

# Лоцерил®

а м о р о л ф и н

Лак для лечения  
и профилактики  
грибка ногтей



Лоцерил®

- Убивает грибок там, где другим недоступно<sup>2</sup>
- Применяется всего 1 раз в неделю!<sup>3</sup>

Подробнее на сайте [www.loceryl.ru](http://www.loceryl.ru)

1. По данным IMS Health за май 2013 – апрель 2014 по продажам в сегменте топических лекарственных средств в деньгах; 2. Polak A. et al. Agar sublimation test for the in vitro determination of the antifungal activity of morpholine derivatives. Mycosis, 2004, 47, 184-92; 3. Инструкция по медицинскому применению препарата Лоцерил.

L/15/002

ООО «Галдерма» 125284, Москва,  
Ленинградский пр-т, д 31 А, стр 1, 21 этаж,  
Телефон/факс +7 (495) 540 5017  
[www.galderma.ru](http://www.galderma.ru)

**GALDERMA**  
Committed to the future  
of dermatology

# ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 17 №4



Problems in medical mycology

Vol.17 №4

2015

Апрель 2014  
Зарегистрирован  
в показании ХИК в России

# КСОЛАР, ИЗМЕНЯЮЩИЙ ЖИЗНЬ ПАЦИЕНТОВ<sup>1,2</sup>

71% снижение тяжести зуда  
74% уменьшение числа волдырей  
78 % улучшение показателя качества жизни<sup>3</sup>



NOVARTIS  
PHARMACEUTICALS

КСОЛАР  
омализумаб

ПЕРЕД НАЧАЛОМ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ.  
КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ КСОЛАР / XOLAIR®

Омализумаб, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения, 150 мг. Омализумаб является гуманизированным моноклональным антителом, полученным на основе рекомбинантной ДНК, селективно связывающимся с иммуноглобулином (IgE). **Показания.** Лечение персистирующей атопической бронхиальной астмы среднетяжелого и тяжелого течения, симптомы которой недостаточно контролируются применением ингаляционных глюкокортикостероидов у пациентов 6 лет и старше. Лечение хронической идиопатической крапивницы, резистентной к терапии блокаторами H1-гистаминовых рецепторов, у пациентов 12 лет и старше. **Дозы и способ применения.** Атопическая бронхиальная астма: В зависимости от исходной концентрации IgE (МЕ/мл) и массы тела пациента (кг) рекомендуемая доза препарата составляет от 75 до 600 мг 1 раз в 2 или 4 недели. Хроническая идиопатическая крапивница: Рекомендуемая доза препарата Ксолар составляет 300 мг каждые 4 недели в виде подкожной инъекции. **Противопоказания.** Повышенная чувствительность к омализумабу или к любому другому компоненту препарата. **Предостережения.** Препарат не следует применять для лечения острых приступов бронхиальной астмы, острого бронхоспазма или астматического статуса. После начала лечения препаратом Ксолар не рекомендуется резко отменять системные или ингаляционные глюкокортикостероиды. Соблюдать осторожность при применении у пациентов с нарушениями функции печени и/или почек, с аутоиммунными заболеваниями или заболеваниями, связанными с накоплением иммунных комплексов, с риском развития паразитарных болезней, при развитии местных или системных аллергических реакций (включая анафилактические реакции и сывороточную болезнь), при беременности и в период грудного вскармливания. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами и другие виды взаимодействия.** Специальных исследований по взаимодействию препарата Ксолар с лекарственными препаратами, включая вакцины, не проводилось. Взаимодействие препарата Ксолар с лекарственными препаратами, предназначенными для лечения бронхиальной астмы или хронической идиопатической крапивницы, маловероятно. **Побочное действие.** На фоне терапии препаратом Ксолар наблюдались следующие редкие

серьезные нежелательные явления: анафилактические реакции (наличие анафилактических реакций в анамнезе может быть фактором риска), включая ангионевротический отек, и другие аллергические состояния, в том числе аллергический бронхоспазм, аллергический гранулематозный ангит (синдром Чарга-Стросса), тяжелая идиопатическая тромбоцитопения, сывороточная болезнь. Очень часто: головная боль. Часто: гипертония (очень часто - у детей 6-12 лет с атопической бронхиальной астмой), реакции в месте введения препарата, отек, зрительный зуд, боль в эпигастрии (у детей), насморк, фарингит, инфекции верхних дыхательных путей, включая вирусной этиологии, инфекции мочевыводящих путей, синусит, боль в области придаточных пазух носа, артралгия, миалгия, боль в конечностях, костно-мышечная боль. Нечасто: головокружение, сонливость, парестезии, синкопальные состояния, постуральная гипотензия, «приливы», фарингит, кашель, тошнота, диарея, диспепсия, крапивница, сыпь, фотосенсибилизация, увеличение массы тела, чувство усталости, отечность рук, гриппоподобное состояние. Редко: паразитарные болезни, отек гортани, выработка антител к лекарственному препарату. При применении препарата Ксолар в клинической практике отмечались: алоpecia, отечность суставов. Новартис Фарма АГ, Швейцария, LCP-000082 -29.05.2007

1. С хронической спонтанной/идиопатической крапивницей.  
2. Maurer et al. N Engl J Med. 2013;368:924-35.  
3. DLQI (Dermatological Life Quality Index) – Дерматологический индекс качества жизни.

ООО «Новартис Фарма»  
125315 Москва, Ленинградский проспект, дом 72, корпус 3.  
Тел. +7 495 967 12 70, факс. +7 495 967 12 68  
www.novartis.ru

488409/XOL/A4/01.16/999

Только для медицинских и фармацевтических работников. Для распространения в местах проведения медицинских или фармацевтических выставок, семинаров, конференций и иных подобных мероприятий

## Устройство для противогрибковой обработки обуви **Тимсон** ДЛЯ ЕЖЕДНЕВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

рекомендовано  
МИНЗДРАВРОМ  
СОСРАЗВИТИЯ РОССИИ



- Уничтожает грибки, бактерии и неприятный запах
- Взаимодействие тепла и ультрафиолета позволяет достичь высокого фунгицидного эффекта
- Профилактика появления грибковой инфекции в обуви
- Гарантия 3 года!
- РЕЗУЛЬТАТ КЛИНИЧЕСКИ ДОКАЗАН



PG EAC

Подробнее на сайте [www.gribkov.net](http://www.gribkov.net)



ООО «Тимсон», 121596, г. Москва, ул. Горбунова, д.2, стр.3, ком.52. / Тел. 8 (495) 787-44-17 / Факс: 8(499) 197-29-64 / 8 (800) 333-14-47

#### EDITORIAL BOARD

**Chief Editor —**

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

**Deputies Chief Editor —**

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

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

**Responsible secretary —**

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

#### SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

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

# PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

*Vol. 17, № 4, 2015*

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

# ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

*Том 17, № 4, 2015*

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

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор —**

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

**Заместители главного редактора:**

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

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

**Ответственный секретарь —**

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

#### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

# СОДЕРЖАНИЕ

## ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Шабашова Н.В., Данилова Е.Ю.</i> Местный иммунитет и микробиота ротовой полости (обзор) . . . . .	4
<i>Саганяк Е.А.</i> Судебно-биологические экспертизы, связанные с исследованием грибов-деструкторов (обзор) . . . . .	14

## КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Веселов А.В.</i> Изавуконазол – новый противогрибковый препарат класса триазолов . . . . .	18
<i>Козлова Я.И., Климко Н.Н., Соболев А.В., Борзова Ю.В., Богомолова Т.С., Аак О.В., Игнатьева С.М., Бурьгина Е.В., Степаненко Т.С., Филиппова Т.А., Орлов А.В.</i> Аллергический бронхолегочный аспергиллез у больных муковисцидозом в Северо-Западном регионе. Клиническими случаи и обзор литературы . . . . .	25
<i>Пятакова А.В., Шагдилеева Е.В., Арутюнян А.А., Граматиков Д.Г., Давыденко В.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Климко Н.Н.</i> Первый случай успешного лечения кандидозного эндокардита (возбудитель – <i>Candida parapsilosis</i> ) у больной комбинированным ревматическим митральным пороком сердца . . . . .	29
<i>Шадринова О.В., Десятник Е.А., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Волкова А.Г., Попова М.О., Зубаровская А.С., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Афанасьев Б.В., Климко Н.Н.</i> Случай успешного лечения сочетанного инвазивного аспергиллеза и мукороза легких у больного лимфомой Ходжкина . . . . .	34
<i>Козлова Я.И., Козлова О.П., Борзова Ю.В., Васильева Н.В., Климко Н.Н.</i> Омализумаб в лечении хронической спонтанной крапивницы. Описание клинического случая и обзор литературы . . . . .	40

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Степанова А.А., Васильева Н.В., Ямагучи М., Чибана Ш., Босак И.А.</i> Проникновение <i>Aspergillus fumigatus</i> через клетки эпителия бронхов мышей . . . . .	45
<i>Халдеева Е.В., Глушко Н.И., Лисовская С.А., Паршаков В.Р.</i> Микобиота жилых помещений современной постройки с очагами грибковой биодеградации . . . . .	51
<i>Доршакова Е.В., Елинов Н.П., Павлова И.Э., Выборнова И.В.</i> Изучение действия «строительных биоцидов» в отношении <i>Stachybotrys</i> sp. и <i>Aspergillus niger</i> . . . . .	55
<i>Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е., Иванова Л.В., Гоик В.Г., Шварц А.П., Мокрова Е.В., Баранцевич Е.П.</i> Чувствительность к антибактериальным препаратам стафилококков, циркулирующих в многопрофильном стационаре . . . . .	58
<i>Руднева М.В., Доршакова Е.В., Лавникевич Д.М., Игнатьева С.М., Тараскина А.Е., Елинов Н.П.</i> Внутривидовое типирование <i>Stachybotrys</i> spp. молекулярно-биологическими методами . . . . .	63
<i>Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И., Паршаков В.Р.</i> Анализ адгезивной активности клинических штаммов <i>Candida albicans</i> , выделенных с кожи больных разных нозологических групп . . . . .	66
<i>Свистова И.Д., Кувшинова Н.М.</i> Распространение опасных для человека микромицетов при выращивании растений-подсластителей . . . . .	69

# CONTENTS

## PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Shabashova N.V., Danilova E.U.</i> Mucosal immunity and oral microbiota (review) . . . . .	4
<i>Saganyak E.A.</i> Forensic biological examinations related to research fungi-destructors (review) . . . . .	14

## CLINICAL MYCOLOGY

<i>Veselov A.V.</i> Isavuconazole – the new triazole antifungal preparation . . . . .	18
<i>Kozlova Y.I., Klimko N.N., Borzova Y.V., Bogomolova T.S., Aak O.V., Ignatieva S.M., Burygina E.V., Stepanenko T.S., Filippova T.A., Orlov A.V.</i> Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis patients in North-Western district. Clinical cases and review of literature . . . . .	25
<i>Pyatakova A.V., Shagdilееva E.V., Arutyunian A.L., Gramatikov D.G., Davydenko V.V., Raush E.R., Bogomolova T.S., Vybornova I.V., Klimko N.N.</i> The first case of successful treatment of <i>Candida</i> endocarditis (pathogen - <i>Candida parapsilosis</i> ) in patient with combined rheumatic mitral valve heart disease . . . . .	29
<i>Shadrivova O.V., Desyatnik E.A., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Volkova A.G., Popova M.O., Zubarovskaya L.S., Bogomolova T.S., Ignatyeva S.M., Afanasyev B.V., Klimko N.N.</i> A case of successful treatment of combined invasive aspergillosis and mucorosis of lungs in patient with Hodgkin lymphoma . . . . .	34
<i>Kozlova Y.I., Kozlova O.P., Borzova Yu.V., Vasilyeva N.V., Klimko N.N.</i> Omalizumab in treatment of chronic spontaneous urticaria. Description of a clinical case and review of literature . . . . .	40

## EXPERIMENTAL MYCOLOGY

<i>Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., Chibana H., Bosak I.A.</i> The <i>Aspergillus fumigatus</i> penetration through the cells of murine tracheobronchial epithelium cells . . . . .	45
<i>Khaldeeva E.V., Glushko N.I., Lisovskaya S.A., Parshakov V.R.</i> Mycobiota of modern-built lodgings with biodamages . . . . .	51
<i>Dorshakova E.V., Elinov N.P., Pavlova I.E., Vybornova I.V.</i> The study of the «building biocides» action in relation to <i>Stachybotrys</i> sp. and <i>Aspergillus niger</i> . . . . .	55
<i>Kozlova N.S., Barantsevich N.E., Ivanova L.V., Shvarz A.P., Goik V.G., Mokrova E.V., Barantsevich E.P.</i> Susceptibility to antibiotics in nosocomial staphylococci from multidisciplinary hospital . . . . .	58
<i>Rudneva M.V., Dorshakova E.V., Lavnikovich D.M., Ignatieva S.M., Taraskina A.E., Elinov N.P.</i> Intraspecies typing of <i>Stachybotrys</i> spp. by the methods of molecular genetics . . . . .	63
<i>Lisovskaya S.A., Khaldeeva E.V., Glushko N.I., Parshakov V.R.</i> Analysis of adhesive activity of clinical strains of <i>Candida albicans</i> isolated from skin of patients of different nosological groups . . . . .	66
<i>Svistova I.D., Kuvshinova N.M.</i> The spread of dangerous for people micromycetes in case of plants-sweeteners cultivation . . . . .	69

## МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ И МИКРОБИОТА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ (ОБЗОР)

Шабашова Н.В. (профессор кафедры)\*, Данилова Е.Ю. (ассистент кафедры)

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

© Шабашова Н.В., Данилова Е.Ю., 2015

*Ротовая полость – основные входные ворота для множества антигенов. В то же время, слизистая оболочка полости рта (СОПР) выполняет иммунные функции как часть мукозальной подсистемы, которая, в свою очередь, входит в общую иммунную систему. В эпителиальном пласте, собственно слизистой оболочке полости рта, подслизистом слое СОПР находятся клеточные элементы и гуморальные факторы, способные вполне автономно реагировать на разнообразные антигены, механические, химические и другие воздействия, обеспечивая интактность СОПР в здоровом организме без клинических проявлений и элиминации облигатных и факультативных представителей нормобиоты. Предметом настоящего обзора является обсуждение местных иммунных механизмов СОПР и равновесия между ними и биотой ротовой полости в норме и при некоторых патологических процессах.*

**Ключевые слова:** дисбиоз, кариес, местный иммунитет, орофарингеальный кандидоз, слизистая оболочка полости рта, стоматит

## MUCOSAL IMMUNITY AND ORAL MICROBIOTA (REVIEW)

Shabashova N.V. (professor of the chair), Danilova E.U. (assistant of the chair)

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

© Shabashova N.V., Danilova E.U., 2015

*The oral cavity is the main place for invasion of variety microorganisms. At the same time, oral mucosa is a functional part of intraepithelial immune system, which in turn is part of the general immune system. Epithelial layers contain cellular elements and soluble immunity factors, which are autonomously able to react to a variety of antigens, mechanical, chemical and other effects, in such a way providing integrity in a healthy body without clinical manifestations, and the elimination of obligate and facultative members of microbiome. In the current review, we discuss about mucosal immune defense in oral cavity and balance between immunity and the microbiota of the mouth in healthy condition, and in some pathological processes.*

**Key words:** dysbiosis, mucosal immunity, oral mucosa, oropharyngeal candidosis, stomatitis, tooth decay

В целом, биологическое значение внутриэпителиальной или мукозальной иммунных подсистем, в том числе – слизистой оболочки полости рта (СОПР), обширно [1-4] и включает: во-первых, защиту слизистых оболочек от разнообразных вредных воздействий окружающей среды, что опосредуется физико-химическими, врожденными иммунными факторами и Т-регуляторными клетками. Они осуществляют выбор между необходимым для защиты иммунным воспалением на вредные чужеродные объекты и вещества и состоянием толерантности или анергии. Все эти виды защиты предотвращают сильное клинически выраженное воспаление или лизис собственных эпителиоцитов [1, 4]. Во-вторых, все слизистые оболочки защищают организм от инфекционных и неинфекционных антигенов, поскольку эти барьерные ткани, а также и кожа, первыми встречаются с большинством антигенов внешней среды, и антигенная нагрузка на них особенно велика. В зависимости от происхождения антигенов формируются разные ответы – или воспалительные, или опосредующие толерантность. Важно, что в целом внутриэпителиальная или мукозальная подсистема является участником колонизационной резистентности – совокупности механизмов, придающих индивидуальную и анатомическую стабильность нормальной микробиоте и обеспечивающих предотвращение заселения хозяина посторонними микроорганизмами. Нарушение колонизационной резистентности или из-за повреждения защитных механизмов хозяина, или нормальной микробиоты приводит к дисбиозу [2, 3, 5-7], причем, отдельно в разных локусах и часто – в разных одновременно. Второй стороной колонизационной резистентности является микробиота. Установлено, что у здорового человека на местном уровне поддерживается баланс между микробиотой и локальным защитным иммунным ответом без развития патологического воспалительного процесса в слизистых оболочках [2, 3, 8]. Так, в ротовой полости микробиота представлена примерно 200 видами, в слюне – до  $10^9$  КОЭ в мл и в виде зубной бактериальной бляшки – до  $10^{11}$  КОЭ/г. Здесь обитают разнообразные бактерии: бактероиды, бифидобактерии, лактобактерии, эубактерии, фузобактерии, гемофильные палочки, нейсерии, лептотрихии, спирохеты, превотеллы, порфиромонады, актиномицеты, стафило- и стрептококки и др., а также грибы рода *Candida* и, даже, простейшие – *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*. Эти микроорганизмы имеют «свои» места преимущественного расположения, даже в ротовой полости [3]. В нормобиоте 90% – бифидобактерии, 5% – лактобактерии, 2% – колибактерии и 3% – все остальные. Все виды микроорганизмов СОПР легко переходят в сообщаемые с ней полости и органы и взаимодействуют с их биотой. И в целом организме, и в полости рта между человеком и микроорганизмами сложились многокомпонентные и противоречивые взаимоотношения [2, 3, 9]. Так, микроорганизмы в полости рта способствуют перевариванию пищи, синтезируют витамины, но, одновременно, и органические кислоты, что может способствовать развитию кариеса. Они оказывают мощное позитивное модулирующее воздействие на иммунную систему организма и вместе с тем обеспечивают накопление в зубной бляшке иммуносупрессивных веществ, токсически действующие на ткани десен и пе-

\* Шабашова Надежда Венедиктовна, тел.: (812) 303-51-49

риодонт. Они являются сильнейшими антагонистами патогенных микроорганизмов, но и сами, как считают [9], способны к инвазии с развитием серьезных заболеваний. Третья важнейшая функция СОПР определяется тем, что органы ротовой полости и ее секреты содержат ферментные и неферментные факторы антиоксидантной защиты организма [8-10]. Так, в слюне содержатся лизоцим, церулоплазмин, каталаза, супероксидесмутаза, глутатионредуктаза, часть которых попадает из крови. Есть активные формы кислорода: кроме молекулярного, поступающего при дыхании, супероксидный кислород, который здесь же утилизируется супероксидесмутазой [8-10]. Эти факторы защищают организм не только от инфекционных заболеваний, но и от избытка активных форм кислорода.

Из всех перечисленных биологических функций складывается барьерная функция СОПР. Если рассматривать последовательность защитных реакций СОПР, то следует отметить значительную роль ротовой жидкости [5-7, 9]. Она является комплексным секретом, включающим слюну, которая продуцируется 3 парами крупных (околоушной, поднижнечелюстной и подъязычной) и множеством мелких слюнных желез СОПР, десневую жидкость, бактерии и продукты их жизнедеятельности, вирусы, грибы, слущившийся эпителий и остатки пищи. В условиях покоя рН ротовой жидкости равняется 5,45-6,06, при стимуляции – возрастает до 7,8. Кислотность ротовой жидкости – один из неспецифических факторов бактерицидности, наряду со структурными особенностями СОПР, нормальной микробиотой, о чем уже было сказано выше. Слюна – тоже комплексный секрет, в котором только 1% составляют органические и неорганические соединения, остальное – вода. Неорганические соединения – соли натрия, хлориды и фосфаты, органические – белки, гликопротеины, липиды, а также глюкоза, мочевины и аммиак. Большую часть органических соединений продуцируют железистые клетки, меньшую – протоковые, часть их всех транспортируется из крови и различных органов. Среди них: лизоцим, каталаза, супероксидесмутаза, глутатионредуктаза, церулоплазмин. Эти факторы, защищающие организм от избытка активных форм кислорода и инфекционных заболеваний, могут быть отнесены к неспецифическим или врожденным [10, 11]. К последним относят и другие бактерицидные протеины: лактоферрин, лактопероксидазу, муцины, антимикробные пептиды (гистатины, дефензины, кателицидин и другие) [7, 9, 12-14], цитокины, секреторный IgA и другие иммуноглобулины, выполняющие роль опсоинов [1, 5-10, 13-15]. В слюне содержатся также такие клетки врожденного иммунитета, как нейтрофильные гранулоциты и участники адаптивного ответа – лимфоидные клетки [1-3, 7]. Все защитные факторы взаимосвязаны и находятся в состоянии динамического равновесия. При снижении защитных свойств ротовой жидкости происходит замещение условно-патогенной микрофлоры патогенной, что способствует развитию дисбиоза СОПР различной степени тяжести [5-9], часто взаимосвязанного с аналогичными изменениями микробиоценоза в других компартментах мукозального иммунитета [2,15].

Учитывая, что все составляющие ротовой жидкости синтезируются, прежде всего, эпителием, его следует рассматривать в качестве первого клеточного

участника защитных ответов на внешние воздействия. Это определяется, прежде всего, физико-химическими свойствами СОПР: значительной толщиной, многочисленными межклеточными связями, малопроницаемым, химически и механически устойчивым роговым слоем, постоянным удалением его поверхностных слоев в силу быстрого обновления, и, как было сказано выше, выработкой противомикробных соединений, постоянным смачиванием слюной, содержащей противомикробные вещества и факторы роста [1-16]. Долгое время в качестве клеточных защитных факторов СОПР рассматривали только различные лейкоциты и их растворимые факторы. Однако в последние годы стали исследовать участие в иммунных реакциях клеток совсем другого происхождения – эпителиоцитов [1, 2, 4, 7, 8, 10, 12, 13, 15]. Как известно, в полости рта многослойный плоский неороговевающий эпителий составляет 30%, ороговевающий – 50%, остальную поверхность занимают зубы. Эпителий постоянно обновляется, и это обеспечивает не только его барьерную функцию за счет постоянной замены и удаления клеток наружного слоя, но и адгезированных на них микроорганизмов. Скорость пролиферации и дифференцировки, степень созревания эпителиальных клеток регулируют ряд биологически активных веществ, среди которых наиболее важны эпидермальный фактор роста (EGF), в высоких концентрациях присутствующий в слюне, и цитокины IL-1, IL-6, TGF- $\beta$ . Период обновления эпителиальных клеток резко сокращается при воздействии на слизистую оболочку раздражающих факторов и при некоторых заболеваниях, например, при псориазе.

Так называемые «покоящиеся» эпителиальные клетки СОПР, то есть клетки в отсутствие повреждающих и стимулирующих воздействий, выполняют барьерную и секреторную функции и ничем не напоминают иммунокомпетентные клетки. Но уже в состоянии покоя эпителиальные клетки, особенно – клетки неороговевающего эпителия, содержат мощное противомикробное вещество – кальпротектин, несут на своей поверхности рецепторы для цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-6, IL-17, TFR- $\beta$  и др.) и содержат мРНК большинства цитокинов, что является предпосылкой для вовлечения их в иммунные процессы [1, 2, 12, 13]. Как уже было сказано выше, в ротовой полости постоянно обитает и поступает вновь множество различных микроорганизмов, что дает возможность считать весьма сомнительным нахождение эпителиальных клеток когда-либо в состоянии покоя. Поэтому всегда, а также в условиях любого повреждения эпителиального барьера, при воздействии микробных продуктов и цитокинов происходит активация эпителиальных клеток. Микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности и распада мгновенно и эффективно распознаются разными антиген-представляющими клетками, в том числе – и эпителиальными, посредством различных паттерн-распознающих рецепторов (PRR), включая толл-подобные-рецепторы (TLR) [1, 2, 12, 13]. PRR распознают «образы» – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (комплексы или наборы) молекул (PAMP), одинаковые у различных микроорганизмов [1, 2, 13, 17]. Процесс распознавания заключается в связывании PAMP с PRR, в результате чего преобразуется структура внутриклеточного домена PRR. Эта

биохимическая реакция активирует в антиген-представляющие клетки цепочку ферментов и гены выработки провоспалительных цитокинов, которые способны регулировать функции внутриэпителиальных лимфоцитов. PRR экспрессируются на многих клетках: нейтрофильных гранулоцитах, дендритных клетках, моноцитах, макрофагах, В-лимфоцитах (В-ЛФ), Т-лимфоцитах (Т-ЛФ), эндотелиальных и эпителиальных, что представляет особый интерес.

Прежде всего, в первые минуты контакта с «чужим» при активации эпителиальных клеток продуцируют антимикробные пептиды (АМП) – один из видов природных соединений, обладающих противомикробной активностью. Это первая гуморальная линия защиты в структуре механизмов врожденного иммунитета. АМП вырабатываются нейтрофильными гранулоцитами, эпителиальными клетками и другими клетками, например, миоцитами, чем подтверждена универсальность и исключительная значимость врожденного иммунитета. Особенность АМП заключается в их способности определять (распознавать) любые организмы с бесхолестериновыми (у микробов), негативно заряженными мембранами как цели для поражения. Способы действия на чуждые клетки могут быть разными: наружный, когда антимикробные пептиды нарушают проницаемость мембраны и/или разрушают ее, и внутренний – проникают через клеточную мембрану и взаимодействуют с цитозольной мишенью, разрушают ее. Такие АМП, как кателицидины и дефензины проникают сквозь микробные мембраны. Также антимикробные пептиды способны убивать измененные или раковые клетки, и этой цитотоксичности не свойственна ни видоспецифичность, ни избирательность. Кроме того, антимикробные пептиды проявляют иммуномодулирующие эффекты: влияют на ангиогенез, высвобождение гистамина, выработку цитокинов, имеют хемотаксические функции, связывают липополисахариды и т.д. Поэтому антимикробная функция АМП дополняется или сочетается с адекватной стимуляцией других ответных реакций организма, в том числе – реакций приобретенного – адаптивного иммунитета через цитокины [1-3, 12, 13, 17, 18].

Недавно показано [13], что ацинальными эпителиальными клетками слюнных желез человека и мышей продуцируется CCL28 – хемокин для эпителиальных клеток слизистых оболочек, клеток памяти и эозинофилов. Он секретируется в человеческую слюну и молоко в высоких концентрациях. С-концевая часть хемокина очень похожа на кандидацидный пептид гистатин-5. Человеческий и мышинный CCL28 обладает очень мощной антимикробной активностью против широкого спектра микробов, включая *Candida albicans*, грам(+) и грам(-) бактерии, и предохраняет, возможно, слизистые оболочки от колонизации разными патогенами. Связываясь с важными компонентами внеклеточного матрикса эпителиальных клеток, хемокин может накапливаться и концентрироваться вблизи продуцирующих его клеток, формируя градиент в ткани и барьер против колонизации микробами. Следовательно, это – антимикробный протеин на поверхности слизистых оболочек, действующий совместно с другими антимикробными факторами слизистых секретов [13]. Таким образом, CCL28 в местном иммунитете СОПР

выполняет роль и хемокина, и антимикробного пептида и, даже, проявляет кандидацидную активность. В этом отношении он является, вероятно, синергистом дефензинов, действующих при начальном инфицировании в цепи IL-23//Th17/IL-22 /дефензины [12, 18, 19].

Распознавание антигенов и синтез антимикробных пептидов эпителиальных клеток при активации сопровождается выработкой цитокинов. Спектр цитокинов, выделяемых активированными эпителиальными клетками, близок к спектру гуморальных продуктов, синтезируемых известными антиген-представляющими клетками – макрофагами (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\alpha$ ), что определяет развитие иммунного и воспалительного ответов. Также выделяются гемопоэтины: ростовые факторы для нейтрофилов, моноцитов, IL-7, которые действуют не только на кровяные клетки, но и на сами эпителиальные клетки. Описана также выработка эпителиальных клеток IL-12, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, TGR- $\beta$ , секреция ими, кроме CCL28, других хемокинов, ответственных за привлечение в кожу и слизистые оболочки гранулоцитов, макрофагов, циркулирующих Т-ЛФ и предшественников дендритных клеток. Они выделяют  $\alpha$ -хемокин IL-8, макрофагальные воспалительные белки MIP1a, MIP2 (ответственны за привлечение нейтрофильных гранулоцитов и ремоделирование слизистой оболочки бронхов при патологии), а также 3 фактора, индуцируемые под влиянием IFN- $\gamma$ : IP10, Mig и I-TAC (привлекают Т-клетки памяти). Другую группу хемокинов эпителиальных клеток барьерных тканей представляют  $\beta$ -хемокины: моноцитарные хемотаксические протеины MCP-1, MCP-3 и MCP-4 для макрофагов и дендритных клеток, STACK (cutaneous T cell-attracting chemokine), TARC (thymus and activation-regulated chemokine), привлекающие Т-ЛФ, а также эотаксин и RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted), хемоаттрактанты для эозинофилов и Т-клеток. Минимально эти все хемокины обеспечивают постоянный должный клеточный состав лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками, а при активации их количество резко возрастает [20].

Кроме эпителиальных клеток, в эпителиальном пласте находятся лейкоциты и 3 типа отростчатых клеток: клетки Лангерганса, меланоциты и клетки Меркеля. Клетки Лангерганса – дендритные антиген-представляющие клетки, захватывают антигены (АГ), проникающие в СОПР, осуществляют их переработку и доставляют в лимфатические узлы, где представляют АГ лимфоцитам, а могут представлять АГ лимфоцитам в пределах самого эпителия. Число клеток Лангерганса выше у женщин, снижается у всех с возрастом, увеличивается при воспалении и курении. Меланоциты, тоже отростчатые клетки, синтезируют меланин, что зависит от меланоцит-стимулирующего гормона, адренокортикотропного гормона (АКТГ), меньше – от тироксина, андрогенов и эстрогенов. Клетки Меркеля – клетки нейтрального происхождения, связаны с афферентными нервными волокнами и осуществляют рецепторную осязательную функцию. Они могут быть отнесены и к элементам диффузной эндокринной системы, т.к. выделяют вазоактивный интестинальный пептид, пептид гистидин-изолейцин, пептид, связанный с кальцитониновым геном и вещество – субстанцию Р. Сейчас известно, что все эти вещества участву-

ют в иммунных реакциях [1, 11].

Собственная пластинка СОПР включает фибробласты, фиброциты, гистиоциты, тучные и плазматические клетки, лейкоциты. Фибробласты – крупные подвижные отростчатые клетки, синтезируют различные цитокины, компоненты межклеточного вещества [21], а также участвуют в его внутри- и внеклеточном разрушении, делятся редко, при заживлении его выработка резко усиливается. Фиброциты на них похожи во всем, но более слабо участвуют во всех реакциях, в том числе – и во влиянии на иммунокомпетентные клетки. Гистиоциты – тканевые макрофаги, высокоподвижные клетки веретеновидные или отростчатые, поглощают и переваривают поврежденные и погибшие клетки и компоненты межклеточного вещества, экзогенные клетки и продукты, микроорганизмы, участвуют в индукции иммунного ответа, как антиген-представляющие клетки, регулируют работу клеток других типов, прежде всего, фибробластов. Тучные клетки – содержат гистамин и гепарин, регулируют проницаемость, сосуды, поддерживают баланс жидкостей в тканях, участвуют в аллергической реакции немедленного типа. Плазматические клетки СОПР обеспечивают синтез Ig [1, 4, 11].

