medvedeva T.V. (dermatovenerologist),

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

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

©Medvedeva T.V., Leina L.M., 2019

С 12 по 16 сентября 2018 года в Париже (Франция) проходил XXVII Конгресс Европейской Академии Дерматологии и Венерологии. Традиционно мероприятия с большим количеством участников в г. Париже проходят во Дворце Конгрессов (Рис.). Форму EADV объединил 13 тысяч специалистов из 120 стран мира, которые приняли участие в работе 180 научных сессий. В программу Конгресса были включены выступления 700 докладчиков и экспертов из 60 стран, а к публикации принято 2500 тезисов. Поддержку Конгрессу оказали 185 фармацевтических и косметологических компаний, 180 из которых представили свою продукцию на выставке.

Круг обсуждаемых на данном форуме проблем был чрезвычайно обширным: разработка новых алгоритмов лечения различных дерматозов, неблагоприятные эффекты при применении биологических препаратов у детей и взрослых, использование различных типов лазеров в терапии кожных заболеваний, фототерапия, дерматоскопия и т.д.



Рис. Дворец Конгрессов в г. Париже.

В ходе заседаний Конгресса участники имели возможность ознакомиться с последними научными исследованиями и самыми актуальными публикациями по интересующим проблемам дерматовенерологии. Клиническая микология продолжает оставаться в перечне тем, традиционно вызывающих интерес практикующих дерматологов. До официальной церемонии открытия Конгресса были проведены заседания различных научных обществ, которые объединяются как по сфере исследовательских интересов (например, IDS – International Dermascopy Society), так и по территориальному принципу (например, PAD – Pakistan Association of Dermatologists). Особый интерес в рамках заседания ENS (European Nail Society – Европейское общество по изучению ногтей) вызвал доклад профессора David de Berker (Бристоль, Великобритания), являющегося Президентом данного общества, о последних исследованиях в области изучения онихомикозов. В начале доклада D. de Berker ознакомил слушателей с последними монографиями, посвященными данной теме, авторами которых явились ведущие дерматологи Европы и США – D. Rigoroulos (Греция), V. Elewski (США), A. Tosti (Италия-США), R. Varan (Франция). В сообщении D. de Berker отмечено, что одной из основных проблем в терапии онихомикозов является соотношение клинического и микологического излечения по окончании курса. Им были освещены вопросы эффективности позаконазола и вориконазола в лечении этой патологии; дан обзор сравнительной эффективности различных топических антифунгальных средств (аморолфина, циклопирокса, таваборола, эфинаконазола, мочевины в сочетании с бифоназолом и раствора тербинафина). Не меньший интерес на данном заседании вызвал доклад D. Rigoroulos (Греция), посвященный использованию физических методов (лазеротерапии) в лечении онихомикозов. С точки зрения автора, этот метод лечения может быть рассмотрен на сегодняшний день как экспериментальный, т.к. неясными остаются вопросы о необходимой глубине проникновения лазерного луча в ногтевое ложе, допустимых осложнениях в процессе терапии, целесообразности продолжительности лечения, необходимости сочетания с топическими средствами и т.д.

В научной программе Конгресса традиционно было особое внимание уделено вопросам клинической микологии. В представленном J.O. Candiani (Мексика) сообщении о кокцидиомикозе были даны современные

представления об этом заболевании, кожных проявлениях данной патологии и проблемах дифференциальной диагностики. Значительный интерес участников EADV вызвал доклад А. Mota (Португалия) о микотической инфекции среди детей и подростков. Им был сделан обзор последних данных из научной литературы с глубоким анализом такой информации, как: проблема микозов волосистой части головы и выбор эффективного лечения; поверхностные микозы гладкой кожи, сложные при дифференциальной диагностике; онихомикозы у детей; глубокие и инвазивные микозы в детской практике. На сессии, посвященной проблемам трихологии, был сделан доклад «Микотические инфекции волосистой части головы», подготовленный А. Prohic (Босния и Герцеговина). Особенностью данного сообщения были представленные случаи пьедры, что для европейских стран является редкостью.

Проблемам клинической микологии было уделено значительное внимание и в разделе стендовых докла-

дов. Круг затрагиваемых проблем был очень широк: от описания случая достаточно редко встречающегося подкожного микоза – споротрихоза до многочисленных методик лечения такой распространенной патологии, как онихомикоз. В данном разделе привлек к себе внимание новый метод укороченной пульс-терапии тербинафином, предложенный А. Chiriac и С. Brisan (Румыния), позволяющий снизить медикаментозную нагрузку для пациентов с онихомикозом. Интерес представило стендовое сообщение N. Litaïem с соавторами (Тунис), в котором были обобщены дерматоскопические характеристики 184 пациентов с онихомикозом, определены основополагающие дерматоскопические признаки данной патологии. Очередной XXVIII Конгресс EADV должен состояться осенью 2019 г. в г. Мадриде (Испания).



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

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

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Per. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780

Журнал 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 28.04.2019. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 6. Тираж 999 экз.