Основной популяцией лимфоцитов в эпителии слизистых оболочек являются Т-клетки. Они располагаются, в основном, вблизи базальной мембраны между эпителиальными клетками СОПР и в lamina propria, обозначаются как внутриэпителиальные [1, 4, 12]. Их состав отличается более высоким содержанием Т-ЛФ с Т-клеточным рецептором gd-типа (TCR $\gamma\delta$ ) – до 30% по сравнению с кровью и лимфатическими узлами (5%), и при этом значительная часть этих Tgd+-клеток не несет CD4 или CD8. Однако большинство Т-клеток, даже в кишечнике, относится к «обычным», т.е. несущим TCR ab-типа, причем среди них в эпителии слизистых оболочек преобладают CD8+ Т-ЛФ. Обычно, как Tgd+-клетки, так Tab+-клетки эпителия обладают цитотоксической активностью и выделяют IFN-g. Предполагают, что они являются одной из первых линий защиты от внедряющихся микроорганизмов и их антигенов, даже, белков теплового шока, а также осуществляют иммунологический надзор, направленный на выявление и устранение слишком быстро пролиферирующих (трансформированных) клеток. В lamina propria соотношение Tgd+ и Tab+-клеток соответствует периферической крови, преобладают CD4+Th2 и CD8+цитотоксические Т-клетки. Но, в целом, преобладает дифференцировка CD4+клеток в Th2 с выделением IL-4, IL-5, IL-3, IL-6, IL-13, GM-CSF и др., хотя могут образовываться Th1, Th3, Th17-клетки и адаптивные Трег лимфоциты [1, 13], в значительном количестве синтезирующие TGF- $\beta$ . В отличие от Т-клеток с TCRgd+, Т-ЛФ с TCRab постоянно поступают в кожу и слизистые оболочки, особенно – активированные и клетки памяти, что определяется их молекулами адгезии – интегринами VLA4(B1), LFA1(B2) и, особенно CLA (модифицированный лиганд Р-селектина) [1]. В lamina propria и в подслизистом слое соседствуют Т-, В- и натуральные киллеры (NK), но численно преобладают В-клетки – продуценты высокоаффинных IgA-антител и плазмциты – «фабрики» этих антител. Во всех случаях в норме, в процесс иммунного ответа, наряду с эпителиальным пластом в слизистых оболоч-

ках, вовлекаются субэпителиальные структуры: собственная оболочка и подслизистый слой. Очень важно, что параллельно с эффекторными клетками при иммунном ответе всегда образуются клетки памяти (CD45RO+), которые характеризуются большей продолжительностью жизни, чем наивные лимфоциты, и высокой способностью к рециркуляции. И именно эпителий слизистых оболочек является тем местом, куда мигрируют из кровяного русла Т-клетки памяти и их относительно всегда больше в слизистых оболочках, чем в других компартментах. Человек и животные существуют в определенном микроокружении, и велик шанс поступления того же микроорганизма через барьерные ткани. В этом случае, наряду с механизмом миграции дендритных клеток из лимфоузлов для выполнения функции антигенного представления, стимул может быть воспринят Т-клетками памяти от непрофессиональных антиген-представляющих клеток – активированных эпителиоцитов, которые как раз могут активировать Т-клетки памяти, но не наивные Т-ЛФ [1]. В результате Т-клетки с рецепторов к этому антигену начинают пролиферировать. Подобные контакты с «актуальными» (регулярно поступающими) антигенами приводят к возрастанию численности клеток памяти, распознающих именно эти повседневные антигены, повышается готовность отразить биологическую агрессию со стороны.

В эпителии ротовой полости, кроме лимфоидных клеток, локализованы разнообразные лейкоциты: нейтрофильные гранулоциты, дендритные клетки, макрофаги, натуральные киллеры, тканевые базофилы. Тканевые базофилы содержат цитоплазматический IgE, сывороточную протеазу и секреторные медиаторы. В норме тканевых базофилов немного, но число их резко возрастает при некоторых заболеваниях, например, паразитарных. Около 3% составляют нейтрофильные гранулоциты. Однако роль в СОПР намного меньше изучена и определена. По-видимому, она должна быть значительной, так же, как и роль макрофагов и дендритных клеток. Все они способны распознавать паттерны микроорганизмов, индуцировать разные типы адаптивного ответа, о чем уже было упомянуто выше. Вероятно, как везде в организме, так и в СОПР нейтрофильные гранулоциты выполняют решающую роль как фагоциты и регуляторы воспаления и адаптивных ответов. А также фагоцитоз, осуществляемый нейтрофилами и макрофагами/моноцитами, завершает все виды адаптивных ответов, выполняя эффекторную функцию – элиминацию микроорганизмов и соматических клеток [13].

Все виды клеток всех слоев СОПР тесно взаимодействуют через растворимые факторы. Так, например, эпителиальные клетки вырабатывают антимикробные пептиды, IL-1, TNF- $\alpha$ , CSF и др. цитокины, влияющие на клетки Лангерганса. Они, в свою очередь, вырабатывают цитокины, активизирующие наивные Т-ЛФ к синтезу пролиферационного цитокина IL-2, могут регулировать дифференцировку Т-хелперов. IL-1 увеличивает число рецепторов к меланоцит-стимулирующему гормону на меланоцитах, что влияет на пигментацию, а также на синтез адренокортикотропного гормона и т.д. Цитокины эпителиальных клеток действуют на рост и функциональную активность фибробластов прилежащей соединительной ткани [21]. Лимфоциты,



представленные не только отдельными клетками, но и скоплениями в виде узелков, а также язычной миндалины, и другие лейкоциты влияют на эпителиальные клетки своими цитокинами. Все клетки обязательно участвуют в иммунной защите непосредственно и через растворимые факторы, которые попадают и в ротовую жидкость.

Если рассматривать последовательность ответных реакций СОПР при воздействии разных антигенов, то различают: 1) немедленный ответ, который осуществляют неактивированные факторы врожденного иммунитета, постоянно присутствующие в ротовой жидкости, и действующие сразу после появления любого антигена в широком понимании этого термина или инфицирования; 2) ранний индуцибельный ответ, опосредованный индуцированными факторами врожденного иммунитета, начинающими действовать через 3-4 часа после инфицирования; 3) адаптивный иммунный ответ, развивающийся через 4-5 суток после инфицирования [1, 12, 13]. Таким образом, в первые часы поступления антигена или инфицирования реакция опосредуется факторами врожденного иммунитета в 2 фазы: немедленного и раннего индуцибельного ответа. При исходно высокой функциональной активности клеточных и гуморальных факторов врожденного иммунитета любой возбудитель может быть уничтожен на месте входных ворот очень быстро до развития адаптивного иммунного ответа. Врожденный иммунитет также играет главную роль в удалении апоптотических и некротизированных клеток и реконструкции поврежденных тканей.

Распознавание микроорганизмов осуществляют, в основном, 3 вида клеточных паттерн-распознающих рецепторов (PRR): TLR (TOLL-like receptors, NLR (NOD-like receptors) и RIL (RIG-like receptors) [1, 4, 12, 13, 17]. PRR в том или ином наборе и количестве выявлены на многих клетках в СОПР: больше всего PRR несут дендритные клетки, несколько меньше – макрофаги, эндотелиоциты, кератиноциты и эпителиальные клетки [1, 4, 12, 13, 17]. На нейтрофилах тоже имеются TLR 1,2,4,6,8, хотя и с низкой экспрессией, CD14, D1, рецепторы для компонентов комплемента, Fc-фрагментов IgG и IgA. Однако в основе немедленного ответа лежит действие антимикробных пептидов, которые распознают клетки с бесхолестериновыми мембранами [1-3], выделяются разными клетками СОПР. Главным источником  $\alpha$ -дефензинов 4-х типов (HNP1-4) являются нейтрофилы, моноциты/макрофаги, эпителиальные клетки кишечных крипт,  $\beta$ -дефензимов – эндотелиоциты и кератиноциты, эпителиоциты [22]. Антимикробные пептиды способны убивать бактерии, грибы, оболочечные вирусы внутриклеточно – в фаголизосоме и внеклеточно. В результате экзоцитоза в очаге воспаления могут накапливаться большие концентрации дефензимов. Они вызывают синтез IL-8 и сами являются хемоаттрактантами, стимулируют дифференцировку дендритных клеток, ангиогенез, заживление ран, индуцируют апоптоз и ингибируют синтез TNF- $\alpha$ , что важно на заключительных этапах воспаления. По-видимому, в СОПР первыми немедленно распознают микроорганизмы эпителиальные клетки, что и приводит к выделению антимикробных пептидов, активации внутриклеточных сигнальных путей для синтеза цитокинов и хемокина, чем и привлекаются

к этим входным воротам клетки врожденного иммунитета, прежде всего – нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, а уже далее – могут или не будут «работать» резидентные дендритные клетки и макрофаги. Антимикробные пептиды и IL-8 привлекают нейтрофильные гранулоциты. Они роллингом, распластыванием и диапедезом проходят, «протискиваются» через эндотелий, в этом им помогают металлопротеазы лейкоцитов. В азурофильных гранулах нейтрофилов содержится миелопероксидаза,  $\alpha$ -дефензины 4х типов (HNP1-4), белок, повышающий проницаемость бактерий – BP-1, лизоцим, нейтральные протеазы. Специфические гранулы нейтрофилов тоже содержат антимикробные вещества: лактоферрин, лизоцим – 2/3 от всего его количества, фосфолипаза A2, BP-1, кателицидин hCap-18, от которого под действием протеиназ первичных гранул в фаголизосоме отщепляется пептид LL-37 с широким спектром антимикробного действия. Лактоферрин, перехватывая Fe<sup>3+</sup>, подавляет размножение микроорганизмов и может оказывать прямой бактерицидный, противовирусный и противогрибковый эффекты. Фосфолипаза A2 и BP-1 преимущественно действуют на грамм(+) и грамм(-) бактерии, разрушая их клеточную стенку. Белки липокартин и другие в матриксе специфических гранул обладают бактериостатической активностью. И только позже активированные макрофаги, базофилы, тучные клетки синтезируют MCP-1, который является главным хемоаттрактантом для моноцитов. В процессе реакций нейтрофилов появляются продукты разрушенных бактерий – формилпептиды, которые, как и IL-8, C3a, C5a тоже более всего привлекают в СОПР нейтрофильные гранулоциты. Так что обнаружение этих клеток в ротовой жидкости, слюне и мазках со слизистых оболочек показывает эффективность защиты.

Одновременно с действием антимикробных пептидов в месте входных ворот, например, в СОПР, происходит опсонизация возбудителя компонентами системы комплемента и антителами, и фагоцитоз микроорганизмов, по-видимому, сначала нейтрофильными гранулоцитами, а также резидентными макрофагами и незрелыми дендритными клетками. Эти клетки активируются и синтезируют комплекс провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые дополнительно стимулируют клетки врожденного иммунитета и усиливают их приток в очаг воспаления. В этом заключается сущность раннего индуцибельного ответа. При раннем индуцибельном ответе (4-96 час.) синтезируются: 1) провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, IL-27) и 2)  $\alpha$  (IL-8) и  $\beta$ -хемокины – клетками иммунными и не костномозгового происхождения; 3) IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$  – лейкоцитами и фибробластами; 4) IFN- $\gamma$  – NK и NKT-клетками. Таким образом, в первых защитных реакциях участвуют как клетки врожденного иммунитета (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, моноциты/макрофаги, дендритные клетки, NK, T $\gamma$ δ-клетки, V $\delta$ -клетки), так и неиммунные клетки (эпителиальные клетки СОПР, эндотелиальные клетки, фибробласты и др.), и гуморальные факторы (антимикробные пептиды, цитокины, хемокины, антитела, острофазные белки, белки системы комплемента и т.д.), синтезируемые этими клетками и даже такими, как гепатоциты. Все они не только осуществляют первые защитные

реакции, но индуцируют развитие адаптивного ответа, даже без видимого воспаления (нет признаков болезни) или с признаками (есть такие признаки: боль, покраснение, отек, повышение температуры). Как уже было сказано, при высокой активности первых этапов защитных реакций развитие любой инфекции может быть остановлено, она не проявит себя клиническими признаками. Человек может вообще не заметить течения раннего и индуцибельного иммунного ответа, как это происходит в норме при постоянных контактах с условно-патогенной микробиотой. При этом главная роль в защите от внеклеточных патогенов принадлежит опсонинам и фагоцитам (нейтрофилам и моноцитам), от внутриклеточных – макрофаги, натуральные киллеры и цитокинам, синтезируемым Т-ЛФ [1, 4, 17].

С возрастом меняется защитная роль СОПР [7]. Известно, что инволютивные процессы в лимфоидных органах и мукозоассоциированной – внутриэпителиальной лимфоидной ткани отмечаются уже с 30-35-летнего возраста, а в 40-49 лет становятся уже отчетливо выраженными. При исследовании секрета слюнных желез в 3х возрастных группах, начиная с 35 лет, [7] показано, что во всех изучаемых группах в слюне более 50% занимают клетки неиммунного происхождения (CD45-), к которым относятся, прежде всего, эпителиоциты буккального происхождения. При этом у пациентов в возрасте 35-60 лет преобладали эти неиммунные клетки, а после 60 лет – клетки, экспрессирующие CD45+, с возрастом нарастало до 94% количество лейкоцитов с маркером гранулоцитов (CD45+CD13+). Во всех группах было много мононуклеаров, хотя их количество с возрастом уменьшалось. Лимфоцитов было мало (1,5-3,6%) у всех, меньше всего в группе пожилых ветеранов. Снижалось и количество мононуклеаров, экспрессирующих молекулы адгезии, но с возрастом нарастало количество гранулоцитов с этими молекулами адгезии, особенно изменения касались лиц старческого возраста. Количество НК с возрастом не менялось. В старческом возрасте было самое низкое число В-ЛФ и Тх, количество Тц – не отличалось. Снижалась общая гемолитическая активность и уровень С3а, С5а-компонентов, особенно в старческом возрасте, но у этих лиц увеличивалось количество белка и муцина, а также наблюдался многократный рост уровня sIgA, снижение IgE. По мнению авторов, инволютивные изменения тимуса и периферических лимфоидных органов, которые проявляются нарушениями морфологии органов, синтеза и секреции сигнальных молекул, снижением пролиферативного потенциала иммунокомпетентных клеток, сопровождаются уменьшением численности популяций иммуноцитов в биологических жидкостях. Проллиферативный потенциал снижается из-за уменьшения длины теломеров, концевых фрагментов ДНК, необходимых для репликации генома делящейся клетки [1,7]. Зависимый от возраста рост IgA и гранулоцитов обусловлен воспалительными изменениями СОПР, связанными с протезами, низкой гигиеной. Повышение белка и муцина связаны с уменьшением тока слюны, но служит компенсаторным механизмом, препятствующим колонизации микроорганизмами, и благоприятствует их элиминации, что совместно с IgA приводит к увеличению клиренса патогенов. Как считают [7], признаков аллергии нет, а клиническая симптоматика обусловлена псевдоаллер-

гическими реакциями, вызванными гаптенами и гистаминолиберацией. Выявленные изменения отражают общие закономерности старения организма человека и иммунная система в целом, и полагают, что [7], что состояние СОПР в большей степени, чем твердых тканей зубов и пародонта может служить показателем состояния организма в целом еще до появления патологических изменений в других тканях. В определенной мере это подтверждается данными другого исследования [10], где показаны изменения иммунологической реактивности и антиоксидантной активности ротовой жидкости при хроническом пародонтите, а также сочетании его с сахарным диабетом и ишемической болезнью, что, как известно, также развивается с возрастом.

Снижение функциональной активности клеток СОПР и ротовой жидкости в любом возрасте может приводить к активизации условно-патогенной микробиоты и, даже, замещению ее патогенной, что способствует развитию дисбиоза СОПР различной степени тяжести [2, 3, 5-10], потому что в норме есть состояние равновесия, которое является результатом взаимодействия микроорганизмов с главным «регулирующим» их численности – иммунитетом, прежде всего, местным [2, 3]. Поскольку, даже у здоровых людей, микроорганизмы густо заселяют СОПР [2, 3, 5-7, 9, 10] развитие дисбиоза или другого воспаления не обязательно возникает из-за их попадания в ротовую полость извне: это могут быть микроорганизмы, обитающие в зубной бляшке, на миндалинах и других эпитопах полости рта. Провоцирующими факторами воспалительных процессов СОПР могут быть бактерии носоглотки: у 90% пациентов со слизистых оболочек носоглотки обычно высевают *Streptococcus* и *Neisseria*, у 26-46% здоровых людей добавочную группу составляют *Staphylococcus*, *Hemophilus* и *Corinebacterium*. В транзитную группу входят бактерии родов *Esherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, а также *Candida*, *Micrococcus*, *Branhamella*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*. Из них наиболее часто (19,9%) отмечают *Candida*, значительно реже – все остальные [4]. Причинами могут быть рахит, нарушения носового дыхания, естественного вскармливания, дурные привычки (сосание пальцев и предметов), аллергия и детские инфекционные заболевания [9]. У взрослых людей это могут провоцировать механические травмы, например, коронкой подвижного зуба, протезом и табакокурение [9, 10]. В пожилом и старческом возрасте нарушение трофики тканей СОПР, обусловленное снижением слюноотделения, нарушением процессов дифференцировки и ороговения эпителия, делают ткань чрезвычайно чувствительной, легкоранимой, плохо регенерирующей. Дополнительным фактором травматизации служит более частое протезирование, использование разных протезов с развитием эрозивно-язвенных дефектов СОПР, являющихся «входными воротами» для инфекции, создающих предпосылки для развития аллергических и опухольных процессов [7, 9, 10]. Все эти факторы приводят к ухудшению гигиены полости рта, способствуют развитию местного и, даже, общего иммунодефицита, на фоне которых начинают усиленно размножаться условно-патогенные микроорганизмы, развивается дисбиоз и воспалительные процессы различных органов полости рта.

Но оказалось, что баланс между микроорганизма-

ми и мукозальным иммунитетом СОПР может быть измененным, даже при такой распространенной патологии, как кариес, особенно – при наличии гастрита [13, 14, 23]. Изучали микробоценоз при кариесе разной степени интенсивности без явных воспалительных процессов в СОПР у 130 подростков, которые не имели системных иммунодефицитов, не получали в последний месяц антимикробной, иммунодепрессивной, иммуномодулирующей и кислото-ингибирующей терапии, а также лечения на брекет-системе и явных воспалительных процессов в СОПР, но страдали хроническим гастродуоденитом. Сравнили особенности микробоценоза с локальным синтезом антимикробных пептидов, про- и противовоспалительных цитокинов, компонентов системы комплемента в ротовой жидкости. Контрольную группу составили 30 здоровых подростков того же возраста (12-15 лет). Установлено, что у подростков с кариесом изменилась структура биоценоза в ротовой полости: возросло присутствие *Staphylococcus aureus* (43,7%) при компенсированной и еще более – при декомпенсированной форме (58,4%); у 13,5% человек с компенсированной и у 18,4% – с декомпенсированной формой обнаружили *S. haemolyticus*. Уменьшилось доминирование *S. salivarius*, а также лактобактерий, в доминирующую группу микроорганизмов перешли грибы рода *Candida* и семейство *Enterobacteriaceae*. Выделены такие микроорганизмы кишечной группы *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaene*, *E. fecali*. Хотя все изменения микробоценоза были похожими при обеих формах кариеса, но более выраженными – при декомпенсированной. Они сопровождался нарастанием антилизоцимной активности микробиоты также в зависимости от степени тяжести кариеса ( $p < 0,01$ ). При этом самой высокой антилизоцимной активностью обладали штаммы *S. aureus* и *Candida* spp. Установлено, что уровень дефензинов был одинаков ( $p > 0,05$ ) у подростков с кариесом и здоровых лиц, но при декомпенсированной форме кариеса была тенденция к возрастанию уровня кателицидина LL-37, источником которого, помимо нейтрофильных гранулоцитов, могут быть клетки сквамозного эпителия ротовой полости, субпопуляции лимфоцитов и моноцитов [15]. При обеих формах кариеса в ротовой жидкости было достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличено содержание провоспалительного цитокина и известного хемоаттрактанта IL-8. Таким образом, возрастание в полости рта количества и видов условно-патогенных микроорганизмов, обладающих повышенной антилизоцимной активностью, на фоне хронического гастродуоденита, даже при кариесе, который не сопровождался клинически явной воспалительной реакцией мягких тканей, увеличивалось образование кателицидина LL37 и IL-8, известных участников и свидетелей хронического воспалительного ответа. По-видимому, интактная слизистая оболочка за счет выработки некоторого количества дефензинов, кателицидина LL37 и IL-8, удерживает биоту ротовой полости в состоянии толерантности без развития клинически значимого воспаления [15]. По-видимому, мукозальные иммунные факторы СОПР при кариесе разной степени тяжести способны достаточно активно сопротивляться повышенному содержанию и измененному составу микробиоты, ее усиленной агрессии, о чем свидетельствует возросшая антилизоцимная активность микроорга-

низмов на фоне повышения уровней кателицидина и IL-8, вырабатываемых клетками врожденной защиты, что характерно и для обострения хронического воспаления слизистой оболочки. Тем не менее, выявленными изменениями синтеза кателицидина LL-37 и IL-8 показана возможность развития воспаления в слизистой оболочке у пациентов при декомпенсированной форме кариеса. Интересно, что уровень других антимикробных пептидов - дефензинов в ротовой жидкости у здоровых и больных с кариесом не отличается, несмотря на различия в биоте. По-видимому, СОПР, постоянно контактирующая со значительным числом часто меняющихся микроорганизмов, постоянно за счет дефензинов препятствует присутствию и пролиферации излишнего количества различных «опасных» представителей биоты биотопа, тем более, что все время происходит эвакуация всех защитных факторов со слюной. Таким образом, при исследовании на примере подростков, больных хроническим гастродуоденитом и кариесом выявили, что существенное ухудшение состава и количества микробиоты СОПР сопровождается настолько значительной активацией клеток внутриэпителиальной иммунной системы, что препятствует развитию клинически видимого воспаления мягких тканей пародонта. Однако, по-видимому, это «пороговое» состояние: при прогрессировании кариеса, при активизации воспалительных процессов в других биотопах слизистой оболочки провоспалительные механизмы СОПР могут привести к ее повреждению в виде гингивитов, стоматитов, парадонтитов [14, 23].

Этиология таких заболеваний, как стоматиты может быть разной. Наблюдают даже орофарингеальный кандидоз, как острую и хроническую первичную инфекцию [19]: а) псевдомембранозный кандидоз, наиболее частый у новорожденных детей, ассоциированный с повреждениями иммунной системы, а также взрослых людей, больных сахарным диабетом или бронхиальной астмой при использовании ингаляторных кортикостероидов для лечения, и хронический псевдомембранозный кандидоз при ВИЧ-инфекции и СПИД; б) острый эритематозный кандидоз – инфекция, ассоциированная с размножением *Candida* spp. вследствие приема антибиотиков широкого спектра действия, а хронический, нередко протекающий асимптоматически, отмечают у 65% от общего числа носителей зубных протезов. При протезных стоматитах чаще всего высевают *Candida albicans* (80,5%), реже – других представителей этого рода грибов: *C. tropicalis* (26,8%), *C. pseudotropicalis* (19,5%), *C. paracrusei* (7,3%) [12]. Этому способствует плохая гигиена полости рта и возрастное изменение иммунитета СОПР [7]; в) хронический гиперпластический кандидоз СОПР – инфекция особенно значительная, когда ассоциирована с опухолями в поврежденных местах, хотя роль *Candida* spp. в этом процессе остается не ясной [19]. Могут быть хейлит и глоссит, вызванные *Candida* spp., часто – в сочетании с *S. aureus* [19]. Отметим, что во всех этих случаях сомнительным остается представление о первичности орофарингеального кандидоза, поскольку всегда обнаруживают первичную локальную или общую причину, негативно влияющую на местные защитные механизмы СОПР. Первичными эти формы кандидоза СОПР могут считаться только с точки зрения отсутствия генетической причины общего или локального дефекта

иммунной системы. Это представление подтверждает существующий синдром хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек или в международной номенклатуре – хронический кожно-слизистый кандидоз – общий термин, объединяющий, по сути, ряд синдромов, обусловленных генетическими дефектами иммунных механизмов и проявляющихся хроническими персистирующими диффузными поверхностными *Candida*-инфекциями кожи, ногтей и слизистых оболочек, включая ротовую полость и пищевод [13, 24-27, 28].

Нарушения баланса между микроорганизмами и локальными иммунными механизмами СОПР являются основой непереносимости стоматологических конструкционных материалов [5, 7, 10, 11, 16, 29], которую нередко отождествляют с контактными и токсико-аллергическими стоматитами. В их основе лежит изменение чувствительности СОПР к лекарствам, пищевым продуктам, химическим веществам, принимаемым внутрь, вдыхаемым, всасывающимся через кожу и слизистые оболочки, вводимым парентерально, в том числе, могут быть стоматологические протезные материалы, зубные пасты и эликсиры [16, 29]. Непереносимость стоматологических конструкционных материалов часто и в основном наблюдают у лиц старших возрастных групп, страдающих, кроме парадонтита и парадонтоза, разной соматической патологией, особенно – желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы, сосудистой системы [10, 11, 16]. Развитие хронической воспалительной патологии СОПР на фоне воспалительных процессов других локализаций у этих пациентов обусловлено, возможно, наличием общего вторичного иммунодефицита, имеющего сложный комплексный механизм развития в этих возрастных группах, что отмечают все авторы. В свою очередь, снижение защитных свойств СОПР облегчает пролиферацию и способствует увеличению патогенных свойств биоты данного биотопа. Непереносимость стоматологических конструкционных материалов, как и контактный и/или токсико-аллергического стоматит с иммунологических позиций нельзя относить к аллергическим, поскольку речь идет в этих случаях об этиологических факторах, не несущих признаков генетически чужеродного материал [1, 11, 16, 17]. Но некоторые из названных веществ могут быть гаптенами, прикрепляющимися к молекулам-носителям. Это обсуждали и доказали при исследовании патогенеза непереносимости стоматологических конструкционных материалов [11, 16], когда не было выявлено ни повышения уровня общего IgE, ни специфических IgE-антител. Но при этом обнаружили признаки хронического воспалительного процесса (повышение синтеза провоспалительных цитокинов, активности клеток воспаления и гиперактивации системы комплемента с увеличением уровня анафилотоксинов), как и в других исследованиях, активацию выработки таких защитных факторов врожденного местного иммунитета, как sIgA и лизоцима [11, 16]. Считают, что в патогенезе контактных стоматитов участвуют антиген-представляющие клетки (клетки Лангерганса, эпителиоциты, презентующие гаптены Т-хелперам), и сами Т-клетки, дифференцирующиеся в Th1, а также обычные функциональные партнеры последних – макрофаги, активируемые IFN- $\gamma$  – продуктом Th1. Морфологическая основа кон-

тактных стоматитов – пролиферативная реакция Th1-клеток в виде гранулемы, которые, в данном случае, являются не только регуляторами, но и основными исполнителями реакции по спектру секретируемых цитокинов. Ключевую роль во взаимодействии Т-ЛФ с эпителиоцитами, по-видимому, играет IL-17 – продукт различных клеток, включая Т-ЛФ, вырабатываемый локально. При этом может быть реакция замедленного типа при нанесении этих материалов на кожу, без реакции на слизистой оболочке у этого больного (полное соответствие по механизмам иммуногенеза в коже и слизистых оболочках). При непереносимости стоматологических конструкционных материалов на протезные материалы в месте контакта слизистых оболочек с протезом возникает жжение, сухость во рту, изменение вкусовых ощущений вплоть до полной их потери, но могут быть тошнота, рвота, головокружение, нарушение дыхания, поражение губ и кожи вокруг рта. Непосредственными причинами этих симптомов считают мономеры, красители, входящие в протезные материалы, но имеет значение механический, термоизолирующий эффекты и увеличение времени ношения протеза [28, 29]. Не исключено значение в патогенезе непереносимости стоматологических конструкционных материалов электрохимической коррозии – гальваноза. Полагают, что гальваноз угнетает окислительно-восстановительные процессы и в месте контакта СОПР с протезом, и в видимо здоровой ее части. При этом в полости рта повышается количество представителей кокковых микроорганизмов и *Candida spp.* Если эти протезы заменяли металлокерамическими, то индекс обсемененности микроорганизмами уменьшался. Предполагают, что глазурованная поверхность металлокерамических зубных протезов препятствует адгезии микроорганизмов, за счет чего уменьшается их инвазивность и пролиферация. Возможно, в определенной мере, причиной указанных симптомов при непереносимости стоматологических конструкционных материалов является повышенная гистаминолиберация, которая свойственна хроническим воспалительным процессам, на что указывали В.В.Михайлов, А.И. Дойников, А.И. Лазебник (1990). Ими было установлено, что в месте повреждения слизистой оболочки в процессе привыкания к протезам повышается содержание тучных клеток и базофилов, а также на фоне резкого снижения интенсивности слюноотделения происходит повышение концентрации гистамина. Все это зависело от наличия травматических повреждений слизистых оболочек протезами, воспаления, которое затем купировалось на 15 сутки. По-видимому, концентрация гистамина в слюне служит показателем наличия воспалительной реакции [7], поскольку гистамин расширяет сосуды, что увеличивает приток клеток воспаления и защиты, но не является признаком аллергии, как таковой. Однако при хроническом воспалении, когда повышено выделение таких гистаминолибераторов, как анафилотоксины системы комплемента, может развиваться клиническая картина, напоминающая аллергические [7, 11, 16]. Это подтверждено морфологическими, электронно-микроскопическими, светооптическими, реополюрографическими, микробиологическими исследованиями (Ирсадиев Х.И. 1993), при которых были выявлены признаки, означающие развитие хронического воспаления при протез-

зировании. Было показано, что уже при потере зубов изменяются защитно-барьерные свойства СОПР, что облегчает пенетрацию микроорганизмов. При протезировании уменьшается эпителиальный слой, увеличивается объем волокон и количество клеток стромы: преобладают макрофаги, тучные клетки, фибробласты. Постепенно уменьшается объем волокон и клеток в строме, преобладают фибробласты, которые, видимо [21], постепенно регулируют восстановление соотношения между слоями. Через год оно нормализуется при отсутствии коморбидной патологии [10]. Но и через год остается значительный объем таких клеток, как макрофаги, тучные клетки и фибробласты, что является показателем сохраняющегося раздражения. Меняется и микробиота при потере зубов и ношении разного вида протезов: чем дольше ношение, тем больше микроорганизмов и их спектр расширяется вплоть до необычных, что увеличивает нагрузку на защитно-барьерную функцию СОПР. Не наблюдали каких-либо микроорганизмов глубже базальной мембраны, если не было признаков воспаления, что служит признаком активизации глубоких механизмов защиты СОПР. Но все авторы отмечают первостепенное значение иммунологического состояния организма в этих процессах, причем наиболее важную роль в феномене непереносимости стоматологических конструкционных материалов, как считают, играет ослабление местного иммунитета слизистой оболочки, нарушение защитных свойств ротовой жидкости (слюны) [11, 16, 29], и, соответственно, механизма колонизационной резистентности [2, 4]. Гистологически похожие изменения обнаруживают и при так называемых токсико-аллергических стоматитах, которые могут быть вызваны и медикаментами (сульфамиды, морбитураты, тетрациклины и др.), что является основанием для аллерготестирования, как и при непереносимости стоматологических конструкционных материалов [16]. У больных при этом гистологически обнаруживают накопление тучных клеток, являющихся источниками вазоактивных веществ, выделяемых в месте токсического воздействия, накапливаются молодые лимфоидные клетки, синтезирующие свои пептиды, о чем свидетельствует увеличение содержания ДНК в области воспаления. В слюне и слывах возрастают уровни IgA, sIgA и других белков. Однако в тестах, используемых для диагностики этих стоматитов, показан совсем другой, а не аллергический патогенез. Рекомендуют как важное, исследование биологически активных веществ: гистамина, серотонина, катехоламинов и кининов, поскольку у больных обычно снижена способность сыворотки крови связывать гистамин и серотонин (гистамино- и серотонинопексия), нарушена антигистаминная активность. Но эти изменения означают влияние причинных факторов на микрососуды, на устойчивость мембран клеток к внешним повреждающим воздействиям, а также нарушения антиоксидантных свойств печени как источника синтеза многих ферментов [7]. По-видимому, такого рода воспаление СОПР тоже сопровождается нарушением колонизационной резистентности и развитием дисбиоза. Поэтому есть мнение, что микробиота СОПР представляет собой высокочувствительную индикаторную систему, реагирующую качественными и количественными сдвигами при изменении состояния местного (мукозального)

иммунитета. Для этого предлагают использовать показатель бактерицидности РЖ, оцениваемый по отношению к *C. albicans* или *S. aureus* [5, 6]. В норме она должна быть 29,84+14,90% (15,4- 33,4%), а при дисбиозе бактерицидная активность ротовой жидкости повышается прямо пропорционально степени дисбиоза – от 35,0+4,0% до 64,84+5,98%, т.е. количество лизированных *C. albicans* возрастает. Но появляются признаки патологического изменения СОПР [5, 6]. Причинами могут быть: привлечение нейтрофильных гранулоцитов, высвобождение их гранул, в том числе – антимикробные пептиды, которые могут активировать другие клетки, и при высоких концентрациях (более 50 мкг/мл) дефензины (HNP)1-3 и кателицидин LL37 могут осуществлять цитолиз клеток собственного организма, индуцировать высвобождение IL8 и нейтрофилактивирующего белка-78 из эпителиальных клеток, чем дополнительно привлекаются нейтрофильные гранулоциты. Из них высвобождаются продукты окислительного взрыва, но системы каталазы и супероксидсмутазы не способны минимизировать их повреждающее действие на собственные ткани организма. Свой вклад в повреждение собственных тканей вносят эластаза, коллагеназа, желатиназа и другие продукты, высвобождающиеся из этих клеток. За счет повышения выделения всех этих продуктов у пациентов с дисбиозом 3 и 4 степеней подавляются процессы репарации, появляются признаки патологического изменения СОПР [5, 6]. Однако, как ранее сказано, развивается дисбиоз СОПР, даже при кариесе у детей, особенно, на фоне хронического гастрита, при ношении протезов, при непереносимости стоматологических конструкционных материалов у людей старших возрастных групп – на фоне заболеваний пародонта и коморбидной патологии. Поэтому предлагаемый показатель, по-видимому, может быть использован для оценки качества работы местного иммунитета, но дисбиоз СОПР нельзя считать первичным или самостоятельным состоянием/заболеванием. Следует согласиться, что предотвращение нарушений баланса между микроорганизмами и местными защитными механизмами является необходимым условием профилактики многих воспалительных заболеваний СОПР, носоглотки и, как считают, даже таких заболеваний внутренних органов, как гастриты, кишечные инфекции, гельминтозы и паразитозы, поскольку инфекционные агенты при этом попадают в организм человека исключительно per os [2, 3, 12].

## ВЫВОДЫ

1. Мукозальный иммунитет обеспечивает интактность слизистой оболочки полости рта в здоровом организме без клинических проявлений и элиминации облигатных и факультативных представителей нормобиоты.
2. Баланс между микроорганизмами и местными защитными механизмами является необходимым условием профилактики многих воспалительных заболеваний СОПР, что необходимо учитывать при назначении и проведении антибактериальной терапии заболеваний ротоглотки.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология: атлас. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2011. – 624с.
2. Шабашова Н.В. Микробиоценоз и внутриэпителиальная иммунная система желудочно-кишечного тракта человека// Вестник СПб МАПО. – 2011. – №2. – С. 166-178.
3. Шабашова Н.В. Микробиоценоз и иммунная система. – LAP LAMBERT Academic publish GmbH & Co. KG. Saarbrucken, Germany, 2012. – 81 p.
4. Abbas A.K, Lichtman A.H., Pillai S. Specialized immunity et epithelial barriers and in immune privileged tissues//Cell. and Molec. Immun. ELSEVIER Saunders. – 2015. – 535 p.
5. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Островский А.Д. и др. Оценка мукозального иммунитета у пациентов с дисбактериозом слизистой оболочки полости рта до и после применения комплексного лечения//Иммунология. – 2013. – №2. – С. 91-94.
6. Рабинович О.Ф., Абрамова Е.С. Бактерицидная активность ротовой жидкости в комплексной диагностике дисбиотических изменений слизистой оболочки рта//Стоматология. – 2012. – №3. – С. 35-37.
7. Альтман Э.Д., Зурочка А.В., Теплова С.Н. и др. Характеристика клеточного и гуморального звеньев иммунитета муко-саливарной зоны у лиц зрелого, пожилого и старческого возраста//Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13. – №2-3. – С. 167-174.
8. Никифоров В.А., Ефимов Е.И., Пискарев Ю.Г. и др. Микроэкология слизистой носоглотки и оценка состояния факторов мукозального и лимфоцитарного иммунитета у новобранцев в период формирования организованного коллектива// Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 3. – С. 235-240.
9. Сторожук П.Г., Быков И.М., Еричев В.В. и др. Ротовая полость и ее секреты как система антибактериальной и антирадикальной защиты организма//Аллергология и иммунология. – 2009. – Т.10, №3. – С. 350-357.
10. Горкунова А.Р., Быков И.М., Басов А.А., Лапина Н.В. Изменение иммунологической реактивности и функционирование тиоловой системы антиоксидантной защиты на локальном и системном уровне при хроническом пародонтите и коморбидной патологии// Аллергология и иммунология. – 2014. – Т.15, № 3. – С. 186-190.
11. Шабашова Н.В., Михайлова Е.С., Фролова Е.В. Состояние иммунореактивности у пациентов с протезными конструкциями в полости рта (обзор литературы)// Мидлайн. – 2006. – №2-3(186). – С. 48-56.
12. Wilar C.C. and Dongari-Bagtzoglou A. Immune Defence mechanisms and immunoenhancement strategies in oropharyngeal candidiasis// Expert. Rev. Mol Med. Author manuscript; available in PMC. – 2009. Juli.20.20P.
13. Шабашова Н.В. Особенности локального иммунного ответа и его дефекты при орофарингеальном кандидозе// Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 12, №4. – С. 3-9.
14. Кузьмина Д.А., Шабашова Н.В., Новикова В.П. и др. Микробиоценоз и врожденный иммунитет слизистой оболочки ротовой полости при декомпенсированной форме кариеса до и после лечения «Гепоном»// Стоматология детского возраста и профилактика. – 2009. – Т. VIII, № 4 (31)..– С. 16-20.
15. Шабашова Н.В., Д.А. Кузьмина, Фролова Е.В. и др. Нарушения местного иммунитета и иммунотерапия Гепоном при хроническом воспалении слизистых оболочек разной локализации// Вестник СПб МАПО. – 2010. – Т. 4, №1. – С. 59-64.
16. Шабашова Н.В., Михайлова Е.С., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е. Спектр цитокинов в слюне больных с непереносимостью стоматологических конструкционных материалов //Аллергология и иммунология. – 2006. – Т. 7, №3. – С. 246-247.
17. Шабашова Н.В. Лекции по клинической иммунологии: 1часть – 82 с., 2 часть– 81 с., 3 часть – 84 с. Изд. 4-е. – СПб.: СЗГМУ, 2014.
18. Conti H.R., Baker O., Freeman A.F. New mechanism of oral immunity to mucosal candidiasis in hyper-IgE syndrome// Mucosal Immunology. – 2011. – Vol. 4, №4. – P. 448-455.
19. Xiao-Qing Wei H.R, Lewis Michael A.O. and Williams D.W. The role of the IL-12 cytokine family in directing T-cell responses in oral candidosis// Clin. and Developmental Immunology. – 2011. – Vol. 10.
20. Xu Wang., Sharp J. S., Handel T.M., Prestegard J.H. Chemokine Oligomerization in cell signaling and migration// Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. – 2013. – Vol. 117. – P. 531-578.
21. Бережная Н.М. Физиологическая система соединительной ткани: от физиологии к патологии// Аллергология и иммунология. – 2014. – Т. 15, №3. – С. 165-168.
22. Wiesner J., Vilcinska A. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system// Virulence. – 2010. – P. 440-464.
23. Кузьмина Д.А., Шабашова Н.В., Новикова В.П. и др. *Candida* spp. и микробиоценоз полости рта у детей с декомпенсированной формой кариеса//Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т. 11, №2. –С. 86.
24. Шабашова Н.В. Хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек и иммуногенетические механизмы врожденной чувствительности макроорганизма к *Candida* spp.// Проблемы медицинской микологии. – 2012. – Т. 14, №4. – С. 20-28.
25. Шабашова Н.В., Учеваткина А.Е., Фролова Е.В. и др. Иммунные нарушения у больных с разными клинико-генетическими вариантами хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек// Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т.15, №4. – С. 3-8.
26. Beata Soltesz, Beata Toth, Nadezda Shabashova, et al. New and recurrent gain-of-function STAT1 matations in patients with chronic mucocutaneous candidiasis from Eastern and Central// J. Med. Genet. – 2013. – Vol. 50, №9. – P. 567-578.
27. Shabashova N.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., et al. Phenotypes of the chronic mucocutaneous candidiasis and immunogenetic disorders// Mycosis: Diagnosis. Therapy and prophylaxis of fungal disise. – 2013. – Vol. 56, S.3 – P. 161.
28. Siripen Pesee and Teerakul Arpornsuwan. Salivary cytokine profile in elders with *Candida*-related denture stomatitis// Gerodontology. – 2013. doi:10.1111/ger. 12064.
29. Сафаров А.М., Байрамов Р.Б., Гурбанова С.Ф. Микробиологические особенности протезных стоматитов у лиц, пользующихся съемными протезами на основе «Фторакса» и «Литьевого термопласта медицинской чистоты»//Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т. 12, №4. – С. 31-34.

Поступила в редакцию журнала 28.11.2015

Рецензенты: Е.П. Киселева, Е.В. Пронина

## СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭКСПЕРТИЗЫ, СВЯЗАННЫЕ С ИССЛЕДОВАНИЕМ ГРИБОВ-ДЕСТРУКТОРОВ (ОБЗОР)

**Саганяк Е.А. (ведущий гос. суд. эксперт отдела  
судебно-криминалистических исследований)\***

Крымская лаборатория судебных экспертиз Министерства  
юстиции Российской Федерации, Симферополь,  
Республика Крым, Россия

©Коллектив авторов, 2015

*Приведён краткий анализ судебно-биологических экспертиз, связанных с исследованием грибов-деструкторов. Отмечены основные три направления их исследования. Показаны типичные и наиболее интересные случаи из экспертной практики.*

**Ключевые слова:** грибы-деструкторы, микромицеты, судебно-биологические экспертизы

## FORENSIS BIOLOGICAL EXAMINATIONS RELATED TO RESEARCH FUNGI- DESTRUCTORS (REVIEW)

**Saganyak E.A. (leading state judicial expert of  
department of judicial-criminalistics examinations)**

Crimean Laboratory of Forensic Science of Ministry of Justice  
of Russian Federation, Simferopol, Republic of Crimea, Russia

©Collective of authors, 2015

*The brief analysis of forensic biological examinations related to the study of fungi-destructors has been brought. Basic three directions of their research are marked. Typical and most interesting cases over from expert practice are shown.*

**Key words:** forensic biological examination examinations, fungi destructors, micromycetes

Проведение судебно-биологических экспертиз нередко связано с исследованием грибов-деструкторов. В классической биологии грибы (*Fungi*) ещё в середине прошлого века были выделены в отдельное самостоятельное царство, наравне с царствами растений (*Plants*) и животных (*Animals*), однако до настоящего времени исследования грибов проводят в рамках экспертиз по изучению объектов растительного происхождения, в основном, по трём направлениям.

Первое направление – криминалистическое.

В повседневной жизни люди постоянно контактируют с микромицетами. Грибы с фрагментами субстратов, на которых они развиваются, часто оказываются на одежде и, наряду с другими идентифицирующими признаками, могут выступать в качестве установления возможного пребывания человека в определенном месте. Процесс криминалистического исследования состоит из нескольких этапов:

- 1) подготовительного;
- 2) раздельного и сравнительного исследования объектов;

- 3) оценки результатов и формулирования выводов.

На первом этапе выявляют наличие микромицетов как на объектах исследования, так и в представленных для сравнительного исследования образцах, проводят их изъятие вместе с субстратом, если таковой имеется.

На втором этапе выявляют общие и частные признаки на макро- и микроуровнях. В первую очередь, определяют таксономическую принадлежность микромицетов, изъятых с/из объектов изучения и сравнительных образцов. Далее находят индивидуальные признаки и свойства объектов, устанавливая сходства и различия при сравнительных исследованиях. Индивидуализирующими признаками обладают как микромицеты, так и субстраты, на которых они развиваются. В связи с чем анализируют не только грибы, но и субстраты (древесину, волокнистый состав бумаги, картона, ткани, состав штукатурки и т.д.), поражённые грибами-деструкторами, что дает возможность перейти к третьему этапу криминалистического исследования и сделать вывод о тождестве единичного, индивидуально определенного объекта (человека, животного, предмета) с объектом, имеющим отношение к событиям, связанным с расследуемым преступлением, или об его отличии.

Так, например, на обуви подозреваемого и на месте происшествия были обнаружены микрочастицы древесины с выраженной желтой окраской с одной стороны и обильно спороносящими микромицетами в виде бархатистого налета тёмно-бурого цвета с противоположной стороны (фото 1). При микроскопическом исследовании установили, что грибы-деструкторы на представленных фрагментах древесины имеют общую таксономическую принадлежность и относятся к роду *Aletrnaria* spp. (септированный мицелий со спорами характерной булавовидной формы). Микроскопическое строение основных элементов исследуемых фрагментов древесины соответствует листовым породам деревьев рода тополь (*Populus* L.) (Бородонос Т.Г., Рудич Д.С. «Судебно-биологическая экспертиза мелких частиц древесины». – Киев, 1970).

\* Контактное лицо: Саганяк Елена Александровна,  
e-mail: sagan62@mail.ru

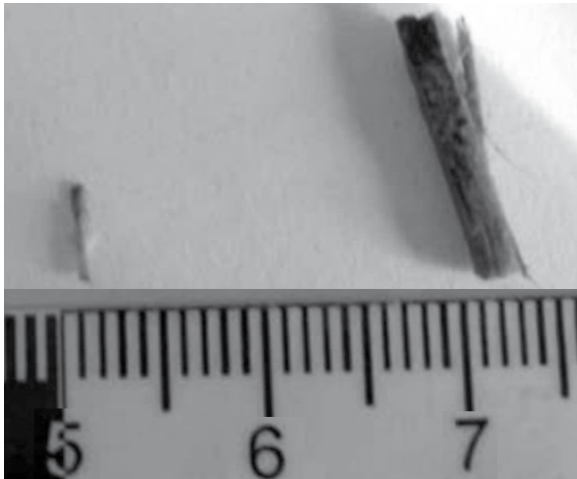


Фото 1. Вид обнаруженных на обуви подозреваемого и на месте происшествия фрагментов древесины с обильным спороношением *Alternaria* spp.

Таксономическая принадлежность микромицетов, фрагментов древесины и желтая окраска в комплексе с другими идентифицирующими признаками были показателями вероятного присутствия субъекта на месте происшествия. В данном случае, помимо других совпадающих признаков, именно обнаружение окрашенной древесины с грибами-деструкторами на обуви подозреваемого и месте происшествия стало решающим моментом в раскрытии преступления.

Второе направление судебно-биологических экспертиз связано с исследованием грибов-деструкторов в производственных и жилых помещениях.

Микромицеты, обладая богатым ферментным аппаратом и высоким уровнем адаптации к условиям окружающей среды, занимают различные экологические ниши. Многие грибы, которые в природе вели сапротрофный образ жизни, приспособились к условиям обитания в складах, жилых и производственных помещениях. Они повреждают книги, картины, полимерные материалы, деревянные и каменные строения, сооружения, памятники культуры и т.п. Грибы, вызывающие биоповреждения, называют, грибами-деструкторами или грибами-биодеструкторами. Биоповреждение – любое нежелательное изменение свойств материала, обусловленное биообъектом; грибы могут быть важными участниками в процессах биоповреждений [1]. Присутствие в помещении грибов-деструкторов может стать причиной заболевания человека с широким спектром патологических проявлений со стороны дыхательного, желудочно-кишечного трактов, глаз и др., объединенных в синдром нездоровых помещений, аллергической реакции у людей [2].

В гражданском судопроизводстве необходимо применение микологических знаний для установления поражения производственных, жилых помещений, сооружений и других объектов грибами-деструкторами, определения их таксономической принадлежности, установления причин их появления, степени поражения исследуемых объектов.

Предлагают следующий алгоритм решения этих вопросов:

1. Осмотр помещения.
2. Определение температуры и влажности.
3. Органолептический анализ (запах, цвет).
4. Визуальное определение степени поражения

(при необходимости – количественное определение степени поражения в лабораторных условиях).

5. Визуальная диагностика биоповреждений грибами-деструкторами.

6. Отбор образцов.

7. Лабораторные исследования (определение таксономической принадлежности и количественное определение степени поражения помещений).

#### **Отбор образцов и методы исследования.**

Пробы отбирают, по возможности, вместе с субстратом (обоями и др. материалами, пораженными грибами), с фиксацией мест отбора, затем помещают во влажную камеру (стерильные чашки Петри, целлофановые пакеты с фильтровальной бумагой, увлажненной стерильной дистиллированной водой) и, в дальнейшем, проводят микроскопические исследования.

Использование компьютерной техники для передачи и обработки изображений совместно с микроскопическими исследованиями облегчает операции по изучению строения грибов, определению размеров спор и других признаков, имеющих диагностическое значение для установления таксономической принадлежности, повышает иллюстративность результатов исследования.

Также экспертизы могут быть выполнены совместно с экспертами-строителями, которые устанавливают причины повреждений сооружений, попадания влаги в помещения.

Пример № 1. В течение 8 суток 3-х комнатная квартира на первом этаже заливалась водой из обрезанных труб отопления квартиры второго этажа во время отсутствия хозяев этих квартир. На момент осмотра обои, отделка стен, потолков, полы, мебель помещений, а также библиотека были не только пропитаны влагой, но и заселены, в большинстве своём, обильно спороносящими грибами-деструкторами *Aletrnaria* spp., чем полностью были приведены в негодность (фото 2, 3).

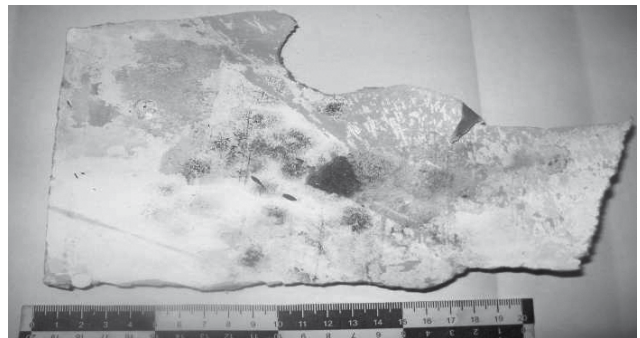


Фото 2. Вид фрагмента отделки стены вместе со штукатуркой в залитой водой квартире





Фото 3. Видимые невооружённым глазом колонии микроскопических грибов с обильным спороношением на обложке докторской диссертации, обнаруженной в залитой водой квартире

Пример № 2. В результате самовольного перекрытия дренажной канавы для организованного стока атмосферных осадков произошло подтопление соседнего дома. Во дворе и подвале стояла вода, наблюдали угнетение и гибель древесных и травянистых растений. С внешней стороны стены дома покрыты мхом. В помещениях – стойкий запах цвели. Нижняя часть стен (примерно на одну треть высоты) заселена спороносящими грибами преимущественно – *Stachybotrys* spp. На мебели, с внешней стороны и внутри, в частности – на полках шкафа, отмечали развитие септированного мицелия грибов без признаков спороношения (фото 4).



Фото 4. Поражение полок шкафа и находящегося в нём белья грибами-деструкторами без признаков спороношения

Пример № 3. В результате недостатков конструкции (выводы эксперта-строителя) в квартиру элитного дома на последнем этаже постоянно попадала атмосферная влага, что способствовало развитию грибов-деструкторов. В гостиной комнате, потолок (особенно – в местах стыка со стенами), внутренняя поверхность наружной стены с окном и дверью на балкон, оконные и дверные откосы практически полностью покрыты грибами-деструкторами с обильным спороношением тёмно-бурого цвета рода *Alternaria* spp. (фото 5).



Фото 5. Вид потолка, поражённого грибами-деструкторами с обильным спороношением, в элитном доме

Пример № 4. В результате поднятия грунтовых вод и протекания крыши помещения пятиэтажного дома полностью (4 подъезда и все квартиры в нём) поражены грибами-деструкторами. Несмотря на то, что во многих квартирах был произведён капитальный ремонт, стены квартир и подъездов после ремонта были заселены грибами-деструкторами.

Особенностью Крымского региона является преобладание тёмноокрашенных грибов, таких как *Alternaria* spp. и *Stachybotrys* sp. (фото 6-8), что облегчает их обнаружение и исследование.

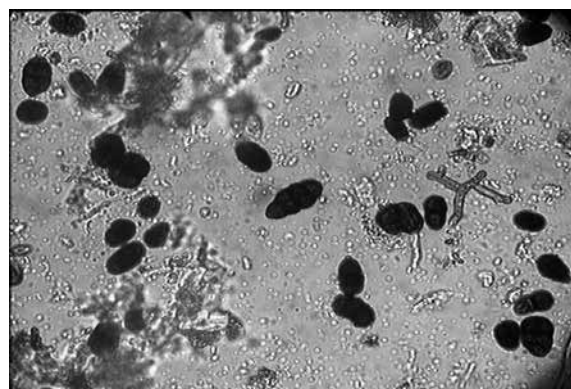


Фото 6. Споры *Alternaria* spp., обнаруженные на фрагментах древесины, у подозреваемого на обуви и на месте происшества



Фото 7. Микроскопические грибы (*Stachybotrys* sp.) в стадии спороношения

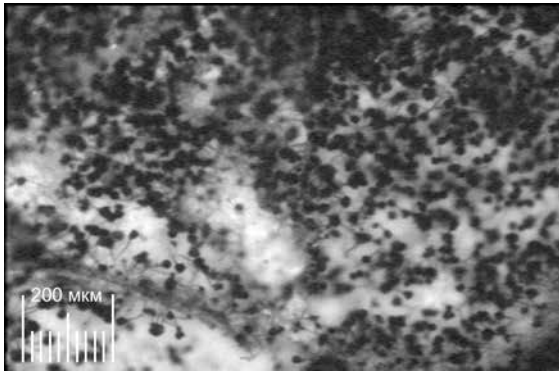


Фото 8. Микроскопические грибы (*Stachybotris* sp.) в стадии спороношения

Для определения степени биоповреждения используют следующую градацию (качественные показатели). Степень поражения грибами-деструкторами исследуемых помещений, конструкций или материалов устанавливают с использованием качественных показателей, а именно:

- поражение отсутствует – 0;
- поражение незначительное/слабое – 0,1 или 10%;
- поражение значительное – 0,25-0,5 или 25-50%;
- поражение очень сильное – 0,5-0,9 или 50-90%;
- полное поражение – 0,9-1 или 90-100%.

Качественную оценку степени поражения поверхностей помещений проводят при осмотре квартиры. Количественную оценку определения спор грибов-деструкторов, приходящихся на единицу площади помещения, осуществляют в лабораторных условиях по разработанному методу [3]. С помощью количественной оценки можно иметь не только более точное представление о степени поражения помещений, но и получить сопоставимые результаты при исследовании

различных помещений. Данные обрабатываются автоматически (фото 9).

Третье направление экспертных исследований, связано с порчей вещей грибами-деструкторами. Чаще всего для изучения представляют кожаные изделия, повреждённые микромицетами в результате неправильных условий хранения (нахождение в условиях повышенной влажности или наличия капельно-жидкой влаги).

Устанавливают причины повреждений (разрушения) различных вещей и предметов, а именно, являются ли повреждения результатом механического воздействия или – поражения их микроорганизмами, в том числе – грибами-деструкторами. Для определения причины повреждения подобных объектов необходимо учитывать также условия, в которых они находились. Потеря эластичности, жёсткость и ломкость бахтармянной (внутренней поверхности кожи) стороны меховых, кожаных пластин, ослабление связи корней волос с их сумками являются показателем раздубливания кожи, что часто происходит при контакте с влагой. Вымывание дубильных веществ делает изделие из кожи доступным для микроорганизмов и активного их развития. Затхлый запах, наличие пятен зеленоватого, жёлтого и розового цветов означают поражение кожаных и меховых изделий грибами-деструкторами. Часто исследуют не сами грибы, а следы вероятного их присутствия, так как нередко вещи поступают на экспертизу после химчистки.

В данной статье приведены три основных направления судебно-биологических экспертиз, связанных с исследованием грибов-деструкторов, однако данный перечень не является исчерпывающим и не отражает все направления проводимых судебных экспертиз, где применяют микологические исследования.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П. Краткий микологический справочник (для врачей и биологов). – СПб., 2004. – С. 101.
2. Васильева Н.В., Елинов Н.П. Микроорганизмы – контаминанты и патогены – индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей (учебное пособие). – СПб.: КОСТА, 2009. – 224 с.
3. Саганяк Е.А. Нестерук А.Г. (Саганяк О.О. Нестерук А.Г.). Патент на корисну модель № 32139 «Спосіб визначення ступеню ураження приміщень мікрокопічними грибами» //Зареєстровано в державному реєстрі патентів України на корисні моделі 12 травня. – 2008 р.

Поступила в редакцию журнала 21.09.2015

Рецензент: А.А. Чудиновских

Помещение (комната)	Номер поверхности	Длина, м	Ширина (высота), м	Площадь, м <sup>2</sup>	Пораженная площадь, м <sup>2</sup>	Степень поражения грибами	Степень поражения грибами качественная	Степень спороношения	Средняя поверхностная плотность спор, спор/м <sup>2</sup>	Количество спор на поверхностях в помещении, 10 <sup>12</sup> спор (Гспор)	Поверхностная плотность спор в помещении, Гспор/м <sup>2</sup>
1				25	7,5	0,30		0,380000	0,000775	0,005814	0,000233
2											
3	1А	4	2,5	10	4,5	0,45	0,30	0,50			
4	2А	6	2,5	15	3	0,20	0,40	0,20			
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											

Фото 9. Вид электронной таблицы расчета степени поражения помещений или отдельно взятой поверхности грибами-деструкторами по разработанной нами методике (после занесения данных в таблицу расчёт производится автоматически)

## ИЗАВУКОНАЗОЛ – НОВЫЙ ПРОТИВОГРИБКОВЫЙ ПРЕПАРАТ КЛАССА ТРИАЗОЛОВ

Веселов А.В. (зам. директора)\*

НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Смоленск, Россия

©Веселов А.В., 2015

*В связи с возрастанием частоты инвазивных микозов, вызванных дрожжевыми и мицелиальными микромицетами, необходимо совершенствование применяемых для лечения противогрибковых препаратов, среди которых триазолы занимают одну из ключевых позиций. Из-за проблем, связанных с вторичной резистентностью, переносимостью, лекарственными взаимодействиями, а также доступностью отдельных лекарственных форм триазолов, становится актуальным вопрос разработки новых антимикотиков из данной группы. Изавуконазол является новым представителем второго поколения триазолов с высокой активностью *in vitro* в отношении большого числа клинически значимых грибковых патогенов, хорошим параметрами фармакокинетики и профилем безопасности. Изавуконазол доступен для внутривенного и *per os* введений. В настоящее время, после завершения клинических исследований, он одобрен для применения в США и странах Европы для терапии инвазивного аспергиллеза и мукокоза. В данной статье представлена краткая характеристика изавуконазола.*

**Ключевые слова:** антимикотики, аспергиллез, изавуконазол, изавуконазоний, мукокоза, триазолы

## ISAVUCONAZOLE – THE NEW TRIAZOLE ANTIFUNGAL PREPARATION

Veselov A.V. (deputy director)

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

© Veselov A.V., 2015

*The rising incidences of invasive fungal infections caused by both yeast and filamentous micromycetes, making it necessary for the improvement of the applied therapy of antifungal drugs. Among them triazoles occupies a key position. Problems associated with secondary resistance, tolerability, drug-drug interactions, as well as availability of certain formulations of triazoles make it necessary to develop new antifungals in this group. Isavuconazole is a new member of the second generation triazoles class with high *in vitro* activity against a large number of clinically important fungal pathogens, good pharmacokinetic parameters and safety profile. Isavuconazole available in the intravenous as well as oral form, and now after a number of clinical trials approved for use in the US and Europe for the treatment of invasive aspergillosis, and mucormycosis. A brief description of an isavuconazole is presented in this article.*

**Key words:** antimycotics, aspergillosis, isavuconazole, isavuconazinium, mucormycosis, triazoles

## ВВЕДЕНИЕ

В связи с широкой распространенностью инвазивных грибковых инфекций (ИГИ), а также исключительно высокими показателями смертности, особенно – при инфекциях, вызванных мицелиальными патогенами, плохо поддающимися лечению, необходима разработка новых антимикотиков с адекватными показателями активности *in vitro*, включая штаммы, устойчивые к существующим препаратам, хорошим профилем фармакокинетики (ФК) и приемлемой переносимостью. Это продиктовано не только ростом частоты инфекций, вызванных *Candida* spp. и *Aspergillus* spp., но и таких, ранее редко встречавшихся патогенов, как *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp., *Scedosporium* spp. и *Mucor* spp., в отношении которых мы имеем очень ограниченный выбор лекарственных средств [1, 2].

К доступным в настоящее время лекарственным препаратам для лечения ИГИ относят полиены, триазолы и эхинокандины. Несмотря на широкий спектр активности, ограничивающими факторами применения полиенов (амфотерицин В и его липидные формы) являются плохая переносимость (инфузионные реакции и нефротоксичность) и отсутствие пероральных форм препаратов. Эхинокандины (анидулафунгин, каспофунгин, микафунгин), невзирая на высокую активность в отношении *Candida* spp. и хорошую переносимость, недостаточно активны против подавляющей части мицелиальных грибов, а также отсутствуют лекарственные формы для перорального применения. Группа триазолов на сегодняшний момент включает четыре широко используемых для терапии и профилактики препарата – флуконазол, итраконазол, вориконазол и позаконазол. Флуконазол обладает хорошим профилем ФК и переносимостью, для которого, однако, характерны отсутствие активности в отношении мицелиальных грибов и сравнительно высокая частота вторичной резистентности среди *Candida* spp. Имеются определенные проблемы с итраконазолом – первым азолом с активностью против *Aspergillus* spp., связанные с его безопасностью, вариабельной ФК и высоким риском лекарственных взаимодействий, что также характерно для триазолов второго поколения – вориконазола и позаконазола, несмотря на их высокую активность в отношении широкого спектра патогенов, включая штаммы, устойчивые к ранним азолам [3-5].

Изавуконазол – новый представитель триазолов второго поколения и единственный новый зарегистрированный антимикотик для системного применения за последние почти 10 лет. Обладая высокой активностью *in vitro* в отношении большого числа клинически значимых грибковых патогенов, хорошими параметрами ФК и профилем безопасности, изавуконазол доступен как в форме для внутривенного (в/в) введения, так и для приема внутрь, и в настоящее время одобрен для применения в США и странах Европы для лечения инвазивных аспергиллеза и мукокоза [6].

### Фармакология

Изавуконазоний сульфат представляет собой водорастворимую пролекарственную форму изавуконазола и состоит из триазоловой соли соединенной с аминокарбоксил (N-(3-ацетоксипропил)-N-метиламинокарбоксиметил) за счет эфирного фрагмента. Является водорастворимым соединением. После попадания в организм быстро и почти полностью

\* Контактное лицо: Веселов Александр Валерьевич, тел.: (4812) 45 06 02

(≈99%) подвергается ферментативной активации с последующей спонтанной химической деградацией и высвобождением активного препарата изавуконазола и неактивного соединения VAL8728. Механизм действия изавуконазола не имеет принципиальных отличий от других триазолов и связан с воздействием на ключевой фермент синтеза эргостерола – ланостерол-14-α-деметилазу. Взаимодействие боковой цепи молекулы препарата с участками связывания фермента отвечает за особенности активности изавуконазола в отношении штаммов, устойчивых к другим антимикотикам [7, 8].

#### Активность *in vitro*

**Дрожжи.** Активность изавуконазола в отношении *Candida* spp., в целом, сравнима с таковой вориконазола и позаконазола и может быть расценена как высокая. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) для 90% штаммов (МПК<sub>90</sub>) в отношении более чем 3000 изолятов *Candida*, собранных в 2011-12 гг. в рамках глобального проекта по мониторингу антимикробной резистентности SENTRY, составила <1 мкг/мл в отношении всех видов, за исключением *C. glabrata*. Для большинства протестированных штаммов показатели МПК<sub>90</sub> были <0,12 мкг/мл, однако для *C. krusei* и *C. guilliermondii* они составили 1 мкг/мл, а для *C. glabrata* – 2 мкг/мл. В отношении штаммов *C. glabrata*, устойчивых к флуконазолу и/или вориконазолу, показатели МПК изавуконазола варьировали от 1 до >8 мкг/мл, что, скорее всего, служит показателем отсутствия различий в активности в отношении азол-резистентных штаммов *C. glabrata* и возможном риске перекрестной резистентности [9, 10].

Изавуконазол был активен *in vitro* в отношении *Cryptococcus neoformans* и *C. gattii* со значениями МПК<sub>90</sub> от 0,008 до 0,25 мкг/мл с более низкими показателями активности изавуконазола (0,06-0,5 мкг/мл) в отношении устойчивых к флуконазолу штаммов (МПК флуконазола – 16-64 мкг/мл). Низкие значения МПК<sub>90</sub> были получены для *Trichosporon* spp. (0,125-0,5 мкг/мл), *Geotrichum capitatum* (0,03-0,5 мкг/мл), *Saccharomyces cerevisiae* (0,25-0,5 мкг/мл), *Rhodotorula* spp. (0,03-2 мкг/мл) [11, 12].

**Мицелиальные грибы.** Изавуконазол обладает высокой фунгицидной активностью в отношении *Aspergillus* spp., включая *A. fumigatus*, *A. flavus* и также штаммы, устойчивые к итраконазолу, амфотерицину В и эхинокандинам. Показатели МПК<sub>90</sub> для указанных видов составили 1 мкг/мл. Несколько более высокие значения МПК<sub>90</sub> отмечали для *A. niger* (2-4 мкг/мл). Несмотря на то, что изавуконазол может сохранять свою активность в отношении штаммов *A. fumigatus*, резистентных к амфотерицину В и итраконазолу, опубликованы данные, в которых показан возможный риск перекрестной резистентности с другими азолами, активными в отношении *Aspergillus* spp. У данных штаммов наблюдали появление приобретенных мутаций гена *сур51* [13, 14].

Изавуконазол активен в отношении *Paecilomyces lilacinus* и *Scedosporium apiospermum*, но, как и большинство других антимикотиков, не активен против *Scedosporium prolificans*, а также ограниченно активен против *Fusarium* spp. В отношении относительно редко встречающихся мицелиальных грибов, таких как *Biplaris* spp., *Alternaria* spp., *Curvularia* spp. и *Exophiala*

spp. показатели МПК варьируют от 0,25 до 16 мкг/мл. Для большинства представителей *Dematiaceous* значения МПК<sub>90</sub> находятся в пределах 1-4 мкг/мл; диапазон МПК для *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp. и *Microsporium* spp. – в пределах от 0,003 до 0,049 мкг/мл [15-18].

Важной с практической точки зрения является активность изавуконазола в отношении возбудителей мукорозов. По результатам исследования активности *in vitro* в отношении 72 штаммов *Mucor* spp., изавуконазол показал достаточную активность, за исключением одного вида – *Mucor circinelloides*. Показатели МПК<sub>50</sub> (диапазон) изавуконазола в отношении всех протестированных штаммов варьировали от 0,125 до >16, в зависимости от применяемой методики определения чувствительности. Наибольшую активность отмечали для *Lichtheimia corymbifera*, *Lichtheimia ramosa*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus microsporus* и *Rhizopus oryzae*. Результаты соответствуют данным, полученным при тестировании позаконазола [19, 20].

**Диморфные грибы.** По данным уже имеющихся результатов исследований, препарат проявляет умеренную активность против *Histoplasma capsulatum* (МПК 0,125-2 мкг/мл), *Coccidioides* spp. (МПК 0,125-1 мкг/мл) и *Blastomyces dermatitidis* (МПК 0,5-4 мкг/мл). Изавуконазол имеет высокие показатели МПК в отношении штаммов *Sporothrix schenckii* – 12,5-25 мкг/мл, что соответствует таковым, полученным для вориконазола [16].

**Азол-резистентные штаммы.** Есть несколько сообщений о выделении штаммов *Candida* со сниженной чувствительностью к изавуконазолу. Несмотря на то, что изавуконазол не является субстратом для двух основных эффлюксных (*efflux* – истечение) систем MDR1 и FLU1, обуславливающих резистентность *Candida* к флуконазолу и вориконазолу, на активность изавуконазола оказывают влияние мутации гена ERG11. При одном исследовании были получены штаммы *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. guilliermondii* с перекрестной резистентностью при МПК ≥8 мкг/мл, в том числе – штамм *C. tropicalis* с перекрестной устойчивостью к изавуконазолу, флуконазолу и вориконазолу, что, скорее всего, служит показателем механизма резистентности, связанного с CDR-кодируемыми эффлюксными механизмами, являющимися причиной наиболее высокого процента изолятов с перекрестной резистентностью к азолам среди *C. glabrata* [21-24].

Появление штаммов *Aspergillus* spp., в частности *A. fumigatus*, к азолам становится все более актуальной проблемой в ряде стран, при этом, как правило, речь идет о перекрестной резистентности внутри класса. Это касается и изавуконазола, показатели МПК которого имели тенденцию к возрастанию при исследовании активности в отношении азол-резистентных штаммов *Aspergillus*. При тестировании азолов в отношении штаммов «дикого типа» и азол-резистентных клинических штаммов *A. fumigatus*, имеющих мутации *сур51А*, были получены низкие значения МПК для штаммов «дикого типа» (0,5-2 мкг/мл) и переменные показатели МПК в зависимости от типа мутации (G54W – 0,5 мкг/мл, TR34/L98H – 8-16 мкг/мл, TR46/Y121F/T289A – >16 мкг/мл) для клинических изолятов [25, 26].

#### Фармакокинетика изавуконазола у человека

Одни из ключевых особенностей ФК изавуконазола: его высокая биодоступность ( $\geq 99\%$ ) при приеме внутрь, на которую не оказывает влияния прием пищи и pH в просвете желудка, а также отсутствие в составе в/в формы циклодекстрина, что дает возможность его применять у пациентов с нарушенной функцией почек без коррекции дозы [7, 8, 27]. Изавуконазол связывается с белками плазмы на уровне  $>99\%$ . Для него характерна линейная ФК с пиковыми показателями  $C_{max}$  и ПФК, увеличивающимися пропорционально нарастанию дозы. Максимальные концентрации изавуконазола в плазме отмечали через 1,5-3 часа после приема препарата внутрь или в конце 1-часовой в/в инфузии: 2,56 и 2,55 мг/мл после перорального и в/в введения соответственно. Обладает длительным периодом полувыведения, который при приеме внутрь равен 57-77 часам, а при в/в введении достигает 76-104 часов. Высокие показатели объема распределения (155-292 Л – после приема внутрь и 304-494 Л – после в/в введения) означают его способность создавать высокие тканевые концентрации при относительно низких показателях системного клиренса (1,9-2,8 Л/ч – после приема внутрь и 2,8-5,0 Л/ч – после в/в введения). У здоровых добровольцев плазменные концентрации изавуконазола продолжали оставаться на определяемом уровне в течение 20 дней после последнего приема пероральной дозы или в/в введения препарата; также он накапливается в высоких концентрациях в ткани легкого, стекловидном теле, низкие концентрации – в моче и спинномозговой жидкости (высокие концентрации в веществе головного мозга). В моче наблюдали не более 0,4% от введенной в/в дозы и около 0,04% – от дозы принятой *per os* с максимальными концентрациями в моче на уровне 0,89 мкг/мл после введения 200 мг. В связи с этим изавуконазол не аккумулируется у пациентов с любой степенью почечной недостаточности, а высокий процент связывания с белками препятствует его выведению при гемодиализе [7, 8, 28]. При исследованиях на животных выявили, что изавуконазол выводится с грудным молоком в концентрациях, в 17 раз превышающих таковые в плазме. Показатели  $C_{max}$  и ПФК изавуконазола аналогичны среди пациентов разного возраста, включая старше 65 лет, и не зависят от пола. Изавуконазол в однократной дозе (100 мг в/в или внутрь) исследовали у пациентов со среднетяжелым или тяжелым поражением печени (средний балл Child-Pugh 5,4). Несмотря на отсутствие изменений в превращении пролекарства в активную форму, системный клиренс изавуконазола был снижен в значимой степени, что привело к возрастанию примерно в 2 раза показателей  $C_{max}$  и ПФК, на основании чего было предложено снижение терапевтической дозы изавуконазола на 50% у данной популяции пациентов. При печеночной недостаточности тяжелой степени применение изавуконазола противопоказано [29, 30].

**Лекарственные взаимодействия.** При исследованиях *in vitro* установили, что изавуконазол, как и другие триазолы, является субстратом для цитохрома P450 (CYP) 3A4/5, ингибитором CYP3A4, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, Р-гликопротеина (Р-gp), транспортеров органических катионов человека (OCT2), а также слабым индуктором ферментов CYP3A4/5, CYP2B6, CYP2C8 и CYP2C9. В свою очередь, при изучении *in vivo* выявили, что изавуконазол является слабым или

умеренным ингибитором CYP3A4, слабым индуктором CYP2B6 и слабым ингибитором Р-gp, ВРСР, OCT1/OCT2, а также белков экстрюзии лекарственных препаратов и токсинов (multidrug and toxin extrusion 1 - MATE1). Изавуконазол оказывает слабое не прямое ингибирующее действие на субстраты уридин дифосфат-глюкуронозилтрансферазы. Не ингибирует и не индуцирует CYP1A2, CYP2C9 или CYP2C19, но является ингибитором CYP2A6 или CYP2D6. В инструкции по применению изавуконазола указано, что совместное применение с сильными индукторами (рифампин) или ингибиторами CYP3A (лопинавир или ритонавир) противопоказано. При совместном использовании изавуконазола и препаратов, являющихся субстратами Р-gp и имеющих узкое терапевтическое окно (дабигатран, дигоксин, колхицин), может потребоваться коррекция доз. Рекомендуют мониторировать концентрации дигоксина, а также наблюдать за потенциальными токсическими проявлениями микофеноловой кислоты при совместном применении изавуконазола и микофенолата мофетила. Не требуется коррекция доз варфарина, метадона, метформина, репаглинида, омепразола, метотрексата, метадона, преднизона, мидазолама, аторвастатина, пероральных контрацептивов (содержащих этинил эстрадиол и норэтиндрон) при совместном использовании с изавуконазолом. При комбинации с изавуконазолом системное воздействие бупропиона снижается на 42%. Следует соблюдать осторожность при совместном применении изавуконазола с субстратами CYP2B6, имеющими узкое терапевтическое окно (эфавиренц, циклофосфамид). По результатам использования изавуконазола вместе с ингибитором протоновой помпы эзомепразолом предположили, что подавляющие секрецию препараты (в том числе – антациды), не будут оказывать значимого влияния на ФК изавуконазола [30, 31].

#### **Клиническая эффективность изавуконазола**

К настоящему времени завершили проведение 3 ключевых клинических исследований изавуконазола – SECURE, VITAL и ACTIVE.

**Исследование SECURE** было многоцентровым, двойным слепым, рандомизированным, при котором оценивали соответствие критерию non-inferiority (как минимум не хуже) терапии первой линии изавуконазолом в сравнении с вориконазолом у пациентов с ИГИ, вызванной *Aspergillus* spp. или другими мицелиальными патогенами. В исследование включали взрослых ( $\geq 18$  лет) пациентов с предполагаемой, вероятной или подтвержденной ИГИ на основании критериев EORTC/MSG [32]. Основной конечной точкой был показатель смертности по всем причинам на протяжении исследования до дня 42 в Intent-to-Treat (ITT)-популяции пациентов. Вторичные конечные точки были представлены совокупным (клинический, микологический и радиологический) ответом на лечение. В исследование было рандомизировано (включено случайным образом) 527 пациентов, из которых 516 получили, как минимум, одну дозу исследуемого препарата (ITT-популяция). Исходные характеристики больных, включая демографические данные, были одинаковыми в обеих группах терапии. Большинство пациентов в обеих группах имели фоновые онкогематологические заболевания (81,6 vs. 86%), нейтропению (63 vs. 68%), были реципиентами аллогенных трансплантатов кро-

ветворных стволовых клеток (ТКСК) (21 vs. 20%). Неконтролируемое фоновое онкогематологическое заболевание как показатель неблагоприятного прогноза отмечали у 67,1% и 72,5% в группе лиц, получавших изавуконазол и вориконазол соответственно. Вероятная / подтвержденная ИГИ была у 55% (143/258) и 51% (129/259) пациентов, применявших изавуконазол и вориконазола соответственно, при этом в подавляющем большинстве случаев (>90%) в патологический процесс были вовлечены легкие. Больных лечили изавуконазолом в дозе 200 мг в/в три раза в сутки в первые 2 дня, затем – 200 мг в/в или внутрь; общая продолжительность терапии – 84 дня. В группе лиц, леченных вориконазолом, препарат применяли в дозе 6 мг/кг в/в два раза в сутки в первый день, затем – 4 мг/кг в/в два раза в сутки во 2 день; затем пациентов переводили на прием вориконазола внутрь в дозе 200 мг два раза в сутки. Ключевыми точками для оценки эффективности были дни 42 и 84 [33, 34].

Смертность по всем причинам на протяжении исследования до 42 дня (основная конечная точка) составила 18,6% в группе лиц, получавших изавуконазол, и 20,2% – вориконазол, с верхней границей 95% доверительного интервала ниже предопределенного критерия non-inferiority равного 10%, что было показателем соответствия данному критерию и сохранялось после корректировки применительно к географическому региону, статусу аллогенной ТКСК и неконтролируемого фонового злокачественного заболевания. Смертность по всем причинам на день 84 также соответствовала результату в отношении основной конечной точки с отсутствием различий между группами. В показателях вторичной конечной точки, представленной совокупным ответом (сочетание клинического, микологического и радиологического ответы) на лечение к окончанию его периода, значимых различий не отмечали: 35% – в группе лиц, принимавших изавуконазол, и 36% – вориконазол. В подгруппе (n=433) пациентов с онкогематологическими заболеваниями смертность по всем причинам была одинаковой (22%) в группах пациентов, получавших изавуконазол и вориконазол [33, 34].

**Исследование VITAL** было открытым, многоцентровым, несравнительным исследованием III фазы, в котором оценивали эффективность и безопасность изавуконазола при терапии вероятных или подтвержденных ИГИ, вызванных мицелиальными патогенами, дрожжами или диморфными грибами у пациентов с предсуществующей почечной недостаточностью. Изавуконазол применяли в дозе 200 мг в/в или перорально три раза в сутки в 1 и 2 дни (нагрузочная доза), далее – в/в или внутрь 200 мг один раз в сутки с общей продолжительностью терапии до 180 дней. В исследование включили 149 больных, из которых у 37 был поставлен диагноз вероятной или подтвержденного мукороза (пациенты, не получавшие до этого противогрибкового лечения, и пациенты с неэффективностью или плохой переносимостью предшествующей терапии). Основной конечной точкой была совокупная эффективность на основании оценки клинического, микологического и радиологического ответов. Среди указанных 37 больных с грибковой инфекцией, вызванной *Mucor* spp., изавуконазол использовали в качестве лечения первой линии у 21 человека, а у 16 – в

качестве «терапии спасения» (неэффективность или непереносимость начальной терапии). Острый миелобластный лейкоз был наиболее частым фоновым заболеванием (n=10), при этом у большинства пациентов (60%) в процесс были вовлечены легкие. По результатам культурального исследования 14 выделенных возбудителей были представлены *Rhizopus* spp., однако большая часть патогенов осталась неидентифицированной. Совокупный ответ (сочетание клинического, микологического и радиологического ответов) в конце периода лечения отмечали у 11 (31%) из 35 доступных для оценки больных. Полный и частичный ответ зарегистрировали у 5 из 6 человек соответственно, а стабилизация течения заболевания (расценивали как неэффективность) была достигнута у 10. Выживаемость на 42 день и 84 день была 62% (n=23) и 43% (n=21) соответственно. Выживаемость к 12 неделям у пациентов с неэффективностью предшествующей противогрибковой терапии составила 55% (6/11) [35]. Эффективность изавуконазола в отношении инфекций, вызванных *Mucor* spp., также показана в ряде отдельных сообщений о применении препарата в качестве «терапии спасения» [36, 37].

В исследовании VITAL также была подгруппа из 29 пациентов, получавших терапию в отношении вероятных или подтвержденных инфекций, вызванных диморфными грибами: *Paracoccidioides* spp. (n=10), *Coccidioides* spp. (n=9), *Histoplasma* spp. (n=7) и *Blastomyces* spp. (n=3). Совокупный ответ к концу периода лечения на основании клинического, микологического и радиологического ответов был достигнут у 18 лиц (64%), при этом полный ответ был получен у 5 (18%), а частичный – у 13 (46%) [38].

**Исследование ACTIVE** было многоцентровым, двойным слепым, рандомизированным исследованием III фазы, при котором сравнивали терапию изавуконазолом и каспофунгином у 440 пациентов (ITT-популяция) с кандидемией и другими инвазивными *Candida*-инфекциями. Основной конечной точкой в исследовании был совокупный (клинический и микологический) ответ на лечение изавуконазолом, в сравнении с каспофунгином, в конце периода в/в терапии. После десятого дня исследования пациенты могли быть переведены на пероральное лечение (в группе каспофунгина применяли вориконазол). Ключевой вторичной конечной точкой была оценка совокупного ответа на терапию во время первого визита в периоде последующего наблюдения (2 недели после окончания лечения) [39]. По результатам предварительной оценки выявили отсутствие достижения основной конечной точки, а именно – подтверждения того, что изавуконазол, как минимум, не хуже (non-inferior) по эффективности каспофунгина в конце периода в/в терапии, на основании соответствия предопределенному критерию non-inferiority. Совокупный ответ в конце периода в/в лечения в модифицированной ITT-популяции пациентов (n=400) составил 60,3% для изавуконазола и 71,1% – для каспофунгина при скорректированном терапевтическом различии – 10,8% (95% ДИ; -19,9%, -1,8%). Нижняя граница 95% доверительного интервала для терапевтического различия между группами превысила предопределенное пограничное значение критерия non-inferiority равное 15%. Ключевая вторичная конечная точка – совокупный ответ на

лечение через 2 недели после его завершения составило 54,8% в группе лиц, принимавших изавуконазол, и 57,2% – каспофунгин/вориконазол при скорректированном терапевтическом различии равном -2,7% (95% ДИ; -12,2%, 6,8%). Другая вторичная конечная точка, представленная показателями смертности по всем причинам, была сравнима между группами на 14 и 56 день исследования [40].

В клиническом исследовании II фазы проводили сравнение эффективности и безопасности трех пероральных режимов дозирования изавуконазола с лечением флуконазолом в качестве препаратов первой линии у пациентов с неосложненным кандидозом пищевода. Режимы дозирования изавуконазола включали: 200 мг в первый день, затем – 50 мг один раз в сутки (группа А), 400 мг в первый день; затем – 400 мг один раз в неделю (группа В) и 400 мг в первый день; затем – 100 мг один раз в сутки (группа С). В группе D больные получали флуконазол в дозе 200 мг в первый день, затем – 100 мг один раз в сутки. Минимальная продолжительность терапии – 14 дней. Основной конечной точкой была частота эндоскопически подтвержденного клинического ответа к концу периода лечения. Эффективность была оценена у 153 из 160 включенных в исследование пациентов. У 146 (95,4%) пациентов была достигнута клиническая эффективность по данным эндоскопического исследования, при этом каждая из групп лиц, получавших изавуконазол, была, как минимум, не хуже (non-inferior) принимавших флуконазол [41].

#### **Безопасность и переносимость изавуконазола**

По результатам проведенных клинических исследований, а также на основании отдельных сообщений, профиль безопасности и переносимости изавуконазола расценивают как благоприятный. Наибольшее число нежелательных явлений (НЯ) имело место со стороны желудочно-кишечного тракта, включая тошноту, рвоту, диарею, но которые очень редко приводили к отмене препарата. Возрастание показателей активности печеночных ферментов, включая АЛТ, АСТ и щелочную фосфатазу, по частоте не превышало значения для других триазолов. На фоне лечения изавуконазолом наблюдали случаи острой печеночной недостаточности, однако точная взаимосвязь с применением исследуемого препарата не определена. У некоторых пациентов отмечали инфузионные реакции, включающие респираторные симптомы, одышку, ознобы, гипотензию. Вероятно, данные проявления были связаны исключительно с составом в/в формы препарата, что, в частности, стало причиной внесения в инструкцию по применению изавуконазола указания на необходимость его введения через встроенный фильтр с диаметром пор 0,2-1,2 мкм [8, 42].

В исследовании SECURE изавуконазол показал лучшую переносимость в сравнении с вориконазолом. Частота возникновения НЯ на фоне терапии, начиная с первого введения препарата и до 28 дней после его отмены, была статистически значимо ниже в группе лиц, получавших изавуконазол, в сравнении с пациентами, принимавшими вориконазол: 42,4 vs. 60% ( $p < 0,05$ ), равно как и число случаев отмены лечения в связи с НЯ: 14,4 vs. 22,8% ( $p = 0,05$ ). Различия были обусловлены меньшим числом событий со стороны следующих органов и систем: гепатобилиарная (8,9 vs. 16,2%,

$p = 0,016$ ), кожа (33,5 vs. 42,5%,  $p = 0,037$ ) и орган зрения (15,2 vs. 26,6%,  $p = 0,002$ ). Серьезные НЯ имели место у 52% пациентов, получавших изавуконазол, и у 57,5% – вориконазол [33].

В исследовании VITAL НЯ на фоне терапии и НЯ, связанные с применением исследуемого препарата, выявили у 35 (94,6%) и 13 (35%) больных соответственно. Наиболее частым нежелательным явлением на фоне лечения была рвота ( $n = 12$ ; 32,4%), затем – диарея, тошнота и лихорадка, каждое из которых отмечали у 10 пациентов (27%). Серьезные НЯ, связанные с терапией исследуемым препаратом, имели место у 3 пациентов (8%): 1 – реакция трансплантат против хозяина, вирусный энтерит, эзофагит и аспирационная пневмония; 2 – острая печеночная недостаточность; 3 – цитомегаловирусный энтерит [35].

В исследовании II фазы у здоровых добровольцев, получавших нарастающие дозы изавуконазола (100-400 мг внутрь или 50-200 мг в/в), установили небольшое число НЯ, включающих головную боль, ринит, назофарингит, диарею, тошноту и боль в верхней части живота [7].

В исследовании Viljoen J. и соавт. [41] у 91 (57,2%) пациента наблюдали, как минимум, одно НЯ на фоне лечения. Частота НЯ была одинаковой в группе А ( $n = 22$ ; 55%), группе В ( $n = 18$ ; 45%) и группе D ( $n = 22$ ; 58%), но была выше в группе С ( $n = 29$ ; 71%). Наиболее частые НЯ на фоне терапии: гриппоподобный синдром (6,3%), инфекция мочевыводящих путей (5,0%), гематурия (4,4%) и туберкулез легких (4,4%) [41].

В недавно проведенном открытом исследовании изучали фармакокинетику и безопасность возрастающих в/в доз изавуконазола у пациентов ( $n = 24$ ) с острым миелобластным лейкозом, которым проводили химиотерапию и имела место или ожидалась нейтропения. Пациенты в когорте с низкой дозой ( $n = 11$ ) получали нагрузочные дозы в первый день (400/200/200 мг с интервалом 6 часов) и второй день (200/200 мг с интервалом 12 часов), с последующей поддерживающей дозой 200 мг один раз в сутки с 3 по 28 дни. Нагрузочные и поддерживающие дозы были в 2 раза выше в когорте с высокой дозой изавуконазола ( $n = 12$ ). НЯ у 5 пациентов в когорте с низкой дозой и 8 пациентов в когорте с высокой дозой расценивали как связанные с исследуемым препаратом, большинство из которых – головная боль и сыпь (по 3 в каждой когорте) [43].

К настоящему времени не обнаружили данных о способности изавуконазола приводить к удлинению интервала QT, однако есть информация о случаях уменьшения продолжительности этого интервала на фоне лечения изавуконазолом по результатам двух исследований, в одном из которых это отмечали у 0,4% пациентов. Клиническая значимость данного феномена на настоящий момент неизвестна, однако в инструкцию по применению изавуконазола внесена информация о противопоказании для его применения у лиц, имеющих наследственный синдром короткого интервала QT, и о необходимости соблюдать осторожность при применении изавуконазола вместе с препаратами, способными приводить к укорочению QT [30, 42].

#### **Дозировки и процедура введения изавуконазола**

По данным, полученным на основании популяционных фармакокинетических моделей, м предполо-

жить, что рекомендуемая клиническая доза изавуконазола у взрослых пациентов – 200 мг в/в или перорально 3 раза в сутки в 1 и 2 дни, затем – 200 мг в/в или перорально 3 раза в сутки, будет достаточной для поддержания активности в отношении штаммов с диапазоном МПК от 0,06 до 4 мкг/мл [44].

В/в форму изавуконазола необходимо вводить капельно через встроенный фильтр с размером пор от 0,2 до 1,2 мкм в течение 1 часа для снижения риска инфузионных реакций. В настоящее время, учитывая низкую вариабельность (коэффициент вариабельности <20%) сывороточных уровней изавуконазола и недостаточный объем данных о корреляции плазменных

концентраций и эффективности/безопасности изавуконазола, нет однозначных указаний для рутинного применения терапевтического лекарственного мониторинга [42].

#### Доступность препарата на рынке

На момент написания статьи изавуконазол под торговым наименованием Cresoemba® (Astellas Pharma в сотрудничестве с Basilea Pharmaceuticals) зарегистрирован для применения в США [45] и странах Евросоюза [46] для лечения ИГИ, вызванных *Aspergillus* spp. и *Mucor* spp. В РФ в настоящее время препарат не зарегистрирован и о возможных сроках его появления на российском рынке пока неизвестно.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alcazar-Fuoli L., Mellado E. Current status of antifungal resistance and its impact on clinical practice// Br. J. Haematol. – 2014. – Vol. 166, №4. – P. 471-84.
2. Roemer T., Krysan D.J. Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches// Cold Spring Harb. Perspect. Med. – 2014. – Vol. 4, №5. pii: a019703.
3. Dodds Ashley E., Lewis R., Lewis J.S., et al. Pharmacology of Systemic Antifungal Agents// Clin. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 43. – P. S28-39.
4. Allen D., Wilson D., Drew R., Perfect J. Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management// Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2015. – Vol. 13, №6. – P. 787-98.
5. Lepak A.J., Andes D.R. Antifungal pharmacokinetics and pharmacodynamics// Cold Spring Harb. Perspect. Med. – 2014. – Vol. 5, №5: a019653.
6. Available from www.astellas.com.
7. Schmitt-Hoffmann A., Roos B., Maares J., et al. Multiple-dose pharmacokinetics and safety of the new antifungal triazole BAL4815 after intravenous infusion and oral administration of its prodrug, BAL8557, in healthy volunteers// Antimicrob. Agents Chemother. – 2006. – Vol. 50, №1. – P. 286-93.
8. Schmitt-Hoffmann A., Roos B., Heep M., et al. Single-ascending-dose pharmacokinetics and safety of the novel broad-spectrum antifungal triazole BAL4815 after intravenous infusions (50, 100, and 200 milligrams) and oral administrations (100, 200, and 400 milligrams) of its prodrug, BAL8557, in healthy volunteers// Antimicrob. Agents Chemother. – 2006. – Vol. 50, №1. – P. 279-85.
9. Thompson G.R., 3rd, Wiederhold N.P. Isavuconazole: a comprehensive review of spectrum of activity of a new triazole// Mycopathologia. – 2010. – Vol. 170. – P. 291-313.
10. Pfaller M.A., Messer S.A., Rhomberg P.R., et al. In vitro activities of isavuconazole and comparator antifungal agents tested against a global collection of opportunistic yeasts and molds// J. Clin. Microbiol. – 2013. – Vol. 51, №8. – P. 2608-16.
11. Thompson G.R., 3rd, Wiederhold N.P., Sutton D.A., et al. In vitro activity of isavuconazole against *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* and *Pichia* species// J. Antimicrob. Chemother. – 2009. – Vol. 64. – P. 79-83.
12. Guinea J., Recio S., Escrivano P., et al. In vitro antifungal activities of isavuconazole and comparators against rare yeast pathogens// Antimicrob. Agents Chemother. – 2010. – Vol. 54. – P. 4012-5.
13. Warn P.A., Sharp A., Denning D.W. In vitro activity of a new triazole BAL4815, the active component of BAL8557 (the water-soluble prodrug), against *Aspergillus* spp.// J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – Vol. 57. – P. 135-8.
14. Espinel-Ingroff A., Chowdhary A., Gonzalez G.M., et al. Multicenter study of isavuconazole MIC distributions and epidemiological cutoff values for *Aspergillus* spp. for the CLSI M38-A2 broth microdilution method // Antimicrob. Agents Chemother. – 2013. – Vol. 57, №8. – P. 3823-8.
15. Guinea J., Pelaez T., Recio S., et al. In vitro antifungal activities of isavuconazole (BAL4815), voriconazole, and fluconazole against 1,007 isolates of zygomycetes, *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Scedosporium* species// Antimicrob. Agents Chemother. – 2008. – Vol. 52. – P. 1396-400.
16. Gonzalez G.M. In vitro activities of isavuconazole against opportunistic filamentous and dimorphic fungi// Med. Mycol. – 2009. – Vol. 47. – P. 71-6.
17. Badali H., De Hoog G.S., Curfs-Breuker I., et al. In vitro activities of eight antifungal drugs against 70 clinical and environmental isolates of *Alternaria* species// J. Antimicrob. Chemother. 2009. – Vol. 63:1295-7.
18. Najafzadeh M.J., Saradeghi Keisari M., Vicente V.A., et al. In vitro activities of eight antifungal drugs against 106 waterborne and cutaneous *Exophiala* species// Antimicrob. Agents Chemother. – 2013. – Vol. 57. – P. 6395-8.
19. Verweij P.E., González G.M., Wiederhold N.P., et al. In vitro antifungal activity of isavuconazole against 345 mucorales isolates collected at study centers in eight countries// J. Chemother. – 2009. – Vol. 21, №3. –P. 272-81.
20. Arendrup M.C., Jensen R., Meletiadis J. In vitro activity of isavuconazole and comparators against clinical isolates of the *Mucorales* order// Antimicrob. Agents Chemother. – 2015. – Vol. 59, №10. Epub ahead of print.
21. Sanglard D., Ischer F., Calabrese D., et al. The ATP binding cassette transporter gene CgCDR1 from *Candida glabrata* is involved in the resistance of clinical isolates to azole antifungal agents// Antimicrob. Agents Chemother. – 1999. – Vol. 43, №11. – P. 2753-65.
22. Sanglard D., Ischer F., Coste A., Rerrari S. Comparison between isavuconazole (ISA) and other azoles against characterized clinical isolates and yeast model systems [P-2176]. In: 18th European congress of clinical microbiology and infectious diseases (ECCMID). – Barcelona, 2008.
23. Sanguinetti M., Posteraro B., Fiori B., et al. Mechanisms of azole resistance in clinical isolates of *Candida glabrata* collected during a hospital survey of antifungal resistance// Antimicrob. Agents Chemother. – 2005. – Vol. 49, №2. – P. 668-79.



24. Pfaller M., Rhomberg P., Messer S., et al. Isavuconazole, micafungin and eight comparator antifungal agents susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: Temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values// *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 82, №4. – P. 303-13.
25. Verweij P.E., Mellado E., Melchers W.J. Multiple-triazole-resistant aspergillosis// *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 356, №14. – P. 1481-3.
26. Seyedmousavi S., Rijs A.J., Melchers W.J., et al. In vitro activity of isavuconazole compared with itraconazole, voriconazole, and posaconazole in azole-resistant *Aspergillus fumigatus* [M-1377]. In: 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). – Denver, 2013.
27. Cornely O.A., Bohme A., Reichert D., et al. Pharmacokinetics, safety and tolerability results from a dose escalation study of isavuconazole in neutropenic patients [M-2137]. In: 48th annual international interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy (ICAAC). American Society for Microbiology. – Washington, 2008.
28. Advisory Committee Briefing Document. Isavuconazonium: invasive aspergillosis and invasive mucormycosis. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Anti-InfectiveDrugsAdvisoryCommittee/UCM430748.pdf>.
29. Schmitt-Hoffmann A., Roos B., Spickermann J., et al. Effect of mild and moderate liver disease on the pharmacokinetics of isavuconazole after intravenous and oral administration of a single dose of the prodrug BAL8557// *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2009. – Vol. 53. – P. 4885-90.
30. FDA briefing document: Anti-infective Drugs Advisory Committee Meeting January 22, 2015. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Anti-InfectiveDrugsAdvisoryCommittee/UCM430747.pdf>.
31. Saad A.H., DePestel D.D., Carver P.L. Factors influencing the magnitude and clinical significance of drug interactions between azole antifungals and select immunosuppressants// *Pharmacotherapy.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1730-44.
32. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group// *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 46, №12. – P. 1813-21.
33. Maertens J., Patterson T., Rahav G., et al. A Phase 3, randomised, double-blind trial evaluating isavuconazole vs voriconazole for the primary treatment of invasive fungal disease caused by *Aspergillus* spp. or other filamentous fungi (SECURE). Presented at: 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – Barcelona, Spain, 2014.
34. Kontoyannis D., Giladi M., Lee M., et al. A Phase 3, randomized, double-blind, non-inferiority trial to evaluate efficacy and safety of isavuconazole versus voriconazole in patients with invasive mold disease (SECURE): outcomes in invasive aspergillosis patients. Presented at: ID Week. – PA, USA, 2014.
35. Marty F.M., Perfect J.R., Cornely O.A., et al. An open-label Phase 3 study of isavuconazole (VITAL): focus on mucormycosis. Presented at: ID Week ASM. – PA, USA, 2014 (Abstract no. 824).
36. Peixoto D., Gagne L.S., Hammond S.P., et al. Isavuconazole treatment of a patient with disseminated mucormycosis// *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, №3. – P. 1016-9.
37. Ervens J., Ghannoum M., Graf B., Schwartz S. Successful isavuconazole salvage therapy in a patient with invasive mucormycosis// *Infection.* – 2014. – Vol. 42, №2. – P. 429-32.
38. Thompson G., Rendon A., Santos R., et al. Outcomes in patients with invasive fungal disease caused by dimorphic fungi treated with isavuconazole: experience from the VITAL trial. Presented at: 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) ASM. – Washington, DC, USA, 2014 (Abstract no. M-1775).
39. Astellas Pharma Inc. Isavuconazole (BAL8557) in the treatment of candidemia and other invasive candida infections. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00413218?term=NCT00444366&rank=1>.
40. Available from: <http://www.astellas.com/en/corporate/news/detail/astellas-provides-update-on-ph.html>.
41. Viljoen J., Azie N., Schmitt-Hoffmann A.H., Ghannoum M. A phase 2, randomized, double-blind, multicenter trial to evaluate the safety and efficacy of three dosing regimens of isavuconazole compared with fluconazole in patients with uncomplicated esophageal candidiasis// *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, №3. – P. 1671-9.
42. Инструкция по применению препарата Cresemba®. Available from: <http://www.astellas.us/docs/cresemba.pdf>.
43. Cornely O.A., Böhm A., Schmitt-Hoffmann A., Ullmann A.J. Safety and pharmacokinetics of isavuconazole as antifungal prophylaxis in acute myeloid leukemia patients with neutropenia: results of a phase 2, dose escalation study// *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, №4. – P. 2078-85.
44. Desai A., Kovanda L., Kowalski D., et al. Isavuconazole population pharmacokinetic modeling from phase 1 and phase 3 clinical trials and target attainment analysis. – Washington, DC: ICAAC; 2014 (Abstract 697).
45. Astellas Receives FDA Approval for CRESEMBA® (isavuconazonium sulfate) for the Treatment of Invasive Aspergillosis and Invasive Mucormycosis. Available from: <http://newsroom.astellas.us/2015-03-06-Astellas-Receives-FDA-Approval-for-CRESEMBA-isavuconazonium-sulfate-for-the-Treatment-of-Invasive-Aspergillosis-and-Invasive-Mucormycosis>.
46. Basilea announces that European Commission approves isavuconazole (CRESEMBA®) as a treatment for invasive aspergillosis and mucormycosis in the European Union. Available from: <http://hugin.info/134390/R/1959420/714149.pdf>.

Поступила в редакцию журнала 16.11.2015

Рецензент: М.А. Шевяков



# АЛЛЕРГИЧЕСКИЙ БРОНХОЛЕГОЧНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ. КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

<sup>1</sup>Козлова Я.И. (доцент кафедры), <sup>1</sup>Климко Н.Н. (зав. кафедрой), <sup>1</sup>Соболев А.В. (профессор кафедры), <sup>1</sup>Борзова Ю.В. (главный врач), <sup>1</sup>Богомолова Т.С. (зав. лаб.), <sup>1</sup>Аак О.В. (в.н.с.), <sup>1</sup>Игнатьева С.М. (зав. лаб.), <sup>1</sup>Бурьгина Е.В. (врач), <sup>2</sup>Степаненко Т.С. (зав. отд.), <sup>2</sup>Филиппова Т.А. (врач), <sup>3</sup>Орлов А.В. (зав. отд.)

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии;

<sup>2</sup>Многопрофильная больница №2; <sup>3</sup>Детская городская больница Святой Ольги, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2015

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) – обусловленное гиперчувствительностью к *Aspergillus spp.* заболевание легких, которое осложняет течение бронхиальной астмы и муковисцидоза. Частота АБЛА среди пациентов с муковисцидозом составляет 2-15%, а сенсибилизации к *Aspergillus spp.* – 27-41%. В связи с неспецифичностью клинических признаков выявление АБЛА при муковисцидозе затруднено. Публикации о распространенности АБЛА у больных муковисцидозом в РФ немногочисленны.

При обследовании 44 больных муковисцидозом в возрасте от 1 до 37 лет в Северо-Западном регионе частота микогенной сенсибилизации составила 66%. Основными грибковыми аллергенами были: *Candida spp.* (48%), *Aspergillus spp.* (25%) и *Alternaria spp.* (25%). Развитие АБЛА отмечали у двух (5%) пациентов. В одном случае (2%) установлен диагноз «аспергиллема легкого». Больным муковисцидозом показано проведение скринингового обследования для выявления и лечения микозов органов дыхания.

**Ключевые слова:** аллергический бронхолегочный аспергиллез, *Aspergillus spp.*, муковисцидоз

## ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS IN NORTH-WESTERN DISTRICT. CLINICAL CASES AND REVIEW OF LITERATURE

<sup>1</sup>Kozlova Y.I. (associate professor of the chair), <sup>1</sup>Klimko N.N. (head of the chair), <sup>1</sup>Borzova Y.V. (head physician), <sup>1</sup>Bogomolova T.S. (head of the laboratory), <sup>1</sup>Aak O.V. (senior scientific collaborator), <sup>1</sup>Ignateva S.M. (head of the laboratory), <sup>1</sup>Burygina E.V. (physician), <sup>2</sup>Stepanenko T.S. (head of the department), <sup>2</sup>Filippova T.A. (physician), <sup>3</sup>Orlov A.V. (head of the department)

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Chair of Clinical Mycology, Allergology and Immunology;

\* Контактное лицо: Козлова Яна Игоревна, тел.: (812) 303-51-46

<sup>2</sup>Multiprofile hospital №2; <sup>3</sup>St. Olga Children's City Hospital, St. Petersburg, Russia

©Collective of authors, 2015

Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) is a lung disease caused by hypersensitivity to *Aspergillus spp.*, which complicates asthma and cystic fibrosis (CF). The frequency of sensitization to *Aspergillus spp.* in patients with CF is 27-41% and in ABPA – 2-15%. Identification of ABPA in CF patients is difficult due to the similarity of clinical features.

We observed 44 patients with CF from 1 to 37 years old in the North-Western district. Frequency of fungal sensitization in CF patients was 66%. Sensitization to *Candida spp.* was 48%, to *Aspergillus spp.* – 25% and *Alternaria spp.* – 25%. ABPA was diagnosed in two patients (5%). In one case developed aspergilloma of the lung. To all patients with CF is need screening for detection and adequate treatment of respiratory mycoses.

**Key words:** allergic bronchopulmonary aspergillosis, *Aspergillus spp.*, cystic fibrosis

## ВВЕДЕНИЕ

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) – обусловленное гиперчувствительностью к *Aspergillus spp.* заболевание легких, которое осложняет течение бронхиальной астмы и муковисцидоза [1-3]. Развитие АБЛА утяжеляет течение фоновой патологии и способствует прогрессированию дыхательной недостаточности. По оценкам экспертов, количество больных АБЛА в мире составляет около четырех миллионов человек, а в Российской Федерации – 175 тысяч [4, 5].

Аллергический бронхолегочный аспергиллез является дальнейшей стадией прогрессирования сенсибилизации к *Aspergillus fumigatus*. Микогенную сенсибилизацию многие исследователи рассматривают как первый патогенетический этап в развитии АБЛА [4, 6]. Частота микогенной сенсибилизации у больных муковисцидозом в Северо-Западном регионе не изучена, оценку распространенности АБЛА у данной категории больных не проводили.

**Цель** данной работы – определение частоты микогенной сенсибилизации и аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных муковисцидозом в Северо-Западном регионе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовали 44 больных муковисцидозом в возрасте от 1 до 37 лет (медиана – 13 лет); мужчин – 21, женщин – 23. Всем пациентам проводили аллергологическое обследование, состоящее из определения уровня общего IgE (иммуноферментный анализ, «Полигност» Россия) и специфических IgE к грибковым аллергенам в сыворотке крови. Уровни IgE, специфических к 6 грибковым аллергенам, устанавливали иммуноферментным анализом с применением панели биотинилированных аллергенов (*Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus nigricans*, *Candida albicans*) производства «Алкор Био» (Санкт-Петербург).

Кожное тестирование выполняли у 15 пациентов. Использовали прик-тесты с шестью грибковыми аллергенами: *A. fumigatus*, *A. alternata*, *P. notatum*, *C. herbarum*, *R. nigricans*, *C. albicans* («Allergopharma» Германия). Всем больным определяли уровень IgG к *A. fumigatus* (иммуноферментный анализ). Также осуществляли микроскопию и посев респираторных субстратов (бронхоальвеолярного лаважа, мокроты). При подозрении на АБЛА выполняли компьютерную томографию органов грудной клетки.

Для выявления микогенной сенсibilизации использовали критерий, предложенный международными экспертами ISHAM [6]: положительный кожный прик-тест ( $\geq 3$  мм) и/или выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу I и выше ( $\geq 0,35$  Ед/мл). Диагноз АБЛА устанавливали на основании критериев Stevens et al (2003 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 44 обследованных больных с муковисцидозом у 36 (82%) обнаружили смешанную форму муковисцидоза, у 34 (77%) лиц, по результатам компьютерной томографии (КТ) легких, наблюдали распространенные бронхоэктазы.

По данным различных исследователей, частота АБЛА у больных муковисцидозом варьирует от 2 до 25% [1, 2]. Основными возбудителями считают *A. fumigatus* [1-4, 6]. Также описаны случаи АБЛА, вызванные *A. terreus* (Oshima 1997; Yano S. 1999) и *A. niger* (Shah A. 2004). Отмечают взаимосвязь между повышенной концентрацией спор микромицетов в воздухе и обострениями АБЛА [7].

АБЛА является результатом комбинированной аллергической реакции I, III и IV типов в ответ на колонизацию дыхательных путей *Aspergillus* spp. В основе патогенеза АБЛА лежит запуск реактивного, иммунокомплексного и клеточно-опосредованного механизмов аллергических реакций в ответ на неинвазивный рост *Aspergillus* в бронхах [6, 8].

Иммунный ответ на антигены *Aspergillus* у пациентов с АБЛА, как и у больных бронхиальной астмой или муковисцидозом, опосредован Th2CD4+ [6]. Одним из важных вопросов являются критерии отличия АБЛА от сенсibilизации к *Aspergillus* у больных, которые входят в группы риска. Ряд авторов предлагают гипотезу о генетической предрасположенности к развитию гиперчувствительности немедленного типа к антигенам *Aspergillus* spp. [9-14]. У таких пациентов АБЛА развивается вследствие возрастания частоты и/или активности *A. fumigatus*-специфических Th2CD4+ клеток. Chauhan B. и соавторы в 1997 году выявили взаимосвязь АБЛА с сублокусами HLA-DR2 и HLA-DR5.

Ключевым моментом иммунопатогенеза может быть воздействие большого количества аллергенов аспергилл на бронхоальвеолярную лимфоидную ткань (БАЛТ). Это, возможно, связано с аномальными свойствами слизи. У больных муковисцидозом в связи с мутациями гена, регулирующего трансмембранную регуляцию (CFTR), развивается множество полостей, кист, образуется большое количество вязкой мокроты и, как следствие, нарушается мукоцилиарный клиренс. Все это служит предрасполагающими факторами для колонизации дыхательных путей грибами рода *Aspergillus* и развития АБЛА. Протеазы *A. fumigatus* облегчают транспорт аллергенов через слой эпителиальных клеток, повреждая целостность эпителия и прямо взаимодействуя с поверхностными рецепторами эпителиальных клеток.

Колонизация слизистых оболочек дыхательных путей грибковыми спорами может быть компенсирована за счет эффективного функционирования клеток врожденной системы иммунитета. При низкой грибковой нагрузке элиминацию *Aspergillus* spp., в основ-

ном, осуществляют макрофаги и нейтрофилы [15]. В ряде случаев механизмов врожденного иммунитета оказывается недостаточно и запускается адаптивный иммунный ответ [16]. Антиген-презентирующие клетки с поверхностными маркерами HLA-DR2 или -DR5 перерабатывают грибковые аллергены и презентуют их Т-клеткам бронхоальвеолярной лимфоидной ткани (БАЛТ). Т-клеточный ответ на аллергены аспергилл сдвигается в сторону Th2CD4+-ответа, что приводит к выработке провоспалительных цитокинов IL-4, IL-5 и IL-13 и развитию воспалительного процесса [6, 8].

Для классической клинической картины АБЛА характерно наличие транзиторных или персистирующих инфильтратов в легких, болей в грудной клетке, бронхоэктазов, формирование легочного фиброза и дыхательной недостаточности. Заболевание обычно протекает хронически, с периодическими обострениями бронхообструктивного синдрома и/или эозинофильной пневмонии [1, 2, 6, 8]. При обострении АБЛА у пациентов наблюдают лихорадку, свистящие хрипы, кровохарканье и продуктивный кашель с мокротой, содержащей коричневатого-черные слизистые пробки [17, 18].

В 1984 году Laufer и соавторы установили, что наилучшими скрининговыми тестами для диагностики АБЛА при муковисцидозе являются кожное тестирование с антигеном и определение уровней общего IgE и специфических IgG антител. В 1996 году Hutcherson и соавт. опубликовали результаты исследования 118 больных с муковисцидозом, которое проводили в течение 12 лет. Положительные кожные тесты с *A. fumigatus* выявили у 42%, преципитирующие антитела – у 42%, IgE антитела к *A. fumigatus* – у 54%, уровень общего IgE превышал 500 МЕ/мл у 23% обследованных лиц. В настоящее время кожное тестирование и определение уровня IgE и преципитирующих антител к *A. fumigatus* остаются лучшими скрининговыми тестами для выявления АБЛА [6].

Диагностика АБЛА при муковисцидозе сложна и нередко может быть поздней, поскольку многие диагностические критерии пересекаются с типичными проявлениями муковисцидоза. В отличие от бронхиальной астмы, легочные инфильтраты, бронхоэктазы являются обычными проявлениями поражения легких у пациентов с муковисцидозом с или без АБЛА вследствие рецидивирующей или хронической бактериальной инфекции. Атопия, как и возникновение в ранних периодах жизни пациентов с муковисцидозом разнообразных иммунных ответов на антигены *A. fumigatus*, осложняет интерпретацию различных серологических показателей для диагностики АБЛА [19]. Ранняя диагностика и лечение, направленные на подавление воспалительного процесса, являются важными факторами предотвращения необратимого повреждения легочной ткани [6]. В 2003 году были предложены критерии диагностики АБЛА у больных муковисцидозом, которые эксперты-микологи используют до настоящего времени [20].

Уровень общего IgE считают важным критерием диагностики АБЛА при муковисцидозе [20] и при бронхиальной астме [6]. Но, следует учитывать, что этот показатель зависит от возраста. Предложены различные пороговые значения. В качестве диагностического критерия Stevens и соавт. (2003) рекомендуют ис-

пользовать уровень общего IgE более 500 МЕ/мл (1000 нг/мл). В нашей работе уровень общего IgE составил от 1 до 3250 МЕ/мл, у 5 (11%) пациентов он превышал 500 МЕ/мл.

Данные о частоте микогенной сенсибилизации у больных муковисцидозом варьируют в широких пределах. По результатам различных исследований, 27-41% больных муковисцидозом имеют сенсибилизацию к *Aspergillus* spp. [1, 2]. Сложность оценки состоит в том, что иммунологические параметры меняются со временем, уровни показателей могут уменьшаться, и эти изменения могут происходить независимо от проводимого лечения. Однако в большинстве исследований показано, что лечение кортикостероидами или азолами ассоциировано с тенденцией к снижению уровня общего IgE и уменьшению признаков сенсибилизации к *A. fumigatus*. В исследовании Капранова Н.И. (1999 г.) участвовали 112 детей с муковисцидозом. Установили повышение уровня общего IgE у 40% пациентов, IgG к *A. fumigatus* обнаружили у 36%, IgE к *A. fumigatus* – у 18%, АБЛА выявили у 5,4%. В результате обследования 52 детей с муковисцидозом в Санкт-Петербурге (Старовойтова Э.В., 2000) отмечали высокий риск развития пневмомикозов у данной категории больных. Определена высокая частота сенсибилизации к *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., установлена корреляция со степенью тяжести муковисцидоза. Микогенную сенсибилизацию выявили у всех больных с тяжелым течением муковисцидоза, у 75% – со среднетяжелым и у 25% – с легким.

По данным нашего исследования, микогенную сенсибилизацию по положительным результатам кожных прик-тестов и/или обнаружению специфических IgE к грибковым аллергенам в сыворотке крови отмечали у 29 больных (66%), наиболее часто – к *Candida* spp. (48%), к *Aspergillus* spp. (25%) и *Alternaria* spp. (25%). Частота сенсибилизации к другим микромицетам составила: *Rhizopus* spp. – 20%, *Penicillium* spp. – 13%, *Cladosporium* spp. – 8%.

Сывороточные преципитины (IgG) против *A. fumigatus* выявляют у 69-90% пациентов с АБЛА [18]. Это чувствительный диагностический маркер как при муковисцидозе, так и при бронхиальной астме [6, 20]. Тем не менее, обнаружение IgG к *Aspergillus* spp. не является специфичным только для АБЛА, так как их высокий уровень наблюдают и при других формах аспергиллеза, особенно – при хроническом аспергиллезе легких. Высокие титры этих антител при АБЛА с наличием фиброза плевры и персистирующих полостей могут быть показателем развития хронического аспергиллеза легких [21]. Кроме того, уровень данных антител колеблется с течением времени. В группе обследованных нами больных IgG к *A. fumigatus* отмечали у 10 (23%).

Увеличение частоты и тяжести бактериальных инфекций легких у пациентов с муковисцидозом, как правило, приводит к частому использованию антибиотиков, что способствует пролиферации дрожжевых микромицетов. У 50% пациентов при микроскопии респираторных субстратов выявили почкующиеся дрожжевые клетки, псевдомицелий. При культуральном исследовании у 62% больных получен рост *S. albicans* более 1000 КОЕ/мл. Колонизация слизистых оболочек дрожжевыми микромицетами способствовала

увеличению уровня специфических IgE к *Candida* в сыворотке крови. Вероятно, это стало причиной высокой частоты микогенной сенсибилизации, которую установили в группе пациентов с муковисцидозом.

Рост *A. fumigatus*, полученный при исследовании респираторных биосубстратов, рассматривают в качестве чувствительного диагностического маркера АБЛА, в то время как другие исследователи учитывают его только в качестве вспомогательного критерия [6]. В связи с широким распространением плесневых микромицетов в природе рост *Aspergillus* spp. наблюдают и при других заболеваниях легких. В работах Chakrabarti A., Sethi S. (2002) рост культуры получили в 39-60% случаев АБЛА в зависимости от количества исследованных образцов. Так как зарегистрирована возможная резистентность *A. fumigatus* к азолам [22], выделение культуры грибов и определение чувствительности к антимикотикам может быть ценным перед началом противогрибковой терапии [23]. При культуральном исследовании мокроты и бронхоальвеолярного лаважа у больных муковисцидозом Северо-Западного региона рост *A. fumigatus* выявили у 9 (20%), *A. niger* – у 2 (5%).

В научной литературе не существует единой схемы постановки диагноза АБЛА при муковисцидозе. Многие исследователи, как и мы в данной работе, используют критерии Stevens et al (2003 г). Оценка распространенности заболевания в крупномасштабных эпидемиологических исследованиях зависит от того, проводят ли центры муковисцидоза систематический скрининг пациентов на наличие АБЛА и имеют ли для этого соответствующее клиничко-лабораторное оборудование. В исследовании 14 210 пациентов с муковисцидозом старше 4 лет (1993-1996 г.г.), АБЛА отмечали у 281 (2%). В Европейском эпидемиологическом регистре были собраны данные о 12447 больных с муковисцидозом из 224 центров муковисцидоза 9 европейских стран (2000 г). Средняя распространенность АБЛА составила 7,8% с минимальным показателем (2%) в Швеции и максимальным (14%) – в Бельгии. Учитывая результаты ранее проведенных и современных исследований, распространенность АБЛА в мире среди больных муковисцидозом варьирует от 2 до 25% [1, 2]. По данным регистра больных муковисцидозом в Российской Федерации, в 2013 г. частота АБЛА составила 1,6% [24]. По данным нашего регистра больных Северо-Западного региона, АБЛА выявлен у двух человек (5%), у одной пациентки (2%) установлена аспергиллема S1 левого легкого. Больным с муковисцидозом, осложненным АБЛА, проведены курсы специфической антимикотической терапии.

Лечение, как и диагностика АБЛА у больных муковисцидозом, сопровождается определенными трудностями. В качестве базовой противовоспалительной терапии используют системные глюкокортикостероиды, а для уменьшения грибковой нагрузки в дыхательных путях – антимикотические препараты [25]. Глюкокортикостероиды обладают побочными эффектами, которые имеют особое значение у пациентов с муковисцидозом и так предрасположенным к развитию диабета, остеопении, а также инфекций. Кроме того, у лиц с муковисцидозом, получающих кортикостероиды до достижения полового зрелости, может возникнуть задержка роста. Антимикотическая терапия подавляет колонизацию бронхиального дерева плесневыми микромицетами,

уменьшает воспалительный ответ, ослабляет симптомы заболевания. Своевременная диагностика АБЛА, а также мониторинг пациентов с микогенной сенсibilизацией является важной задачей современной микологии. Выявление групп риска развития микотического поражения легких среди больных муковисцидозом поможет предупредить прогрессирование заболевания и начать рациональную противовоспалительную и антимикотическую терапию.

## ВЫВОДЫ

1. В Северо-Западном регионе частота микогенной

сенсibilизации у больных муковисцидозом составила 66%.

2. Наибольшая частота микогенной сенсibilизации выявлена к дрожжевым микромицетам *Candida* spp. – 48%. Из плесневых микромицетов основными грибовыми аллергенами были *Aspergillus* spp. – 25% и *Alternaria* spp. – 25%.

3. Развитие АБЛА отмечали 5% пациентов с муковисцидозом. В одном случае был установлен диагноз «аспергиллема легкого».

4. Больным муковисцидозом показано проведение скринингового обследования для своевременного выявления и лечения микозов органов дыхания.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Agarwal R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis// Chest. – 2009. – Vol. 135. – P. 805-826.
2. Moss R.B. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus* infection in cystic fibrosis// Curr. Opin. Pulm. Med. – 2010. – Vol. 16. – P. 598-603.
3. Hogan C., Denning D.W. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and related allergic syndromes// Semin. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – Vol. 32. – P. 682-692.
4. Denning D.W., Pleuvry A., Cole D.C. Global burden of allergic bronchopulmonary aspergillosis with asthma and its complication chronic pulmonary aspergillosis in adults// Med. Mycol. – 2013. – Vol. 51. – P. 361-70.
5. Климко Н.Н., Козлова Я.И., Хостелиди С.Н. и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program// Проблемы медицинской микологии. – 2014. – №1. – С. 3-9.
6. Agarwal R., Chakrabarti A., Shah A., et al. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria// Clin. & Experim. Allergy. – 2013. – Vol. 43. – P. 850-873.
7. Taniguchi H., Abo H., Miyazawa H., et al. A case of allergic bronchopulmonary aspergillosis triggered by moving house// Nihon Kogyaku Gakkai Zasshi. – 2005. – Vol. 43, №2. – P. 108-111.
8. Hafen G.M., Hartl D., Regamey N., et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: the hunt for a diagnostic serological marker in cystic fibrosis patients// Expert Rev. of Molec. Diagn. – 2009. – Vol. 9, №2. – P. 157-164.
9. Agarwal R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: lessons learnt from genetics// Indian J. Chest Dis. Allied Sci. – 2011. – Vol. 53. – P. 137-140.
10. Knutsen A.P. Genetic and respiratory tract risk factors for aspergillosis: ABPA and asthma with fungal sensitization// Med. Mycol. – 2006. – Vol. 44. – P. 61-70.
11. Knutsen A.P., Kariuki B., Consolino J.D., Warrior M.R. IL-4 alpha chain receptor (IL-4Ralpha) polymorphisms in allergic bronchopulmonary aspergillosis// Clin. Mol. Allergy. – 2006. – Vol. 4. – P. 3.
12. Agarwal R., Khan A., Agarwal A.N., Gupta D. Link between CFTR mutations and ABPA: a systematic review and meta-analysis// Mycoses. – 2012. – Vol. 55. – P. 357-365.
13. Vicencio A.G., Chupp G.L., Tzirilakis K., et al. CHIT1 mutations: genetic risk factor for severe asthma with fungal sensitization? //Pediatrics. – 2010. – Vol. 126. – P. 982-985.
14. Muro M., Mondejar-Lopez P., Moya-Quiles M.R., et al. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 genes on susceptibility to and protection from allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis// Microbiol. Immunol. – 2013. – Vol. 57. – P. 193-197.
15. Park S.J., Mehrad B. Innate immunity to *Aspergillus* species// Clin. Microbiol. Rev. – 2009. – Vol. 22. – P. 535-51.
16. Denning D.W., Pashley C., Hartl D., et al. Fungal allergy in asthma—state of the art and research needs// Clin. Transl. Allergy. – 2014. – Vol. 4. – P. 14. doi: 10.1186/2045-7022-4-14
17. Agarwal R., Chakrabarti A. Clinical manifestations and natural history of allergic bronchopulmonary aspergillosis// Springer. – 2010. – P. 707-724.
18. Agarwal R., Gupta D., Aggarwal A.N., et al. Clinical significance of hyperattenuating mucoid impaction in allergic bronchopulmonary aspergillosis: an analysis of 155 patients// Chest. – 2007. – Vol. 132. – P. 1183-1190.
19. Kraemer R., Delosea N., Ballinari P., et al. Effect of allergic bronchopulmonary aspergillosis on lung function in children with cystic fibrosis// Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2006. – Vol. 174. – P. 1211-20.
20. Stevens D.A., Moss R.B., Kurup V.P., et al. Participants in the cystic fibrosis foundation consensus C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis—state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference// Clin. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 37. – P. 225-264.
21. Guazzelli L.S., Xavier M.O., Oliveira F.D., Severo L.C. Chronic cavitary pulmonary aspergillosis and fungal balls// Springer. – 2009. – P. 585-620.
22. Denning D.W., Park S., Lass-Flörl C., et al. High-frequency triazole resistance found in nonculturable *Aspergillus fumigatus* from lungs of patients with chronic fungal disease// Clin. Infect. Dis. – 2011. – Vol. 52. – P. 1123-9
23. Klaassen C.H., de Valk H.A., Curfs-Breuker I.M., Meis J.F. Novel mixed-format real-time PCR assay to detect mutations conferring resistance to triazoles in *Aspergillus fumigatus* and prevalence of multi-triazole resistance among clinical isolates in the Netherlands// J. Antimicrob. Chemother. – 2010. – Vol. 65. – P. 901-5.
24. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2013 год. – М.: ИД «Медпрактика-М», 2015. – 64 с.
25. Moss R.B. Critique of trials in allergic bronchopulmonary aspergillosis and fungal allergy// Med. Mycol. – 2006. – Vol. 44. – P. 269-272.

Поступила в редакцию журнала 24.11.2015

Рецензент: В.С. Митрофанов

# ПЕРВЫЙ СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ КАНДИДОЗНОГО ЭНДОКАРДИТА (ВОЗБУДИТЕЛЬ – *CANDIDA PARAPSILOSIS*) У БОЛЬНОЙ КОМБИНИРОВАННЫМ РЕВМАТИЧЕСКИМ МИТРАЛЬНЫМ ПОРОКОМ СЕРДЦА

<sup>1</sup>Пятакова А.В. (клинический ординатор),  
<sup>1</sup>Шагдильева Е.В. (ассистент кафедры)\*, <sup>2</sup>Арутюнян  
А.Л. (сердечно-сосудистый хирург), <sup>2</sup>Грамашиков  
Д.Г. (зав. отделением), <sup>3</sup>Давыденко В.В. (проф.  
кафедры), <sup>1</sup>Рауш Е.Р. (ассистент кафедры),  
<sup>1</sup>Богомолова Т.С. (зав. лаб.), <sup>1</sup>Выборнова И.В. (н.с.),  
<sup>1</sup>Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии и кафедра медицинской микробиологии; <sup>2</sup>Ленинградская областная клиническая больница; <sup>3</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (кафедра госпитальной хирургии), Санкт-Петербург, Россия

©Коллектив авторов, 2015

Представлен первый случай успешного лечения обусловленного *Candida parapsilosis* эндокардита митрального клапана на фоне хронической ревматической болезни сердца. У больной хронической ревматической болезнью сердца развился эндокардит митрального клапана, в связи с чем ей было выполнено протезирование пораженного клапана. При исследовании удаленного митрального клапана установлен возбудитель эндокардита – *Candida parapsilosis*. Хирургическим лечением и адекватной антимикотической терапией (каспофунгин, после стабилизации состояния – флуконазол) смогли добиться выздоровления пациентки.

**Ключевые слова:** инвазивный кандидоз, кандидозный эндокардит, *Candida parapsilosis*, ревматический митральный порок сердца, хроническая ревматическая болезнь сердца

## THE FIRST CASE OF SUCCESSFUL TREATMENT OF CANDIDA ENDOCARDITIS (PATHOGEN - *CANDIDA PARAPSILOSIS*) IN PATIENT WITH COMBINED RHEUMATIC MITRAL VALVE HEART DISEASE

<sup>1</sup>Pyatakova A.V. (clinical physician), <sup>1</sup>Shagdileeva E.V. (assistant of the chair), <sup>2</sup>Arutyunian A.L. (cardiovascular surgeon), <sup>2</sup>Gramatikov D.G. (head of the department), <sup>3</sup>Davydenko V.V. (professor

\* Контактное лицо: Шагдильева Елена Владимировна, тел.: (812)303-51-46

of the chair), <sup>1</sup>Raush E.R. (assistant of the chair),  
<sup>1</sup>Bogomolova T.S. (head of the laboratory),  
<sup>1</sup>Vybornova I.V. (scientific collaborator), <sup>1</sup>Klimko N.N.  
(head of the chair)

<sup>1</sup>North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov: Kashkin Research Institute of Medical Mycology, Chair of clinical mycology, allergology and immunology; <sup>2</sup>Leningrad Regional Clinical Hospital; <sup>3</sup>I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (chair of hospital surgery), St. Petersburg, Russia

©Collective of authors, 2015

The first case of successful treatment of mycotic endocarditis caused by *Candida mitral valve* with chronic rheumatic heart disease has been presented. In a patient with chronic rheumatic heart disease developed the endocarditis of the mitral valve, in connection with which it was carried out the affected valve prosthesis. In the study of remote mitral valve was set a pathogen of endocarditis – *Candida parapsilosis*. Surgical treatment and adequate antimycotic therapy (casposfungin after stabilization - fluconazole) led to recovery.

**Key words:** *Candida* endocarditis, *Candida parapsilosis*, chronic rheumatic heart disease, invasive candidosis, rheumatic mitral heart disease

## ВВЕДЕНИЕ

Инвазивный кандидоз (ИК) – самый частый внутрибольничный инвазивный микоз. Его частота в многопрофильном стационаре в России составляет 0,3 на 1000 госпитализированных лиц, а у больных в ОРИТ почти в 10 раз выше – 2,6 на 1000 [1-3]. ИК, как правило, возникает как внутрибольничная инфекция у пациентов с факторами риска, характеризуется тяжелыми клиническими проявлениями и высокой (10-49%) летальностью.

Кандидозный эндокардит (КЭ) – редко встречающаяся форма инвазивного кандидоза (от 1,3% до 6%) [2, 3]. В результате крупного многоцентрового исследования, проведенного в 26 стационарах 12 городов России, показано, что КЭ составляет 1% от всех случаев ИК [1]. Обычно КЭ развивается у пациентов с протезами клапанов сердца и инъекционных наркоманов [4-14].

Нами представлен первый случай успешного лечения обусловленного *Candida parapsilosis* эндокардита митрального клапана на фоне хронической ревматической болезни сердца.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагноз кандидозного эндокардита ставили на основании использования клинических и лабораторных критериев, предложенных европейской организацией по изучению и лечению рака (EORTC), и группой, исследующей микозы (MSG) в Национальном институте аллергологии и инфекционных заболеваний (NIAID) НИН США [15]. Также авторы провели анализ данных из научной литературы и в базе PubMed (октябрь 2015 г.), ClinicalKey (октябрь 2015 г.) и eLibrary (октябрь 2015 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова: инвазивный кандидоз, кандидозный эндокардит, *Candida parapsilosis*, инвазивный микоз, хроническая ревматическая болезнь сердца, ревматический митральный порок сердца.

### Описание клинического случая.

Больная Р., 60 лет, была госпитализирована 13 января 2015 г. в отделение кардиохирургии Ленинградской областной клинической больницы для плановой операции по протезированию митрального клапана.

Пациентка предъявляла жалобы на сердцебиение, одышку при умеренной физической нагрузке, быструю утомляемость.

При объективном осмотре – состояние стабильное. Сознание ясное. Кожные покровы бледно-розовые, сухие. Лимфатические узлы не увеличены. Дыхание самостоятельное. Над областью легких дыхание жесткое, проводится во все отделы, хрипов нет, частота дыхательных движений (ЧДД) – 16-17 в мин. При аускультации сердца: первый тон усилен, выслушивается «митральный щелчок» и диастолический шум на верхушке. Артериальное давление (АД) – 110/70 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений (ЧСС) – 75 в мин., ритм правильный. Живот при пальпации мягкий, перистальтические шумы отсутствуют. Печень и селезенка не увеличены. Периферических отеков нет. Температура тела – 36,8 °С. Физиологические отправления в норме.

Анамнез заболевания: считает себя больной с детства, когда был установлен диагноз ревматической болезни сердца. В 2001 г. был выявлен митральный порок сердца. Жалобы на сердцебиение и одышку появились за год до операции, за последние три месяца отмечает резкое снижение толерантности к физическим нагрузкам.

Развились осложнения основного заболевания: хроническая сердечная недостаточность II ф.к.; легочная гипертензия (ЛГ) I ст.; трепетание предсердий; тромб ушка левого предсердия (ЛП).

Из сопутствующих заболеваний: дегенеративно-дистрофическое заболевание позвоночника; остеохондроз шейного отдела позвоночника; кордарон-индуцированный субклинический гипотиреоз.

При поступлении в клиническом анализе крови патологии не выявили (л. –  $7,98 \cdot 10^9$ /л, нейтр. –  $4,33 \cdot 10^9$ /л, эр. –  $4,51 \cdot 10^9$ /л, э. –  $0,10 \cdot 10^9$ /л, б. –  $0,1 \cdot 10^9$ /л, лимф. –  $2,96 \cdot 10^9$ /л, мон. –  $0,58 \cdot 10^9$ /л, тр. –  $286 \cdot 10^9$ /л, Нб. – 124 г/л, СОЭ – 30 мм/час). В биохимическом анализе крови: повышение уровня липопротеидов высокой плотности – 1,71 ммоль/л, холестерина – 6,08 ммоль/л, снижение уровня холестерина липопротеидов очень низкой плотности – 0,34 ммоль/л, нормальные показатели аланин-аминотрансфераза (АлАТ) – 24,29 Ед/л и аспарат-аминотрансфераза (АсАТ) – 18,65 Ед/л. Уровень электролитов крови – в пределах нормы.

По результатам коронарографии от 15.01.15 г.: тип коронарного кровоснабжения – сбалансированный. Коронарные артерии (КА) крупные, без диффузных изменений, без формирования гемодинамически значимых стенозов. Кровоток по КА замедлен. Межсистемные и внутрисистемные коллатерали не выявлены. На рентгенографии органов грудной клетки: легочные поля без очаговых и инфильтративных теней, в полном объеме. Легочный рисунок усилен за счет интестинального компонента. Корни легких фиброзно уплотнены. Тень сердца умеренно расширена влево. Аорта уплотнена.

При обследовании противопоказаний для протезирования митрального клапана не установили, и 19.01.15 г. в условиях экстракорпорального кровообращения и тепловой кровяной кардиopleгии пациентке была проведена операция по протезированию митрального клапана. Нативный митральный клапан был исследован. При гистологическом изучении био-

птата митрального клапана в ткани отмечали поля бесклеточного фиброза, гиалиноз, участки васкуляризации с фиброзированием стенок сосудов. При посеве биоптата митрального клапана получен рост *S. parapsilosis*. Выделенная культура была идентифицирована в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина как *S. parapsilosis*, чувствительный к флуконазолу и вориконазолу.

Установлен диагноз «кандидозный эндокардит, обусловленный *S. parapsilosis*». В первые сутки после постановки диагноза удален центральный венозный катетер (ЦВК). Антимикотическая терапия была назначена в первые 24 часа после постановки диагноза. Согласно российским национальным рекомендациям препаратом выбора стал каспофунгин – 70 мг в 1-е сутки, далее – 50 мг/сут.[16]. Кроме того, пациентка получала сопутствующее лечение антибиотиками,  $\beta$ -блокаторами, гастропротекторами, антиагрегантами, непрямые антикоагулянтами, диуретиками.

Для обнаружения очагов диссеминации 27.01.15 г. пациентке были выполнены дополнительные методы исследования. По результатам компьютерной томографии (КТ) головного мозга патологии не выявлено. На КТ органов грудной полости очаговых и инфильтративных изменений не отмечали. Двусторонний гидроторакс. Ателектатические изменения нижней доли правого легкого. Состояние после протезирования митрального клапана. На КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства очаги диссеминации отсутствуют.

При обследовании пациентки в послеоперационном периоде в клиническом анализе крови наблюдали лейкоцитоз, остальные показатели в пределах нормы (л. –  $10 \cdot 10^9$ /л, нейтр. –  $5,5 \cdot 10^9$ /л, эр. –  $3,0 \cdot 10^9$ /л, э. –  $0,10 \cdot 10^9$ /л, б. –  $0,1 \cdot 10^9$ /л, лимф. –  $3,9 \cdot 10^9$ /л, мон. –  $0,3 \cdot 10^9$ /л, тр. –  $460 \cdot 10^9$ /л, Нб. – 124 г/л). В биохимическом анализе крови: повышенные уровни АлАТ – 48,78 Ед/л, амилаза крови – 129,76 Ед/л, умеренное снижение общего белка – 63,57 г/л. На рентгенографии органов грудной клетки: дисковидный ателектаз в прикорневой зоне справа. Жидкость в заднем реберно-диафрагмальном синусе слева. Корни малоструктурны, не расширены. Тень сердца расширена за счет левых отделов.

Выполнена контрольная эхокардиограмма (ЭХО-КГ): состояние после протезирования митрального клапана протезом Мединж-29. Протез – без признаков дисфункции. Митральная недостаточность (МН) – транспротезная 2 ст. Дилатация ЛП. Начальная гипертрофия левого желудочка. Легочная гипертензия 2 ст. При транспищеводной ЭХО-КГ: тромб в ушке ЛП.

На фоне проводимого лечения состояние пациентки стабилизировалось. Через 8 суток с учетом чувствительности выделенного изолята к антимикотическим препаратам провели деэскалационную терапию флуконазолом в первые сутки – 12 мг/кг, затем – 6 мг/кг.

Пациентка на 17 сутки после операции была планово переведена в Ленинградский областной кардиологический диспансер (ЛОКД), где находилась под наблюдением в течение трех недель с улучшением клинических и лабораторных показателей. Через две недели от момента госпитализации в ЛОКД антимикотическая терапия была отменена. Общая продолжительность лечения кандидозного эндокардита (возбудитель – *S. parapsilosis*) – 32 суток.

В послеоперационном периоде у пациентки развился устойчивый пароксизм трепетания предсердий (ПТП), в связи с чем ее вновь госпитализировали ЛОКД для решения вопроса о восстановлении синусового ритма. 05.05.15 г. выполнена электроимпульсная терапия (ЭИТ) – синусовый ритм восстановлен. В дальнейшем ПТП не рецидивировали. Вторичную антимикотическую профилактику КЭ не проводили.

Через шесть месяцев после окончания антимикотической терапии (03.08.15 г.) больная поступила в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина для оценки эффективности проведенного лечения.

При объективном осмотре пациентки общее состояние удовлетворительное. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки бледные, тургор кожи нормальный. Лимфатические узлы не увеличены. Дыхание самостоятельное. Над областью легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 18 в мин. Тоны сердца ритмичные, приглушенные, шумов нет, АД – 120/80 мм рт. ст. Частота сердечных сокращений – 73 уд. в мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень и селезенка не увеличены. Периферических отеков нет. Температура тела – 36,6 °С. Рост – 155 см, вес – 64 кг.

При обследовании в клиническом анализе крови без патологии: л. –  $6,3 \cdot 10^9/\text{л}$ , нейтр. –  $3,6 \cdot 10^9/\text{л}$ , эр. –  $4,42 \cdot 10^9/\text{л}$ , э. –  $0,12 \cdot 10^9/\text{л}$ , б. – 0, лимф. –  $2,4 \cdot 10^9/\text{л}$ , мон. –  $0,12 \cdot 10^9/\text{л}$ , тр. –  $261 \cdot 10^9/\text{л}$ , Нб. – 126 г/л.

Результаты тестов на определение маннана («*Platelia® Candida Ag*») и антиманнанных антител («*Platelia® Candida Ab*») в сыворотке крови от 07.08.15 г. – отрицательные.

Были выполнены посевы крови по 60 мл два раза в день в течение трех дней. Все результаты были отрицательными.

На контрольной ЭХО-КГ от 04.08.15 г.: протез без признаков дисфункции. МН транспротезная до 2 ст. Дилатация ЛП. Концентрическое ремоделирование левого желудочка. Легочная гипертензия 1 ст.

Дополнительно исследовали сократимость миокарда методом тканевой доплерографии с отслеживанием движущихся частиц. Установлены нормальные значения глобального стрейна (-19,6%) при значительном снижении в нижне-базальном сегменте до – 8%.

На основании проведенного обследования диагностировали ремиссию кандидозного эндокардита, которая продолжалась до времени написания статьи.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Основные факторы риска у взрослых пациентов – протезы клапанов сердца и сосудов, длительно установленные венозные катетеры, длительный прием антибиотиков широкого спектра действия [4-14].

В результате поиска в научной литературе мы выявили около 250 случаев КЭ, при этом *C. parapsilosis* был возбудителем только у 84 пациентов. В основном, представлены случаи КЭ у иммунокомпрометированных пациентов; у иммунокомпетентных больных наблюдали только пять случаев КЭ [17]. Также описан один случай КЭ на фоне комбинированного ревматического митрального порока сердца; возбудитель – *Candida tropicalis* [8]. Случаев КЭ нагивного митрального клапана (МК), обусловленного *C. parapsilosis*, у иммунокомпетентных пациентов с комбинированным

ревматическим митральным пороком сердца (МПС) не описано.

При поиске в научной литературе, в основном, мы обнаружили случаи кандидозного эндокардита у иммунокомпрометированных пациентов. Основным возбудителем КЭ была *C. albicans*. Нами представлен случай КЭ у иммунокомпетентной пациентки с ревматическим пороком митрального клапана, где возбудителем КЭ была *C. parapsilosis*. Количество публикаций, посвященных данной проблеме, ограничено.

В настоящее время на первом месте среди возбудителей инвазивного кандидоза, представленных не-*albicans* видами *Candida*, – *C. parapsilosis* [18-19], который является возбудителем внутрибольничной инфекции в 26% случаев; ее чаще других видов *Candida* выявляют на коже рук медицинских работников [5].

Кандидозный эндокардит – редкое заболевание; на его долю приходится 2-5% от общего числа инфекционного эндокардита [19].

В 65% случаев КЭ развивается у пациентов с протезами сердечных клапанов [20]. Также в одном из проводимых исследований было установлено, что КЭ у иммунокомпетентных людей развивается при наличии врожденного порока сердца [21].

По данным из научной литературы, обусловленный *C. parapsilosis* КЭ у мужчин возникает чаще – в 61% случаев, у женщин – в 3% [4]. Наиболее часто *C. parapsilosis* поражает клапаны сердца у пациентов старше 50 лет (средний возраст – 54,6 года) [22].

В описанном нами случае перечисленных выше факторов риска не отмечали, кроме возраста – 60 лет. Отметим, что наблюдаемая нами пациентка с детства страдала ревматической болезнью сердца, а в 2001 г. у нее был диагностирован митральный порок сердца.

Наиболее часто *C. parapsilosis* поражает аортальный клапан (57%), затем, как и в нашем случае, митральный клапан (29%), на третьем месте – трикуспидальный клапан (4%), далее – стенки желудочка (3%) и клапан легочной артерии (1%).

Клинические проявления КЭ неспецифичны и напоминают бактериальный эндокардит. Чаще всего выявляют поражение аортального и митрального клапанов [23]. Основные жалобы при этом заболевании: повышение температуры, одышка, сердцебиение, боли в области сердца. Лихорадку описывают в 32% случаев, в основном, у пациентов в отделении интенсивной терапии [5-7, 12, 18]. Одышку как симптом наблюдали всего в нескольких случаях [20, 21]. Также при эндокардите, обусловленном *Candida* spp., обнаруживают аускультативные признаки поражения клапанов (34%), прогрессирующую сердечную недостаточность, при проведении ЭХО-КГ – признаки бородавчатого эндокардита (43,7%). Также, как и при других вариантах ИК, основное отличие от бактериального процесса при КЭ – отсутствие эффекта от антибактериальных препаратов. КЭ приводит к острой и прогрессирующей дисфункции клапанов, вызывая многочисленные осложнения, такие как сердечная недостаточность, тромбоэмболии, инсульт [8, 20, 22]. Одним из возможных объяснений является отсутствие кровоснабжения протеза и окружающих тканей с последующим нарушением иммунного ответа [8]. В описанном нами случае характерных клинических, кроме сердцебиения, одышки и ЭХО-КГ признаков эндокардита, выявлено



не было. Вызванный *C. parapsilosis* КЭ отличается высокой летальностью (от 42% до 65%) [4].

Диагноз КЭ устанавливают на основании выявления *Candida* spp. при исследовании материала из пораженного клапана сердца, как и в нашем случае [16].

КЭ может быть как самостоятельным заболеванием, так и одним из признаков острого диссеминированного кандидоза, поэтому таким пациентам необходимо исключить очаги диссеминации, в том числе – кандидемию, эндофтальмит, остеомиелит, менингит, эмболию сосудов головного мозга и др. [24]. У описанной нами больной очаги диссеминации не наблюдали.

Дополнительным и сравнительно новым методом оценки жизнеспособности и сократимости миокарда является тканевая доплерография с изучением движущихся частиц (speckle tracking). У пациентов с эндокардитом нередко развивается и миокардит, приводящий к диффузному снижению сократимости миокарда. Стандартная ЭХО-КГ с оценкой фракции выброса не дает возможности точно описать сократимость миокарда. В результате использованной нами методики установили локальное снижение сократимости в одном сегменте (нижне-базальном), однако глобальное значение стрейна (продольной деформации миокарда) было в пределах нормы. Это является показателем компетентности миокарда в послеоперационном периоде [25].

Согласно современным рекомендациям, препаратами выбора для лечения КЭ являются эхинокандины. Кроме того, показано оперативное лечение [24]. По данным из научной литературы, наиболее часто для лечения больных КЭ использовали амфотерицин В – 65%, азолы – 35%, а также эхинокандины – 7% [6]. Отметим, что у 57% пациентов, получавших амфотери-

цин В, развивалась острая почечная недостаточность, в связи с чем терапию отменяли. При применении эхинокандинов подобных осложнений не наблюдали [20]. Хирургическое лечение было выполнено у 61% больных [6, 24, 26-28].

В описанном нами случае пациентке было проведено хирургическое удаление пораженного клапана сердца, далее она получала стартовую терапию препаратом выбора каспофунгином. После стабилизации состояния и получения результатов чувствительности к антимикотикам была проведена диэскалационная терапия флуконазолом.

Летальность при обусловленном *C. parapsilosis* КЭ очень высока – 40% [6, 29]. Рецидив заболевания возник у 36% больных [20, 22]. В описанном случае с помощью адекватной антимикотической терапии и своевременного удаления инфицированного клапана большая кандидозным эндокардитом была успешно излечена.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлен первый случай успешного лечения обусловленного *C. parapsilosis* эндокардита митрального клапана на фоне хронической ревматической болезни сердца. После хирургического удаления пораженного клапана стартовую терапию провели каспофунгином, диэскалационную – флуконазолом. Были выполнены дополнительные диагностические тесты для исключения диссеминации инвазивного микоза – очагов диссеминации не выявлено.

Таким образом, для успешного лечения кандидозного эндокардита у пациентов с пороком сердца необходимо назначение адекватной антимикотической терапии в сочетании с хирургическими вмешательствами.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Шагдилеева Е.В. Клинико-лабораторные особенности внутрибольничного инвазивного кандидоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2014. – 23 с.
2. Klimko N., Vasilyeva N., Chernenkaya T., et al. Invasive candidiasis in intensive care units: results of prospective multicenter study in Russia. – ECCMID 2015, EV 0944.
3. Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., et al. The burden of serious fungal diseases in Russia// Mycoses. – 2015. – Vol. 58, Suppl 55. – P. 58-62.
4. Trofa D., Gácsér A., Nosanchuk J.D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen// Clin. Microbiol. Rev. – 2008. – Vol. 21, №4. – P. 606-625.
5. Hernández-Torres A., García-Vázquez E., Laso-Ortiz A., et al. *Candida* sp. endocarditis. Experience in a third-level hospital and review of the literature// Rev. Esp. Quimioter. – 2013. – Vol. 26, №1. – P. 51-55.
6. Toyoda S., Tajima E., Fukuda R., et al. Early surgical intervention and optimal medical treatment for *Candida parapsilosis* endocarditis// Intern. Med. – 2015. – Vol. 54, №4. – P. 411-413.
7. Pelemiš M., Stevanović G., Lavadinović L. et al. A rare case of *Candida parapsilosis* endocarditis in a young healthy woman - case report// J. Cardiothorac. Surg. – 2013. – Vol. 8 – P. 29.
8. Dhakal B.P., Tribble C.G., Bergin J.D. et al. Recurrent *Candida* prosthetic endocarditis over fifteen years managed with medical therapy and four valvular surgeries: a case report and review of literature // J. Cardiothorac. Surg. – 2015. – Vol. 10. – P. 105.
9. Sousa C., Botelho C., Rodrigues D., et al. Infective endocarditis in intravenous drug abusers: an update // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2012. – P. 2905-2910.
10. Grunberg W., Al-Bataineh M., Weiss S. *Candida albicans* endocarditis with giant vegetation from an implantable cardioverter-defibrillator lead// Surg. Infect. (Larchmt). – 2013. – P. 157-159.
11. Wallner M., Steyer G., Krause R., et al. Fungal endocarditis of a bioprosthetic aortic valve. Pharmacological treatment of a *Candida parapsilosis* endocarditis// Herz. – 2013. – P. 431-434.
12. Lefort A., Chartier L., Sendid B., et al. Diagnosis, management and outcome of *Candida* endocarditis// Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – P. 99-109.
13. Kumar J., Fish D., Burger H., et al. Successful surgical intervention for the management of endocarditis due to multidrug resistant *Candida parapsilosis*: case report and literature review// Mycopathologia, 172. – 2011. – P. 287-292.
14. Fu J., Retherford L.M., Flynn B. Preterm caesarean delivery in a parturient with *Candida parapsilosis* endocarditis// Case Rep. Anesthesiol. – 2015. 897645.
15. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P. et al. Revised definitions of invasive fungal from the European Organization for Research

- and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Disease Mycoses Study Group// Proc. Am. Thorac. Soc. – 2010. – Vol. 7, № 3. – P. 186-196.
16. *Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии: Российские рекомендации /* Отв. ред. Н.Н. Клишко. – 2-е изд. доп. и перераб. – М.: Фармтек, 2015. – 96 с.
  17. *Uchida W., Hirate Y., Ito H., Kawaguchi O.* Two-stage operation for isolated pulmonary valve infectious endocarditis with *Candida parapsilosis* // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg., 17. – 2013. – P. 426-427
  18. *Aguilar G., Delgado C., Corrales I. et al.* Epidemiology of invasive candidiasis in a surgical intensive care unit: an observational study// BMC Res. Notes. – 2015. – Vol. 8. – P. 491.
  19. *Silva-Pinto A., Ferraz R., Casanova J., et al.* *Candida parapsilosis* prosthetic valve endocarditis// Med. Mycol. Case Rep. – 2015. – Vol. 9. – P. 37-38.
  20. *Boland J.M., Chung H.H., Robberts F.J., et al.* Fungal prosthetic valve endocarditis: Mayo Clinic experience with a clinicopathological analysis//Mycoses. – 2011. – Vol. 54. – P. 354-360.
  21. *Vaideeswar P., Jawale R.M., Tullu M.* Isolated infective endocarditis of the pulmonary valve: an autopsy analysis of nine cases// Cardiovasc. Pathol. – 2009. – Vol. 18, №4. – P. 231-235.
  22. *Falcone M., Barzaghi N., Carosi G., et al.* *Candida* infective endocarditis: report of 15 cases from a prospective multicenter study// Medicine. – 2009. – Vol. 88. – P. 160-168.
  23. *Salamon S.A., Fuursted K., Egeblad H., et al.* *Candida albicans* tricuspid and pulmonic valve endocarditis: Challenge of relapsing risk and role of combined medical treatment and surgery// Scand. J. of Infect. Dis. – 2007. – Vol. 39, №6-7 – P. 641-644.
  24. *Ganesan V., Kumar G.S.V., Ponnusamy S.S.* *Candida* Endocarditis: The Insidious Killer //J. Glob. Infect. Dis. – 2015. – Vol. 7, №1. – P. 48-50
  25. *Selen Yurdakul et al.* Subclinical left ventricular systolic dysfunction in patients with systemic Lupus Erythematosus: a speckle tracking and real time three dimensional echocardiographic study// J. of Amer. Coll. Card. – 2013. – Vol. 62, №18. – Suppl. C – P. 180.
  26. *Lee C.S., Choi J.B., Kim K.H.* *Candida parapsilosis* bioprosthetic valve endocarditis inducing aortic valve stenosis// Tex Heart Inst J. – 2013. –Vol. 40, №4. – P. 502-504.
  27. *Cornely O.A., Bassetti M., Calandra T., et al.* ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients// Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol. 18, Suppl 7. – P. 19-37.
  28. *Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D., et al.* Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America// Clin. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 48. – P. 503-535.
  29. *Shokohi T., Nouraei S.M., Afsarian M.H., et al.* Fungal Prosthetic Valve Endocarditis by *Candida parapsilosis*: A Case Report // Jundishapur. J. Microbiol. – 2014. – Vol. 7, №3. – e9428.

Поступила в редакцию журнала 17.11.2015

Рецензент: Я.И. Козлова



## СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ СОЧЕТАННОГО ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА И МУКОРОЗА ЛЕГКИХ У БОЛЬНОГО ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА

<sup>1</sup>Шадринова О.В. (ассистент кафедры)\*, <sup>2</sup>Десятник Е.А. (миколог), <sup>2</sup>Фролова Е.В. (зав. лаб.), <sup>2</sup>Учеваткина А.Е. (с.н.с.), <sup>2</sup>Филиппова Л.В. (н.с.), <sup>3</sup>Волкова А.Г. (пульмонолог), <sup>3</sup>Попова М.О. (врач-гематолог), <sup>3</sup>Зубаровская Л.С. (зам. директора), <sup>2</sup>Богомолова Т.С. (зав. лаб.), <sup>2</sup>Игнатьева С.М. (в.н.с.), <sup>3</sup>Афанасьев Б.В. (директор), <sup>1</sup>Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: <sup>1</sup>кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии и <sup>2</sup>НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; <sup>3</sup>Институт детской гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачёвой СПбГМУ им. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия

©Коллектив авторов, 2015

*В статье представлено описание случая успешного лечения сочетанного инвазивного микоза – аспергиллеза и мукороза легких у больного лимфомой Ходжкина.*

**Ключевые слова:** иммунный ответ, инвазивный аспергиллез, лимфома Ходжкина, мукороз

## A CASE OF SUCCESSFUL TREATMENT OF COMBINED INVASIVE ASPERGILLOSIS AND MUCOROSIS OF LUNGS IN PATIENT WITH HODGKIN LYMPHOMA

<sup>1</sup>Shadrivova O.V. (assistant of the chair), <sup>2</sup>Desyatnik E.A. (mycologist), <sup>2</sup>Frolova E.V. (head of the laboratory), <sup>2</sup>Uchevatkina A.E. (senior scientific collaborator), <sup>2</sup>Filippova L.V. (scientific collaborator), <sup>3</sup>Volkova A.G. (pulmonologist), <sup>3</sup>Popova M.O. (hematologist), <sup>3</sup>Zubarovskaya L.S. (deputy director), <sup>2</sup>Bogomolova T.S. (head of the laboratory), <sup>2</sup>Ignatyeva S.M. (leading scientific collaborator), <sup>3</sup>Afanasyev B.V. (director), <sup>1</sup>Klimko N.N. (head of the chair)

North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov: <sup>1</sup>Chair of Clinical Mycology, Allergology and Immunology and <sup>2</sup>Kashkin Research Institute of Medical Mycology; <sup>3</sup>Institute of Children's Hematology and Transplantation named after R.M. Gorbacheva of I.P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia

©Collective of authors, 2015

*The case of combined invasive aspergillosis and mucorosis of lungs in patients with Hodgkin lymphoma has been presented in the article.*

**Key words:** Hodgkin lymphoma, immune response, invasive aspergillosis, mucorosis

\* Контактное лицо: Шадринова Ольга Витальевна, тел.: (812) 303-51-46

## ВВЕДЕНИЕ

Инвазивные микозы (ИМ) – тяжелое инфекционное осложнение у пациентов с иммунодефицитными состояниями и онкогематологических больных. Основными возбудителями ИМ у иммунокомпрометированных пациентов являются *Candida* spp. и *Aspergillus* spp., однако все более актуальными становятся инфекции, вызванные мукооромицетами. Возбудители мукороза отличаются низкой чувствительностью к большинству системных антимикотиков, а сама инфекция – высокой летальностью (50-90%) [1, 2]. В этой связи особое внимание уделяют идентификации возбудителя, что имеет решающее значение для оптимизации лечения и благоприятного исхода. Кроме того, для эффективной терапии ИМ необходимы контроль основного заболевания и восстановление иммунологических механизмов, что достигается редукцией дозы глюкокортикостероидов и снижением иммуносупрессии (уровень доказательности данных и категория рекомендаций – А-II) [3].

Статья посвящена описанию случая успешного лечения сочетанного инвазивного микоза у больного лимфомой Ходжкина.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для постановки диагноза инвазивного микоза использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые Европейской организацией по исследованию и лечению рака (EORTC/MSG, 2008) [4]. Пациенту проводили компьютерную томографию (КТ) легких в режиме высокого разрешения, выполняли фибробронхоскопию (ФБС) с забором бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Лабораторная диагностика ИМ состояла из микроскопии, посева БАЛ, а также определения наличия галактоманна в сыворотке крови и БАЛ иммуноферментным методом с использованием специфической диагностической тест-системы PLATELIA® *Aspergillus* (BIO-RAD Laboratories, США). Диагностически значимым считали индекс оптической плотности (ИОП) выше «0,5» в сыворотке крови и БАЛ.

Иммунологические показатели удалось оценить в момент установления клинической ремиссии ИМ, далее в динамике – через 3 месяца (для решения вопроса об отмене антимикотической терапии) и через 1 месяц после прекращения лечения.

Имунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитометрии с использованием проточного цитометра «FC-500» (Beckman Coulter, США) с программным обеспечением CXP Software. Для окрашивания лимфоцитов использовали моноклональные антитела, меченные флуорохромами: CD45-FITC, CD4-RD1, CD8-ECD, CD3-PC5, CD19-ECD и CD56-RD1 (Beckman Coulter, США). Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение CD3+CD4+/CD3+CD8+. Кислород-зависимую бактерицидность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте, киллерную активность – по общепринятой методике с использованием микроорганизмов, имеющих стабильные свойства (референтный штамм – *S. albicans*). Продукцию интерферона-γ (IFN-γ) и фактора некроза опухоли-α (TNF-α) определяли в супернатантах клеток

крови после 24-часовой индукции фитогемагглютини-на с использованием коммерческих иммуноферментных тест-систем («Цитокин», «Вектор-Бест»). Уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови оценивали нефелометрическим методом на анализаторе белков «Turboxplus» (OrionDiagnostics, Финляндия).

#### Описание клинического случая.

Больной М., 30 лет, поступил в микологическую клинику СЗГМУ им. И.И. Мечникова в августе 2013 г. с жалобами на одышку при минимальной физической нагрузке, нарастающую слабость, сухой кашель. При объективном обследовании частота сердечных сокращений – 74 в минуту; артериальное давление – 125/75 мм рт. ст. При аускультации тоны сердца звучные, шумов нет, сердечный ритм правильный. Дыхание жесткое, хрипов нет. Перкуторно над легкими – ясный легочный звук. Частота дыхательных движений – 17 в мин. Живот мягкий, безболезненный, печень не увеличена; нижний край селезенки у края реберной дуги при пальпации безболезненный. Периферических отеков нет.

Из анамнеза заболевания выяснили, что в январе 2006 г. больной впервые стал отмечать повышение температуры тела до 38 °С и ночную потливость, а также увеличение шейно-надключичных и подмышечных лимфатических узлов. При обследовании на основании гистологического исследования надключичного лимфатического узла диагностировали лимфому Ходжкина, нодулярный склероз.

Пациенту провели 6 курсов высокодозной цитостатической терапии по протоколу АВВД в городской больнице №31 с частичным регрессом опухоли, затем – 4 курса по протоколу Increased-dose BEACOPP с полным регрессом, по данным позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). Однако через 6 месяцев, с учетом отрицательной динамики результатов ПЭТ, отмечали рецидив лимфомы. Лечение рецидива проводили по протоколу DexamBEAM. В апреле 2008 г. выполнили аутотрансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. В октябре 2008 г. диагностировали полную ПЭТ-негативную ремиссию. С 2008 г. пациента амбулаторно наблюдали у гематолога.

С октября 2011 г. наблюдали появление В-симптомов (лихорадка, слабость, потливость), увеличение шейных лимфатических узлов. При ПЭТ обнаружили очаги накопления радиофармпрепарата в проекции переднего средостения, внутригрудных лимфатических узлов, брюшной области, парааортальных лимфатических узлов, а также двустороннее очаговое поражение легких. Диагностировали прогрессию лимфомы Ходжкина IV В ст. и провели 2 курса цитостатической терапии по протоколу DHAP, а затем – 4 курса по протоколу GEMOX.

Учитывая резистентность к проводимой цитостатической терапии, в мае 2012 г. выполнили трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). В раннем посттрансплантационном периоде развилась острая «реакции трансплантат против хозяина» с поражением кожи 0-1 ст., которую купировали топическими глюкокортикостероидами (ГКС). Терапию системными ГКС не проводили.

В июле 2012 г. на КТ органов грудной клетки выявили множественные очаги верхних и средних долей обоих легких и инфильтративные изменения S3-4 левого

легкого. Туберкулез был исключен. Учитывая отрицательные результаты тестов на галактоманнан сыворотки крови и БАЛ, а также отрицательные результаты микроскопии и посева БАЛ, изменения в легких расценили как специфические. Кроме того, при гистологическом исследовании костного мозга наблюдали картину субтотального поражения костного мозга. Установили прогрессию лимфомы Ходжкина с поражением периферических, внутригрудных, внутрибрюшных лимфоузлов, костного мозга, печени и легких. Клинический эффект от проводимой цитостатической полихимиотерапии по протоколу ChVPP не был достигнут, после 2-го курса наблюдали длительный период постцитостатической панцитопении.

В октябре - ноябре 2012 г. отмечали дальнейшую прогрессию заболевания с поражением печени, селезенки и паренхимы обоих легких. Введение донорских лимфоцитов осложнилось развитием острой «реакции трансплантат против хозяина» печени II ст., кожи I ст., что потребовало применения системных глюкокортикостероидов. В динамике – развитие гипопункции трансплантата, в связи с чем провели лечение брентуксимабом.

В январе 2013 г. у пациента на фоне продолжающейся цитопении наблюдали длительную фебрильную лихорадку, резистентную к антибиотикотерапии, вновь появилась и нарастала одышка. При проведении КТ органов грудной клетки выявили инфильтративные изменения и многочисленные округлые очаги размерами до 10 мм по всем полям лёгких (Рис.1).

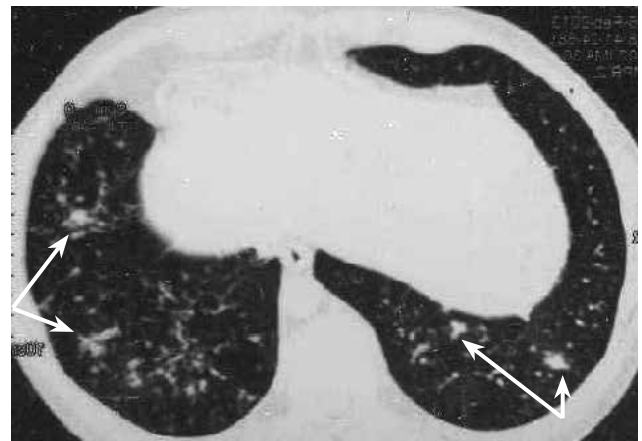


Рис. 1. КТ органов грудной клетки (21.01.13 г)

Пациенту выполнили ФБС. Результат теста на галактоманнан в БАЛ был положительным (ИОП=1,2), при микроскопии БАЛ обнаружили нити септированного мицелия (Рис 2, 3), при посеве получен рост *Aspergillus fumigatus*.

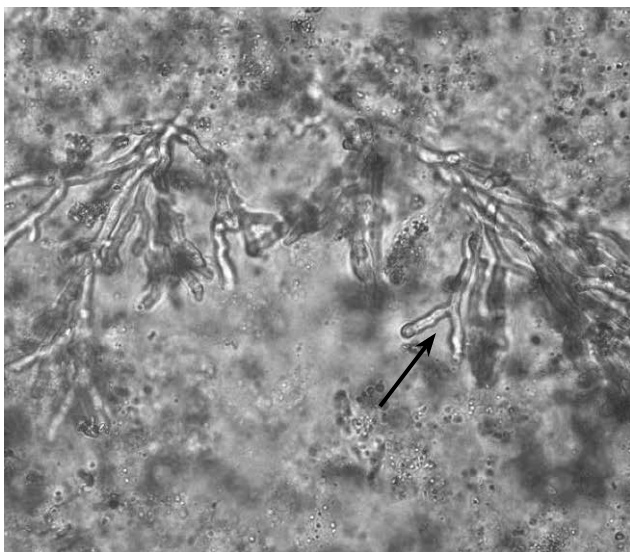
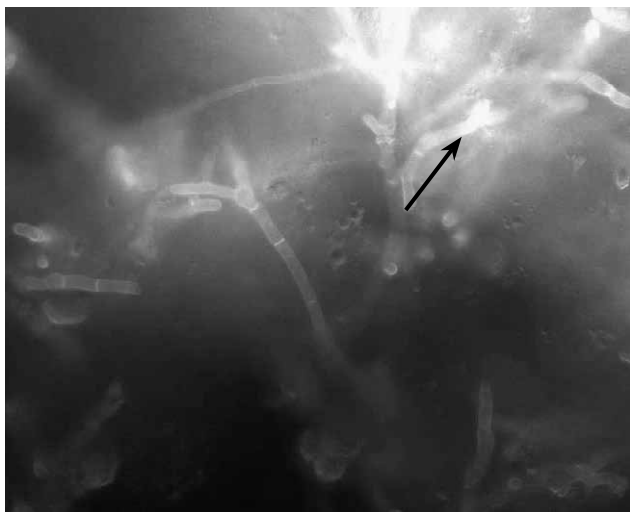


Рис. 2,3. Микроскопия БАЛ: септированный мицелий, ветвящийся под острым углом

На основании результатов исследований у больного диагностировали инвазивный аспергиллез легких.

Пациент получал антимикотическую терапию в стандартной дозировке: вориконазол 800 мг в первые сутки, затем – 400 мг/сутки с положительной клинической и КТ-динамикой.

При контрольном обследовании в микологической клинике (на фоне приема вориконазола) в сентябре 2013 г. на КТ органов грудной клетки отмечали отрицательную динамику в виде появления новых многочисленных очагов, преимущественно в левых отделах легких, с тенденцией к слиянию в инфильтраты (Рис.4).



Рис. 4. КТ органов грудной клетки (11.09.13 г.)

Тест на галактоманнан в БАЛ – отрицательный. При посеве был получен рост *Rhizopus stolonifer*. Диагностировали сочетанный инвазивный микоз легких, обусловленный *A. fumigatus* и *Rhizopus stolonifer*. В течение 16 дней пациент получал комбинированную антимикотическую терапию: каспифунгин 70 мг в первый день, затем – 50 мг/сут. и липидный комплекс амфотерицина В 3 мг/кг/сут., затем – амфотерицин В 1 мг/кг/сут. в течение 10 дней. Далее продолжили лечение позаконазолом – 800 мг/сут. В результате прекратились клинические проявления микоза, при КТ наблюдали уменьшение количества и размеров очагов.

В декабре 2013 г. вновь диагностировали прогрессию основного заболевания по данным контрольной ПЭТ. Провели лечение бендамустином и брентуксимабом с положительным эффектом. Продолжали применение позаконазола 800 мг/сут.

Пациенту выполнили контрольное обследование в микологической клинике в октябре 2014 г. Общая продолжительность терапии позаконазолом составила 10 месяцев, побочных эффектов не было. Сохранялась ремиссия фонового заболевания; по данным контрольной ПЭТ, признаков метаболической активности очагов не обнаружили.

По результатам КТ органов грудной клетки, очаговых и инфильтративных изменений не наблюдали, отмечали формирование зон фиброза (Рис. 5).

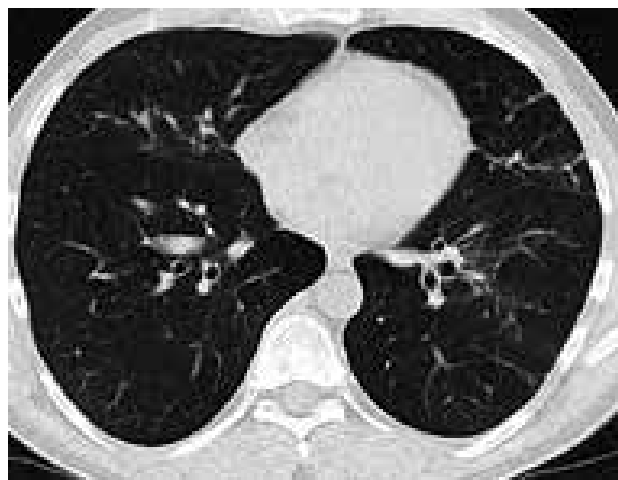


Рис. 5. КТ органов грудной клетки (21.10.14 г.)

При микроскопии и посеве БАЛ микромицеты не выявили, результаты теста на галактоманнан – отри-

цательные. Диагностировали ремиссию инвазивного микоза легких. Однако, учитывая низкий уровень CD4+ ( $0,113 \cdot 10^9/\text{л}$ ), сниженную продукцию TNF- $\alpha$  (200 пг/мл) и высокий риск рецидива микотической инфекции, продолжили применение позаконазола 800 мг в сутки для профилактики рецидива.

Повторное обследование провели в январе 2015 г. Продолжалась ремиссия лимфомы Ходжкина. Клинических признаков рецидива инвазивного микоза не было. По данным КТ органов грудной клетки – без очаговых и инфильтративных изменений. При микроскопии и посевах БАЛ микромицеты не обнаружили, результаты теста на галактоманнан – отрицательные. Общая продолжительность лечения позаконазолом к тому времени составила 13 месяцев, побочных эффектов не было. Учитывая отсутствие клинических, лабораторных (серологических, микологических) и КТ-признаков инфекции, а также тенденцию к повышению уровня CD4+ ( $0,343 \cdot 10^9/\text{л}$ ) и TNF- $\alpha$  (274 пг/мл), антифунгальную профилактику отменили. Ремиссия инвазивного микоза сохраняется на момент написания статьи (ноябрь 2015 г.).

#### Результаты иммунологического обследования.

Динамику иммунологических показателей удалось проследить с момента клинической ремиссии инвазивного микоза. Результаты представлены в таблице.

Таблица 1.

Динамика иммунологических показателей

Показатели	Этапы обследования			норма
	I 14.10.14 г. (ремиссия инвазивного микоза)	II 22.01.15 г. (окончание II профилактики)	III 26.02.15 г.	
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	3,6	2,4	5,1	4-9
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	0,54	1,01	1,89	1,27-3,26
Нейтрофилы, $10^9/\text{л}$	2,27	1,22	2,75	1,68-5,0
Т-лимфоциты (CD3+CD19), %	56,0	54,0	65,0	60-80
Т-лимфоциты (CD3+CD19), $10^9/\text{л}$	0,302	0,544	1,227	0,900-2,100
Т-хелперы (CD3+CD4), %	21,0	32,0	31,0	35-50
Т-хелперы (CD3+CD4), $10^9/\text{л}$	0,113	0,323	0,585	0,580-1,300
Т-цитотоксические (CD3+CD8), %	19,0	21,0	34,0	19-35
Т-цитотоксические (CD3+CD8), $10^9/\text{л}$	0,103	0,212	0,642	0,370-0,1000
В-лимфоциты (CD3+CD19), %	20,0	28,0	14,0	6-18
В-лимфоциты (CD3+CD19), $10^9/\text{л}$	0,108	0,282	0,264	0,110-0,400
NK-клетки (CD3+CD56), %	14,0	11,0	15,0	8-17
NK-клетки (CD3+CD56), $10^9/\text{л}$	0,076	0,111	0,283	0,120-0,370
ИРИ CD4+/CD8+	1,1	1,5	0,9	1,5-2,6
НСТ- спонтанный, %	41	14	14	11-18
НСТ- активированный, %	87	34	48	40-60
КК, %	15	11	21	25-45
IgA, г/л	1,15	1,47	0,73	0,7-4,0
IgM, г/л	0,97	2,20	1,29	0,4-2,6
IgG, г/л	8,29	9,30	5,65	7,0-15,0
TNF- $\alpha$ , пг/мл	200	274	405	200-500
IFN- $\gamma$ , пг/мл	277	238	354	500-2000

Наличие множественных рецидивов основного заболевания требовало активного лечения. На фоне проводимой цитостатической терапии лимфомы Ходжкина закономерным является снижение уровня лимфоцитов, что мы и наблюдали у пациента. Как видно из таблицы, к моменту установления ремиссии инвазивного микоза у пациента сохранялись признаки иммунодефицита, обусловленного как лимфопролиферативным заболеванием, так и проводимым лечением. Выявили снижение абсолютного количества лимфоцитов ( $0,302 \cdot 10^9/\text{л}$ ) за счет Т-хелперов CD4+ ( $0,113 \cdot 10^9/\text{л}$ ), цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ ( $0,103 \cdot 10^9/\text{л}$ ) и естественных киллеров CD56+ ( $0,076 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Показатели гуморального иммунного ответа и количественное содержание нейтрофилов не отличались от контрольных значений. Однако отмечали угнетение резерва микробцидной активности нейтрофилов по результатам НСТ-теста и оценки киллерной активности нейтрофилов. Вероятно, это связано со снижением способности клеток крови к продукции TNF- $\alpha$  (200 пг/мл) и IFN- $\gamma$  (277 пг/мл). Ранее нами было установлено, что прогностически значимыми маркерами благоприятного исхода инвазивного аспергиллеза у реципиентов алло-ТГСК являются абсолютное количество Т-хелперов CD4+ >  $0,170 \cdot 10^9/\text{л}$  и способность клеток крови к продукции TNF- $\alpha$  > 204 пг/мл [5]. Следовательно, учитывая высокий риск развития рецидива инвазивного микоза при данных значениях иммунологических показателей, была продолжена вторичная антифунгальная профилактика до восстановления количества CD4+ лимфоцитов и способности клеток крови к продукции TNF- $\alpha$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сочетание инвазивного аспергиллеза и мукокоза возникает, как правило, у онкогематологических больных. Несмотря на антимикотическую терапию, летальность при такой сочетанной грибковой инфекции остается высокой. В Санкт-Петербурге общая 12-недельная выживаемость у данной категории больных составила 14% [6].

По данным нашего регистра, пациенты с онкогематологическими заболеваниями составляют 88% больных инвазивным аспергиллезом в Санкт-Петербурге, а 8% больных страдают лимфомой Ходжкина [7]. В последние десятилетия отмечают рост заболеваемости лимфомой Ходжкина, частота возникновения в европейских странах достигает от 2,3 до 3,1 на 100000 мужчин и от 1,6 до 2,3 – на 100 000 женщин [8]. В 20-40% случаев лимфома Ходжкина резистентна к стандартной химиотерапии, что проявляется как отсутствием полных ремиссий, так и возникновением рецидивов заболевания. В связи с этим в настоящее время используют лучевую терапию в сочетании с химиотерапевтическими методами, терапию с применением моноклональных антител, а также все более широкое применение находит трансплантация аутологичных или аллогенных гемопоэтических стволовых клеток [9]. Иммуносупрессия развивается на фоне цитостатической химиотерапии и алло-ТГСК, повышая риск возникновения инвазивного микоза.

Мы установили, что основным фактором риска развития инвазивного аспергиллеза у данной категории пациентов является лимфоцитопения, а не ней-

тропения [10]. В представленном клиническом случае у больного также наблюдали лимфоцитопению  $0,54 \cdot 10^9/\text{л}$  при нормальных показателях нейтрофилов.

Важнейшее условие успешного лечения инвазивного микоза – ранняя диагностика, тем не менее, существуют определенные трудности ее проведения. Клинические и радиологические признаки грибковой инфекции неспецифичны, в связи с чем основные диагностические методы – это определение галактоманна в БАЛ и микологические исследования (микроскопия и посев) [11]. Доказано, что наибольшая диагностическая эффективность достигается при использовании всех вышеперечисленных методов [12]. В некоторых случаях необходимо повторное исследование биосубстратов для определения патогена, что является важным для выбора антимикотического препарата.

У нашего пациента использовали все методы исследования, получили серологическое подтверждение диагноза, при посеве БАЛ наблюдали рост *A. fumigatus*. В дальнейшем, несмотря на проводимую антимикотическую терапию, у больного возник сочетанный инвазивный микоз с поражением легких. В данном случае выделение культуры *R. stoloniter* дало возможность своевременно скорректировать лечение. Ранее мы показали, что для стартовой терапии мукозоза следует применять комбинацию липидного комплекса амфотерицина В с эхинокандином (анидулафунгином, каспофунгином или микафунгином) [13]. Мы использовали липидный комплекс амфотерицина В и каспофунгин, а после стабилизации состояния пациента – монотерапию позаконазолом. Выбранная терапия помогла спасти пациента и продолжить лечение лимфомы Ходжкина. Отметим отсутствие побочных эффектов и лекарственных взаимодействий во время длительного применения позаконазола.

В последнее время большое внимание уделяют выявлению протективного иммунного фенотипа пациентов с инвазивными микозами и поиску биомаркеров для включения их в клинико-диагностические алгоритмы обследования [14]. В нашем предыдущем исследовании было установлено, что для эффективного лечения инвазивного аспергиллеза необходим не только контроль основного заболевания, но и восстановление иммунологических показателей. В частности, количе-

ство CD4+ лимфоцитов в периферической крови более  $0,170 \cdot 10^9/\text{л}$  и способность клеток крови к продукции TNF- $\alpha > 204$  пг/мл были прогностически благоприятными маркерами у реципиентов алло-ТГСК [5]. Мы выявили, что у пациента к моменту достижения ремиссии инвазивного микоза данные иммунологические показатели были ниже вышеприведенных значений, и продолжили профилактическое применение препарата с антимикотической активностью. Правильность выбранной стратегии лечения была подтверждена положительной динамикой абсолютного числа всех исследованных субпопуляций лимфоцитов, восстановлением способности клеток к продукции TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , повышением киллерной активности нейтрофилов. Это согласуется с данными других исследователей, которые показали, что Т-хелперы 1-го типа секретируют IFN- $\gamma$ , который совместно с TNF- $\alpha$ , привлекает нейтрофилы к месту инфекции и способствует увеличению микрооцидной активности нейтрофилов/макрофагов и повышает цитотоксичность Т-лимфоцитов CD8+ и естественных киллеров. Таким образом, совместное действие различных иммунных клеток и их медиаторов, направленное на уничтожение патогенов, предотвращает прогрессирование инвазивного микоза [15]. Следовательно, мониторинг количества CD4+ лимфоцитов и уровня TNF- $\alpha$  можно использовать для определения тактики лечения больных с инвазивным микозом.

## ВЫВОДЫ

1. Сочетание аспергиллеза и мукозоза – тяжелое осложнение у онкогематологических больных.
2. Для ранней диагностики сочетанного инвазивного микоза необходимо использовать комплекс методов: компьютерную томографию, фибробронхоскопию и исследование БАЛ (микроскопия, посев, а также тест на галактоманнан для аспергиллезной инфекции).
3. Для стартовой терапии мукозоза следует использовать сочетание липидного комплекса амфотерицина В и эхинокандина, после стабилизации состояния пациента – применять позаконазол.
4. Для определения тактики антифунгальной терапии необходим мониторинг иммунологических показателей.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Drgona L., Khachatryan A., Stephens J. Clinical and economic burden of invasive fungal diseases in Europe: focus on preemptive and empirical treatment of *Aspergillus* and *Candida* species// *Europ. J. of Clin. Microbiol. and Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 33, №1. – P. 7-21.
2. Lanternier F., Dannaoui E., Morizot G., et al. A global analysis of mucormycosis in France: The RetroZygo Study (2005-2007)// *Clin. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 54, №1. – P. 35-43.
3. Skiada A., Lanternier F., Groll A.H., et al. Diagnosis and treatment of mucormycosis in patients with hematological malignancies: guidelines from the 3rd European Conference on Infections in Leukemia (ECIL 3)// *Haematologica.* – 2013. – Vol. 98, №4. – P.492-504. doi: 10.3324/haematol.2012.065110.
4. De Pauw B., Walsh T.J., Donnelly J.P., et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer / Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group// *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 46, №12. – P. 1813-21.
5. Фролова Е.В., Шадривова О.В., Учеваткина А.Е. и др. Прогностическое значение иммунологических показателей у реципиентов трансплантатов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с инвазивным аспергиллезом// *Проблемы медицинской микологии.* – 2015. – Т. 17, №1. – С. 14-20.
6. Klimko N.N., Khostelidi S.N., Popova M.O., et al. Combination of invasive aspergillosis and mucormycosis in hematological patients in Saint-Petersburg, Russia// 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2013. – M1385. [http://www.icaconline.com/php/icaac2013abstracts/data/papers/2013/M/2013\\_M-1385.htm](http://www.icaconline.com/php/icaac2013abstracts/data/papers/2013/M/2013_M-1385.htm)
7. Климко Н.Н., Шадривова О.В., Хостелиди С.Н. и др. Инвазивный аспергиллез: результаты многоцентрового исследова-

- ния// Онкогематология. – 2014. – №2. – С. 13-19.
8. Landgren O., Pfeiffer R.M., Kristinsson S.Y., Bjorkholm M. Survival patterns in patients with Hodgkin's Lymphoma with a pre-existing hospital discharge diagnosis of autoimmune disease// J. of Clin. Oncology. – 2010. – Vol. 28, №34. – P. 5081-5087.
  9. Ильин Н.В., Виноградова Ю.Н., Николаева Е.Н. и др. Лимфомы. Научно-практическое издание. – 2010. – С. 62-67.
  10. Фролова Е.В., Шадривова О.В., Филиппова Л.В. и др. Клинико-иммунологические особенности инвазивного аспергиллеза легких у пациентов с лимфомой Ходжкина// Проблемы медицинской микологии – 2013. – Т.15, №2. – С.131-132.
  11. Ruhnkel M., Bohme A., Buchheidt D. Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology – guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO)// Ann. of Oncology. – 2012. – Vol. 23, №4. – P.823-833.
  12. Волкова А.Г., Попова М.О., Екушев К.А. и др. Роль бронхоскопии в диагностике инвазивного аспергиллеза легких у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток// Росс. журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – Т. 2. – С. 72-76.
  13. Klimko N., Khostelidi S., Volkova A., et al. Mucormycosis in haematological patients: case report and results of prospective study in Saint Petersburg, Russia// Mycoses. – 2014. – Vol. 57. – С. 91-96.
  14. Snyderman D.R., Camargo J.F. and Husain S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis// Clin. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 15. – P. 569-577.
  15. Thakur R., Anand R., Tiwari S., et al. Cytokines induce effector T-helper cells during invasive aspergillosis; what we have learned about T-helper cells? //Front Microbiol. – 2015. – Vol. 6. – P. 429.

Поступила в редакцию журнала 27.11.2015

Рецензент: Ю.Н. Виноградова





## ОМАЛИЗУМАБ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ. ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Козлова Я.И. (доцент кафедры)\*, Козлова О.П. (ассистент кафедры), Борзова Ю.В. (главный врач), Васильева Н.В. (директор, зав. кафедрой), Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

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

© Коллектив авторов, 2015

*Хроническая спонтанная крапивница (ХСК) является серьезной медико-социальной проблемой. Частота ХСК в популяции варьирует от 0,1 до 1%, а продолжительность заболевания, в среднем, составляет пять лет. ХСК преимущественно поражает лиц трудоспособного возраста, значительно снижает качество жизни и характеризуется высоким уровнем затрат на лечение. В современных рекомендациях (EAACI/GA2LEN/EDF/WAO, 2013) предложено применение омализумаба для третьей ступени лечения крапивницы, но отечественные публикации по данной теме немногочисленны. В статье описан опыт успешного применения омализумаба у пациентки с хронической спонтанной аутореактивной крапивницей и представлен обзор литературы.*

**Ключевые слова:** моноклональные антитела, омализумаб, хроническая крапивница

## OMALIZUMAB IN TREATMENT OF CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA. DESCRIPTION OF A CLINICAL CASE AND REVIEW OF LITERATURE

Kozlova Y.I. (associate professor of the chair), Kozlova O.P. (assistant of the chair), Borzova Yu.V. (chief physician), Vasilyeva N.V. (director, head of the chair), Klimko N.N. (head of the chair)

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

© Collective of authors, 2015

*Chronic spontaneous urticaria (HSU) is a serious medical and social problem. Frequency of HSU in the population varies from 0,1 to 1%, and the duration of the disease, on average, is five years. HSU predominantly affects people of working age, significantly reduces the quality of life and is characterized by high levels of treatment costs. In modern recommendations (EAACI/GA2LEN/EDF/WAO, 2013) proposed the use of omalizumab for the third stage of urticaria treatment, but domestic publications on this topic are scarce. The experience of the omalizumab successful application in patients with chronic spontaneous autoreactive urticaria has been described in the article. A review of the literature is also presented.*

**Key words:** chronic urticaria, monoclonal antibody, omalizumab

\* Контактное лицо: Козлова Яна Игоревна, тел.: (812) 303-51-46

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническая спонтанная крапивница (ХСК) является серьезной медико-социальной проблемой. Частота ХСК в популяции варьирует от 0,1 до 1%, а продолжительность заболевания, в среднем, составляет пять лет. ХСК преимущественно поражает лиц трудоспособного возраста, значительно снижает качество жизни и характеризуется высоким уровнем прямых и непрямых затрат на лечение.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диагноз крапивницы устанавливали согласно критериям федеральных клинических рекомендаций (РА-АКИ, 2014) и международных согласительных документов (EAACI/GA2LEN/EDF/WAO, 2013). Для определения активности крапивницы и оценки эффективности лечения применяли систему баллов Urticaria Activity Score 7 (UAS 7). В обзоре литературы использовали публикации, вошедшие в базы данных EMBASE и PubMed/MEDLINE за последние 10 лет. Поиск осуществляли по ключевым словам: *chronical urticaria, monoclonal antibodies, omalizumab*.

### Клинический случай.

Больная М, 26 лет, обратилась 2015 году в микологическое клинику с жалобами на рецидивирующие уртикарные высыпания и сильный зуд. Анамнез: считает себя больной с 2009 г., когда впервые отметила распространенные волдыри на коже и отеки губ. Дерматолог по месту жительства установил диагноз «крапивница». В течение шести лет больная обращалась в различные медицинские учреждения Санкт-Петербурга.

Результаты проведенного обследования с 2009 по 2015 гг.: в клинических анализах крови – лейкоцитоз (от 12,8 до 20,1·10<sup>9</sup>/л), уровень СРБ повышен (14,58-23,3 мг/л при норме 0,00-5,00 мг/л). Данные биохимических анализов крови (общий белок, мочевины, креатинин, гамма-глутамилтранспептидаза - ГГТП, АЛТ, АСТ, амилаза, общий билирубин, прямой билирубин, глюкоза, железо), электрофореза белков сыворотки крови, общих анализов мочи, коагулограммы – без отклонений от референсных значений. Уровень общего IgE – 121 МЕ/мл. Специфические IgE к бытовым, пыльцевым, эпидермальным аллергенам не выявили. Больная была направлена на консультацию ревматолога, выполнены ревмопробы: антитела к dsДНК, АНФ-Нер-2, криоглобулины – результаты тестов отрицательные; рANCA, сANCA – без отклонений от референсных значений. Результаты инструментальных исследований: фиброгастроуденоскопии, ультразвукового исследования брюшной полости и колоноскопии – вариант нормы.

Больная получала следующую терапию: различные H1-антигистаминные препараты (хлоропирамин, клемастин, дезлоратадин, цетиризин, лоратадин, эбастин) в стандартных дозах, H2-антигистаминный препарат (фамотидин), кетотифен, а также сорбенты, противоязвенные препараты и пробиотики. В 2011 г. было проведено три сеанса плазмафереза. С 2012 по 2013 г. пациентка применяла метипред 15 мг в сутки, который отменила самостоятельно после значительного увеличения веса – 40 кг. Описанное лечение было неэффективным, продолжались уртикарные высыпания.

Данные обследования в микологической клинике в августе 2015 г.: лейкоцитоз (14,8·10<sup>9</sup>/л). Уровень

С-реактивного белка (СРБ) повышен (28,89 мг/л при норме 0,00-5,00 мг/л). Выполнена проба с аутосыывороткой, результат – положительный. Биохимический анализ крови (общий белок, мочеви́на, креатинин, ГГТП, АЛТ, АСТ, общий билирубин) – без отклонений от референсных значений. Уровень общего IgE – 120 МЕ/мл.

Был установлен диагноз: хроническая идиопатическая аутореактивная крапивница. Активность крапивницы по шкале UAS 7 в этот период составляла 29 баллов. Больной было проведено лечение H1-антигистаминным препаратом (дезлоратадин) в разовой четырехкратной дозе, которое было недостаточно эффективным. Следующим этапом стало назначение комбинации H1-антигистаминного препарата (фексофенадин) и антагонистов лейкотриеновых рецепторов (монтелукаст). Однако полный контроль над крапивницей не был достигнут (UAS – 22 балла). В сентябре 2015 г. пациентке было подкожно введено 300 мг омализумаба. Высыпания исчезли уже на вторые сутки. В настоящее время больная получила три инъекции по 300 мг с интервалом в 4 недели. Нежелательных явлений не отмечали. На фоне применения крапивница полностью контролируется, активность по шкале UAS составила 0 баллов (Рис.).

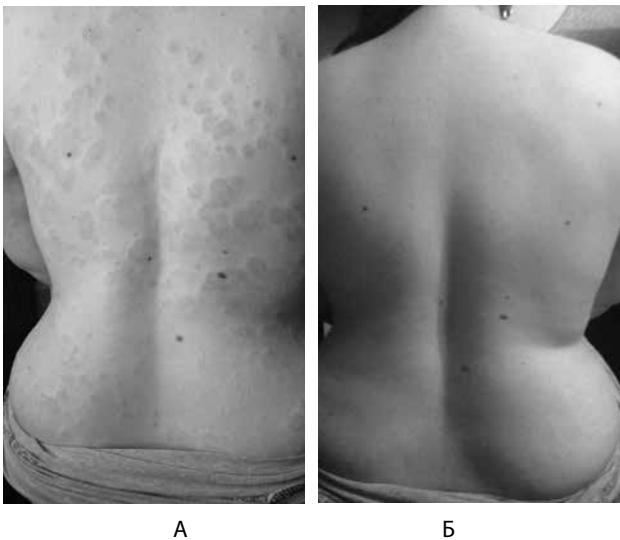


Рис. А - до применения омализумаба по шкале UAS-7 – 25 баллов; В - после использования препарата UAS-7 – 0 баллов

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Крапивница (от лат. *urtica* – крапива) – группа заболеваний, характеризующаяся развитием зудящих волдырей и/или ангиоотектов [1]. Волдырь – первичный элемент кожной сыпи, представляющий собой местный отек сосочкового слоя дермы. Высыпания могут возникать на любом участке кожи, сопровождаются зудом и проходят в течение суток (от нескольких минут до нескольких часов) [2, 3]. У 50% больных крапивницу сопровождает ангиоотек [4]. Крапивницу классифицируют по продолжительности течения, а также типам и подтипам. Отметим, что у одного больного могут сосуществовать два или более подтипов этого заболевания [5]. По продолжительности крапивница может быть острой (менее 6 недель) или хрониче-

ской, если проявления сохраняются более 6 недель [6]. Острую – наиболее часто выявляют у детей и подростков [7]. В 55% случаев механизм реакции IgE – опосредованный, кроме того, у 75% больных в развитии заболевания участвуют неспецифические механизмы [8].

В современных классификациях отдельно выделяют хроническую спонтанную крапивницу, при которой волдыри возникают без видимых причин и в связи со специфическим триггером (холод, давление, вибрация) [1, 2]. По результатам различных исследований, частота хронической спонтанной крапивницы в популяции составляет от 0,1 до 1% [9]. Для хронической крапивницы (ХК) характерно длительное рецидивирующее течение, пациенты отмечают симптомы на протяжении 5-10 лет [10]. Дебют хронической крапивницы возможен в любом возрасте, однако заболевание отмечают преимущественно у лиц в возрасте 20-40 лет [9, 11]. Выраженный зуд и нарушение сна, длительное течение заболевания приводят к утрате трудоспособности и значительному снижению качества жизни [12-14, 16]. Таким образом, медико-социальное значение ХК определяется распространенностью заболевания, преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, а также значительным ухудшением качества жизни больных.

По данным современных исследований, установить этиологию ХК удается лишь в 1-20% случаев [17]. Большое количество работ посвящено роли инфекционных агентов в патогенезе ХК, но результаты этих исследований противоречивы. Ряд авторов указывают, что триггерами обострения крапивницы могут быть вирусы (гепатиты А, В и С, Эпштейна-Барр), бактерии (*Helicobacter pylori*, стрептококки, кишечная палочка, микоплазма), грибы и паразиты (лямблии, глисты). Однако по результатам современного мета анализа, показана низкая степень доказательности эффективности эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* у пациентов с хронической крапивницей [18]. В настоящее время трудно установить достоверную причинную связь крапивницы с инфекцией, так как пока нет возможности провести провокационный тест с подозреваемым патогеном [19].

Применение лекарственных средств и пищевых продуктов может быть связано с псевдоаллергической, или не-IgE-опосредованной крапивницей. В этих случаях участвуют неиммунные механизмы (повышение концентрации гистамина при снижении скорости его инактивации, нарушение метаболизма арахидоновой кислоты, накопление брадикинина и пр.) [3]. Применение ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и статинов, в большинстве случаев, приводит к изолированному ангиоотеку, а не крапивнице [20]. В нескольких исследованиях продемонстрировано улучшение течения крапивницы при назначении диеты с исключением пищевых добавок. Предполагается, что этот феномен связан с изменением проницаемости гастродуоденальных слизистых оболочек [21].

У 35-55% пациентов в патогенезе хронической крапивницей участвуют аутоиммунные механизмы [3]. Например, циркулирующие аутоантитела, которые вызывают высвобождение гистамина из тучных клеток и базофилов. Аутоантитела принадлежат к подтипам IgG1 и IgG3 и оказывают свое действие за счет перекрестного связывания α-цепей высокоаффинного

IgE рецептора (анти- FcεRI антитела) или перекрестного связывания фиксированных на тучных клетках кожи IgE (анти-IgE антитела). Положительный кожный тест с аутосорботкой ассоциирован с гистамин-высвобождающими анти- FcεRI антителами. Аутоантитела к тканям щитовидной железы часто выявляют у больных ХК. Многие авторы показали взаимосвязь ХК и аутоиммунного тиреоидита, однако иммунологические механизмы до настоящего времени остаются мало изученными [22].

Независимо от этиологии, главную роль в патогенезе крапивницы играют тучные клетки. Формирование волдырей происходит вследствие активации тучных клеток кожи, которая приводит к высвобождению гистамина и других медиаторов воспаления [23].

#### Оценка активности крапивницы

Международные и отечественные эксперты рекомендуют использовать систему баллов для оценки активности крапивницы. Urticaria Activity Score (Индекс Активности Крапивницы) 7 (UAS 7), который предполагает суммарную оценку основных симптомов заболевания (количество волдырей и интенсивность зуда) самим пациентом каждые 24 часа за 7 последовательных дней. Сумма баллов за сутки может составлять от 0 до 6, максимально за неделю – 42 балла, что соответствует тяжелому течению крапивницы. Шкала UAS 7 рекомендована к применению в клинической и исследовательской деятельности [1, 2].

#### Лечение хронической крапивницы

В действующих согласительных документах EAACI/GA2LEN/EDF/WAO 2013 г. (Европейская академия аллергологии и клинической иммунологии/Европейская глобальная сеть по аллергии и бронхиальной астме/Европейский дерматологический форум/Всемирная организация по аллергии) рекомендуют ступенчатый подход в лечении крапивницы. Терапию начинают с применения антигистаминных препаратов второго поколения в стандартных дозах. Однако в большом количестве работ в области лечения хронической крапивницы показана неэффективность антигистаминных препаратов в стандартных дозах, примерно у 50% больных симптомы заболевания сохраняются [11]. В настоящее время международные эксперты при отсутствии положительной динамики рекомендуют увеличивать дозу в четыре раза, при этом следует увеличивать дозу одного антигистаминного препарата, а не добавлять другие [24-26]. Если пациента на фоне проводимого лечения в течение двух-четырех недель продолжают беспокоить уртикарные высыпания, рекомендован переход на третью ступень: применение омализумаба, циклоспорина А или монтелукаста. В современной концепции терапии хронической крапивницы предусмотрена возможность назначения короткого курса (3-7 дней) системных глюкокортикостероидов в случае выраженного обострения заболевания, но не длительного их использования [1, 2].

Омализумаб представляет собой рекомбинантные гуманизированные моноклональные анти-IgE-антитела, которые содержат 95% человеческого белка и 5% белка мыши в Fab-области. Омализумаб связывает свободные IgE и, образуя биологически инертную молекулу, уменьшает вероятность их взаимодействия с тучными клетками. Кроме того, снижение циркулирующих IgE уменьшает плотность высокоаффинных

рецепторов FcεRI на поверхности тучных клеток и базофилов, что приводит к снижению их возбудимости и предупреждает высвобождение провоспалительных медиаторов [27, 28]. Показано, что снижение экспрессии FcεRI на дендритных клетках может привести к истощению дифференцировки Th2-лимфоцитов. Лечение омализумабом снижает активацию и чувствительность тучных клеток, активацию эозинофилов и эозинофильную инфильтрацию [29]. Начиная с 2006 г., было проведено большое количество клинических исследований омализумаба в терапии различных видов крапивницы, в том числе – холинергической и солнечной [30-36].

Большой интерес представляют два больших многоцентровых двойных-слепых плацебо-контролируемых исследования III фазы, посвященных оценке эффективности и безопасности омализумаба. В исследовании ASTERIA принимали участие 323 пациента с тяжелой неконтролируемой крапивницей, ранее получавших терапию блокаторами H1-гистаминовых рецепторов. Больные были рандомизированы на группы подкожного введения омализумаба по 75, 150, 300 мг и плацебо каждые четыре недели. За весь период лечения пациенты получили по три инъекции с последующим 16-недельным периодом наблюдения. К 12-ой неделе доля лиц, у которых полностью отсутствовали уртикарная сыпь и кожный зуд (балльная оценка UAS 7 = 0), составила 5% в группе плацебо, в группе омализумаба 75 мг – 16%, в группе омализумаба 150 мг – 22% и в группе омализумаба 300 мг – 44% (p<0,05). Частота нежелательных явлений (синусит, головная боль, артралгии и пр.) была одинаковой во всех группах [37].

В исследовании GLACIAL проводили оценку эффективности и безопасности лечения омализумабом в течение 24 недель пациентов с хронической спонтанной крапивницей, у которых сохранялись симптомы заболевания, несмотря на терапию H1-гистаминоблокаторами в четырехкратной дозе в сочетании с H2-гистаминоблокаторами или антилейкотриеновыми препаратами или в сочетании с двумя этими препаратами. Больные были рандомизированы на две группы – группу плацебо (n = 84) и группу пациентов (n = 252), получавших омализумаб 300 мг каждые четыре недели подкожно. Значительные улучшения состояния пациентов отмечали на 12-й неделе терапии и сохранялись к 24-й неделе. К 12-й неделе в группе омализумаба было значительно больше лиц, у которых зуд и уртикарные элементы отсутствовали полностью (UAS 7 = 0) по сравнению с группой плацебо (34% против 5%, p < 0,001). Общая частота и тяжесть побочных эффектов и серьезных нежелательных явлений были схожи между группами омализумаба и плацебо [38].

В настоящее время омализумаб (Ксолар, Novartis) лицензирован в России для лечения хронической крапивницы, рефрактерной к применению антигистаминных препаратов. Результаты отечественного опыта применения омализумаба в лечении хронической крапивницы опубликованы в 2015 г. В работе Данилычева И.В. и соавт. оценили эффективность и безопасность лечения омализумабом у 17 пациентов. Применение омализумаба привело к полному лечебному эффекту у 70,6% человек, значительному – у 17,7%, оказалось неэффективным – у 11,7%. Нежелательных явлений ни в одном случае не отмечали [39].

По нашим результатам и данным обзора литературы, омализумаб (Ксолар, Novartis) – эффективное и безопасное средство для лечения хронической крапивницы, рефрактерной к применению антигистаминных препаратов в стандартных и четырехкратных дозах.

## ВЫВОДЫ

1. Хроническая крапивница – распространенное заболевание с длительным рецидивирующим течением.

2. Хроническая крапивница поражает лиц трудоспособного возраста, значительно снижает качество жизни.

3. У половины пациентов применение антигистаминных препаратов неэффективно.

4. Омализумаб – эффективное и безопасное средство для лечения хронической крапивницы, рефрактерной к применению антигистаминных препаратов.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Аллергология*. Федеральные клинические рекомендации/ Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. – М.: Фармарус Принт Медиа, 2014. – 126 с.
2. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., et al. The EAACI/GA2LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update// *Allergy*. – 2014. – Vol. 69. – P. 868-87.
3. *Российский национальный согласительный документ «Крапивница и ангиотек»*. Рекомендации для практических врачей/ Под ред. И.С. Гущина, Н.И. Ильиной. Учебное пособие. – М.: Фармарус Принт Медиа, 2007. – 128 с.
4. Silveira M.R.C., et al. Sociodemographic and clinical characteristics, causal factors and evolution of a group of patients with chronic urticaria-angioedema// *San Paulo Med. J.* – 2007. – Vol. 125. – P. 11-12, 24.
5. Zuberbier T., et al. EAACI/GA2 LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria// *Allergy*. – 2009. – Vol. 64. – P. 1417-26.
6. Alan L., Schocket M.D. Chronic urticaria: pathophysiology and etiology, or what and why// *Allergy and Asthma Proceedings*. – 2006. – Vol. 27, №2. – P. 90-95.
7. Колхир П.В. Доказательная аллергология-иммунология. Учебное пособие. – М.: Практическая медицина, 2010. – 528 с.
8. Cantani A. *Allergy, Asthma and Immunology*. – Berlin Springer, 2008
9. Maurer M., Weller K., Bindslev-Jensen C., et al. Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. GA2LEN task force report// *Allergy*. – 2011. – Vol. 66. – P. 314-330.
10. Kaplan A.P. What the first 10 000 patients with chronic urticarial have taught me// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 123. – P. 713-720.
11. Kulthanan K., Jiamton S., Thumpimukvatana N., Pinkaew S. Chronic idiopathic urticaria: prevalence and clinical course// *J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 34. – P. 294-301.
12. Grob J., Revuz J., Ortonne J., et al. Comparative study of the impact of chronic urticaria, psoriasis and atopic dermatitis on the quality of life// *Br. J. Dermatol.* – 2005. – Vol. 152. – P. 289-295.
13. Maurer M., Ortonne J., Zuberbier T. Chronic urticaria: a patient survey on quality-of-life, treatment usage and doctor patient relation// *Allergy*. – 2009. – Vol. 64. – P. 581-588.
14. Mynek A., Magerl M., Hanna M., et al. The German version of the chronic urticaria quality-of-life questionnaire: factor analysis, validation, and initial clinical findings// *Allergy*. – 2009. – Vol. 64. – P. 927-936.
15. Staubach P., Eckhardt-Henn A., Dechene M., et al. Quality of life in patients with chronic urticaria is differentially impaired and determined by psychiatric comorbidity// *Br. J. Dermatol.* – 2006. – Vol. 154. – P. 294-298.
16. Balp M., Vietri J., Tian H., Isherwood G. The impact of chronic urticaria from the patient's perspective: a survey in five European countries// *Springer*, 2015. DOI 10.1007/s40271-015-0145-9
17. Khan D.A. Chronic urticaria: diagnosis and management// *Allergy and asthma proceedings*. – 2008. – Vol. 29, №5. – P. 439-446.
18. Shakouri A., Compalati E., Lang D.M., Khan D.A. Effectiveness of Helicobacter pylori eradication in chronic urticaria: evidencebased analysis using the Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation system// *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 362-369.
19. Wedi B., Raap U., Wiczorek D., Kapp A. Urticaria and infections// *Allergy Asthma Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 5. – P. 10.
20. Deacock. S.J. An approach to the patient with urticaria// *Br. Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology*. – 2008. – Vol. 153. – P. 151-161.
21. Di Lorenzo G., Pacor M.L., Mansueto P., et al. Food-additive-induced urticaria: a survey of 838 patients with recurrent chronic idiopathic urticaria// *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2005. – Vol. 138. – P. 235-242.
22. Kim Z., Choi B.S., Kim J.K., Won D.I. Basophil markers for identification and activation in the indirect basophil activation test by flow cytometry for diagnosis of autoimmune urticaria// *Ann. Lab. Med.* – 2015. – Vol. 36, №1. – P. 28-35. doi: 10.3343/alm.2016.36.1.28
23. Schocet A.L. Chronic urticaria: pathophysiology and etiology, or the and why// *Allergy asthma Proc.* – 2006. – Vol. 27, №2. – P. 90-95.
24. Staevska M., Popov T.A., Kralimarkova T., et al. The effectiveness of levocetirizine and desloratadine in up to 4 times conventional doses in difficult-to-treat urticaria// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125. – P. 676-682.
25. Siebenhaar F., Degener F., Zuberbier T., et al. High-dose desloratadine decreases wheal volume and improves cold provocation thresholds compared with standard-dose treatment in patients with acquired cold urticaria: a randomized, placebo-controlled, crossover study// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 123. – P. 672-679.
26. Gimenez-Arnau A., Izquierdo I., Maurer M. The use of a responder analysis to identify clinically meaningful differences in chronic urticaria patients following placebo- controlled treatment with rupatadine 10 and 20 mg// *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2009. – Vol. 23. – P. 1088-1091.
27. Shankar T., Petrov A. Omalizumab and hypersensitivity reactions// *Curr. Opin. in Allergy and Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 19-24.
28. Holgate S., Casale T., Wenzel S., et al. The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 115. – P. 459-465.

29. *Holgate S., Smith N., Massanari M., et al.* Effects of omalizumab on markers of inflammation in patients with allergic asthma// *Allergy*. – 2009. – Vol. 64. – P. 1728-1736.
30. *Spector S.L., Tan R.A.* Effect of omalizumab on patients with chronic urticaria// *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2007. – Vol. 99. – P. 190-340.
31. *Kaplan A.P., Joseph K., Maykut R.J., et al.* Treatment of chronic autoimmune urticaria with omalizumab// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 122. – P. 569-573.
32. *Gober L.M., Sterba P.M., Eckman J.A., Saini S.S.* Effect of anti-IgE (omalizumab) in chronic idiopathic urticaria (CIU) patients// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121. – P. 147.
33. *Magerl M., Staubach P., Altrichter S., et al.* Effective treatment of therapy resistant chronic spontaneous urticaria with omalizumab// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 126. – P. 665-666.
34. *Groffik A., Mitzel-Kaoukhov H., Magerl M., et al.* Omalizumab: an effective and safe treatment of therapy-resistant chronic spontaneous urticaria// *Allergy*. – 2011. – Vol. 66. – P. 303-305.
35. *Maurer M., Rosen K.E., Hsieh H.J., et al.* Omalizumab for the treatment of chronic idiopathic or spontaneous urticaria// *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368. – P. 924-935.
36. *Kaplan A., Ledford D., Ashby M., et al.* Omalizumab in patients with symptomatic chronic idiopathic/spontaneous urticaria despite standard combination therapy// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 132. – P. 101-109.
37. *Rosén K., Maurer M., Hsieh H., et al.* Response to: 'Omalizumab for the treatment of chronic idiopathic or spontaneous urticaria: a critical appraisal'// *Br. J. Dermatol.* – 2014. – Vol. 171, №1. – P. 15- 27.
38. *Kaplan A., Ledford D., Ashby M., et al.* Omalizumab in patients with symptomatic chronic idiopathic/spontaneous urticaria despite standard combination therapy// *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 132, №1. – P. 101-109.
39. *Данилычева И.В., Елисютина О.Г., Ильина Н.И и соавт.* Отечественный опыт лечения омализумабом пациентов с хронической крапивницей// *Росс. аллергологический журнал*. – 2015. – №3. – С. 13-18.

Поступила в редакцию журнала 17.12.2015

Рецензент: Е.В. Фролова



# ПРОНИКНОВЕНИЕ *ASPERGILLUS FUMIGATUS* ЧЕРЕЗ КЛЕТКИ ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ МЫШЕЙ

<sup>1</sup>Степанова А.А. (зав. лаб.), <sup>2</sup>Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), <sup>2</sup>Ямагучи М. (адъюнкт-профессор), <sup>2</sup>Чибана Ш. (профессор), <sup>1</sup>Босак И.А. (с.н.с.)

<sup>1</sup>НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Центр исследований по медицинской микологии, Университет г. Чибя, Япония

©Коллектив авторов, 2015

В работе представлены данные относительно характера проникновения гиф *Aspergillus fumigatus* через клетки эпителия бронхов легких мышей в ходе моделирования экспериментального аспергиллеза. Показано, что проникновение гиф гриба через клетки бронхиального барьера протекало двумя путями: 1) через межклеточное пространство клеток слизистого слоя; 2) путем фагоцитозоподобной активности и последующего участия клеток слизистого слоя. Исход взаимодействия между клетками гиф гриба и хозяина может быть разным: клетки хозяина могут разрушать клетки гиф и, напротив, клетки гиф гриба могут разрушать клетки хозяина. В изученном случае для клеток эпителия бронхов был характерен разный уровень «иммунного статуса». Показано, что способность клеток слизистого слоя легких поглощать гифы гриба является важной для последующего развития инфекции так же, как и для ее предотвращения. Полученные результаты представлены в контексте строения клеток гиф и хозяина.

**Ключевые слова:** *Aspergillus fumigatus*, клетки эпителия бронха, трансмиссионная электронная микроскопия, *in vivo*, легкие мышей, проникновение, ультраструктура гиф

# THE *ASPERGILLUS FUMIGATUS* PENETRATION THROUGH THE CELLS OF MURINE TRACHEOBRONCHIAL EPITHELIUM CELLS

<sup>1</sup>Stepanova A.A. (head of the laboratory), <sup>1</sup>Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the chair), <sup>2</sup>Yamaguchi M. (grand-fellow), <sup>2</sup>Chibana H. (associated professor), <sup>1</sup>Bosak I.A. (senior scientific collaborator)

<sup>1</sup>Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia; <sup>2</sup>Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chiba, Japan

©Collective of authors, 2015

The ultrastructural data about the patterns of penetration of the *Aspergillus fumigatus* hyphal cells across the cells of tracheobronchial epithelium in murine lung during modelling of the experimental aspergillosis presented. It was shown that the penetration of hyphae through the host bronchial barrier occurred in two ways: 1) across the intercellular space of the cells of mucous layer; 2) by phagocytosis-like activity and by penetration into cells of bronchial mucous layer. The fate of the interactions between the hyphal cells and host mucous layer cells may be different: the host cells may be destroyed the hyphal cells and contrary - hyphal cells may destroyed the host cells. In studied case for the cells of murine tracheobronchial epithelium

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

typical different levels of «immune status» were found. Capacity of the murine cells in bronchial mucous layer to internalize fungal hyphae was found to be important for subsequent development of disease as well as for preventing the disease. The data obtained are presented in the context of hyphal cells and host cells fine structure.

**Key words:** *Aspergillus fumigatus*, tracheobronchial epithelium cells, transmission electron microscopy, *in vivo*, murine lung, penetration, hyphal ultrastructure

## INTRODUCTION

Previously some of the authors of presented work have investigated the ultrastructural aspects of the morphogenesis on the example of the model pathogenic strain of *Aspergillus fumigatus* Fres. (RCPGF-1172) *in vitro* [1-5] and *in vivo* [6]. In the last work was presented data according the comparative ultrastructural analysis of a hyphal cell morphogenesis of cultural and tissular forms of this fungal strain [6]. It was actually to continue this investigation, with using the methods of TEM and study in details the dynamics of the interactions between the murine alveolar macrophages with *A. fumigatus* *in vivo* condition. The lung was the main site for infection caused with aspergillus species and therefore alveolar macrophages was the major resident cells which participated in phagocytosis of *Aspergillus fumigatus* [Latgé J.-P. // Clin. Microbiol. Rev. – 1999. – Vol. 12, №2]. The cytological aspects of this process were investigated with using light microscope and on example of fungal conidia [7; Latgé J.-P. // Clin. Microbiol. Rev. – 1999. – Vol. 12, №2; Paris S., et al. // Infect. Immun. – 1997. – Vol. 65; et al.]. Before this time the data about ultrastructural aspect of this interaction with using (TEM) was made *in vivo* on example of avian respiratory macrophages [8] and murine alveolar macrophages [Philippe B., et al. // Infect. and Immun. – 2003. – Vol. 71, №6] and *in vitro* on example of the murine macrophages [Ibrahim-Granet O., et al. // Infect. and Immun. – 2003. – Vol. 71, №. 2]. In this paper we present data about the first and very important stage of fungal infection process of pathogenesis in murine lung – penetration through the tracheobronchial epithelium cells.

## MATERIALS AND METHODS

The model of experimental aspergillosis was reproduced by the technique presented in the work of Balloy V. with coauthors [9] on mice – males of the Balb line weighing 18-20 g in 5 multiple frequencies. According to Latgé J. - P. [Latgé J.-P. // Clin. Microbiol. Rev. – 1999. – Vol. 12, №2] *A. fumigatus* becomes pathogenic only at the immunosuppressed host. Therefore for immunity suppression before 3 days of beginning experiments intraperitoneal entered the hydrocortisone suspension in the amount 0,01 ml on 1 g of animal weight.

Mouse were infected intranasal with conidia ( $1 \times 10^7$  in 0,05 ml of the distilled water) of clinical *A. fumigatus* isolate (RKPGF-1172, Russian collection of pathogenic fungi of Kashkin Research Institute of Medical Mycology). The fungal cultures were growth during 7 days at 37 °C on Saburo's agar (pH 5,7).

Earlier [5] we shown that after 6 hours of mature conidia incubation at 37 °C on liquid Capek's medium of the frequency of the germinated conidia of this aspergillus strain were equal 90,6%. Autopsy of the mouse was carried out after 5 days of the beginning of experiments, so that we note the death of 20% of them from total number. The pieces of the murine lung were fixed with glutaraldehyde-osmium by the technique described previously [1].

Ultrathin sections were cut on the LKB V ultramicrotome, contrasted with uranyl acetate and citrate of lead and then investigated in a TEM Jem 100SX II (Japan, Tokyo).

## RESULTS AND DISCUSSION

It may important note, that after 5 days of the beginning experiments we often revealed pictures of hyphal penetration through the cells of tracheobronchial epithelium, including death mice. In the last layer we revealed the intact cells and on different stage of destruction, which correlated with presence of fungal hyphae in its intercellular space and inside its cytosol. In the bronchial lumen the mature or germinated conidia were not revealed. The mean diameter of intact hyphal cells, which participate in process of penetration, was equal 2-3  $\mu\text{m}$ , what was typical for in vitro [1] and in vivo [6] growing hyphal cells of the investigated strain. But we observed the hyphal profiles in the cells of tracheobronchial epithelium, which: 1) may «slide» on a surface of the cells of tracheobronchial epithelium ciliates (Fig. 1 a); 2) penetrate across the intercellular space (Fig. 1 b-d) of the cells of the cells of tracheobronchial epithelium; 3) were on different stages of a phagocytosis (Fig. 1 e, f); 4) localized inside the cytosol (Fig. 1 q - l, 2 a-c) and situated on different stages of «confrontation strategy». In the last case the amount of the hyphal profiles on the host cell sections varied from 1 to 5.

As it was obvious (Fig. 1 a), the contact of the hypha with the surface of the ciliates of the cells of tracheobronchial epithelium may be fatal for underlying cells. This hyphal cells contain numerous ellipsoidal nuclei (0,9-1,2  $\mu\text{m}$ ) single or in small groups. Polymorphic mitochondria and small sized vacuoles presented in moderate quantity. Mitochondria uniform oriented in the section of hyphae, small sized (from 0,2 to 0,3  $\mu\text{m}$ ) and with dark matrix and light cristae. Vacuoles, as a rule, localized near cell wall (Fig. 1 a). Nucleus contain the randomly distributed diffuse chromatin and one large (0,3  $\mu\text{m}$ ) active nucleolus, which localized near its envelope. The cytosol was median electron density and posses with numerous free ribosomes. The storage substances were absent. We not revealed single cistern Golgi and secretory vesicles. Cisterns of endoplasmic reticulum also present in minor number. The cell walls were thin (0,2  $\mu\text{m}$ ), light and covered with dark extracellular matrix variable in size (from 0,2 to 0,8  $\mu\text{m}$ ) which more thin in the site of hyphal contact with the cells of tracheobronchial epithelium (Fig. 1 a). As it was visible on fig. 1 a, the hyphal contact with the ciliates of the cells of tracheobronchial epithelium (arrows) case its destruction (double arrows). In the underlying cell of tracheobronchial epithelium nucleus oriented in its apical part. It was without envelope and with the future of pycnotic degeneration. Cytosol in basal part of cell absent, higher vacuolated, contain numerous destroying mitochondria and microvacuoles. Components of the endomembrane system were absent.

Hyphal penetration in direction of the lung tissue across the intercellular space followed with formation of the wide light space (Fig. 1 b, d, single arrow) between hyphae and host plasma membrane. In some hyphae may be possible observed the formation of large vacuoles (Fig. 1 b). Another future of the hyphal ultrastructure was the reduction in the thickness of the extracellular matrix (Fig. 1 b-d) before partially (Fig. 1 c) and fully (Fig. 1 b, d) disappearance. The fig. 1 c demonstrated that its

elimination pass not simultaneously. We assume that the formation of wide space between the hyphal cells and the cells of tracheobronchial epithelium caused by the presence of them secondary metabolites, ferments and perhaps, slime which presence very important for hyphal movement during penetration.

The next way of hyphal cells penetration in lung tissue across the cells of tracheobronchial epithelium – by using phagocytosis. The early stage of this process – adhesion, was presented on fig. 1 e and more advanced on fig. 1 f. Hyphae, which involved in this process, may be without (Fig. 1 e) and with extracellular matrix (Fig. 1 f). The final result of the interactions between the hyphal cells and host mucous layer cells may be different: 1) the host cells may destroy the hyphal one (Fig. 1 q-i); 2) hyphal cells may destroy the host ones (Fig. 1 j - l, 2 a-c). Specific future of hyphal cells «accommodation» inside the host cells was the presence of the host cell plasma membrane (Fig. 1 q) around hyphae and absence of wide light spaces between them. On fig. 1 f possible see that in the area of the initial contact the hyphal and host cells cytosol of last clarify and plasma membrane to get the irregular contour (triple arrows).

During the first pattern of interaction the presence of active process of the gradual «stripping» of hyphal cells from extracellular matrix (Fig. 1 q-k) obvious. The thickness of the hyphal cell wall later was decrease. The diameter of hyphal cell also significantly decrease (Fig. 1 h, i). Simultaneously the cell wall rigidity also reduced. The contrast of hyphal cells organelles significantly decreased. Thus, the destruction of fungal cell wall becomes affordable for fully destroying and elimination inside of the host cell. It was important note that in cytosol of host cell around the «capturing» cells of hyphae the microvacuoles absent, but present numerous secretory vesicles with dark granule (Fig. 1 g). In literature [Paris S., et al. // Infect. Immun. – 1997. – Vol. 65] present data that *A. fumigatus* conidia were able to be engulfed by tracheal epithelial, alveolar type II, and endothelial cells cultures.

During the second pattern of interaction the first indicator of beginning the catabolic destructive process in the cells of tracheobronchial epithelium was the changes in the structure of its nucleus: the nucleoplasm clarify and fully disappeared. The sequential stages of this process presented on fig. 1 j - l, 2 a, b. The nuclear envelope often developed variable in size light expansions (Fig. 2 a, arrow). At the first time we revealed the destruction of diffuse chromatin (Fig. 1 j, k) and later – condensed (Fig. 1 l). Topographically the close contact of hyphal elements with the host cell nuclei result their faster destruction (Fig. 1 l, 2 b). Later cytosol undergo clarification (Fig. 2 c). The mitochondrial cristae disintegrated (Fig. 2 a) so that this components turn in vacuoles. The fact that the number of cellular components not significantly reduced during this catabolic process in the cells of tracheobronchial epithelium, they may indicate about the higher speed of this process correlated with higher temp of fungal growth. In this case plasma membrane of host cells may be in close contact with internal hyphae (Fig. 1 j, l, 2 c). Sometimes the space between the hyphae and host plasma membrane may be light and thin (Fig. 1 k, arrow) or wide and variable in thickness (Fig. 2 d, double arrows). Very rare in this case we also revealed the presence of fibrillary ring (Fig. 1 j, arrows) in the cells of tracheobronchial epithelium cytosol around the hyphae. Perhaps, the destroyed cells of tracheobronchial epithelium

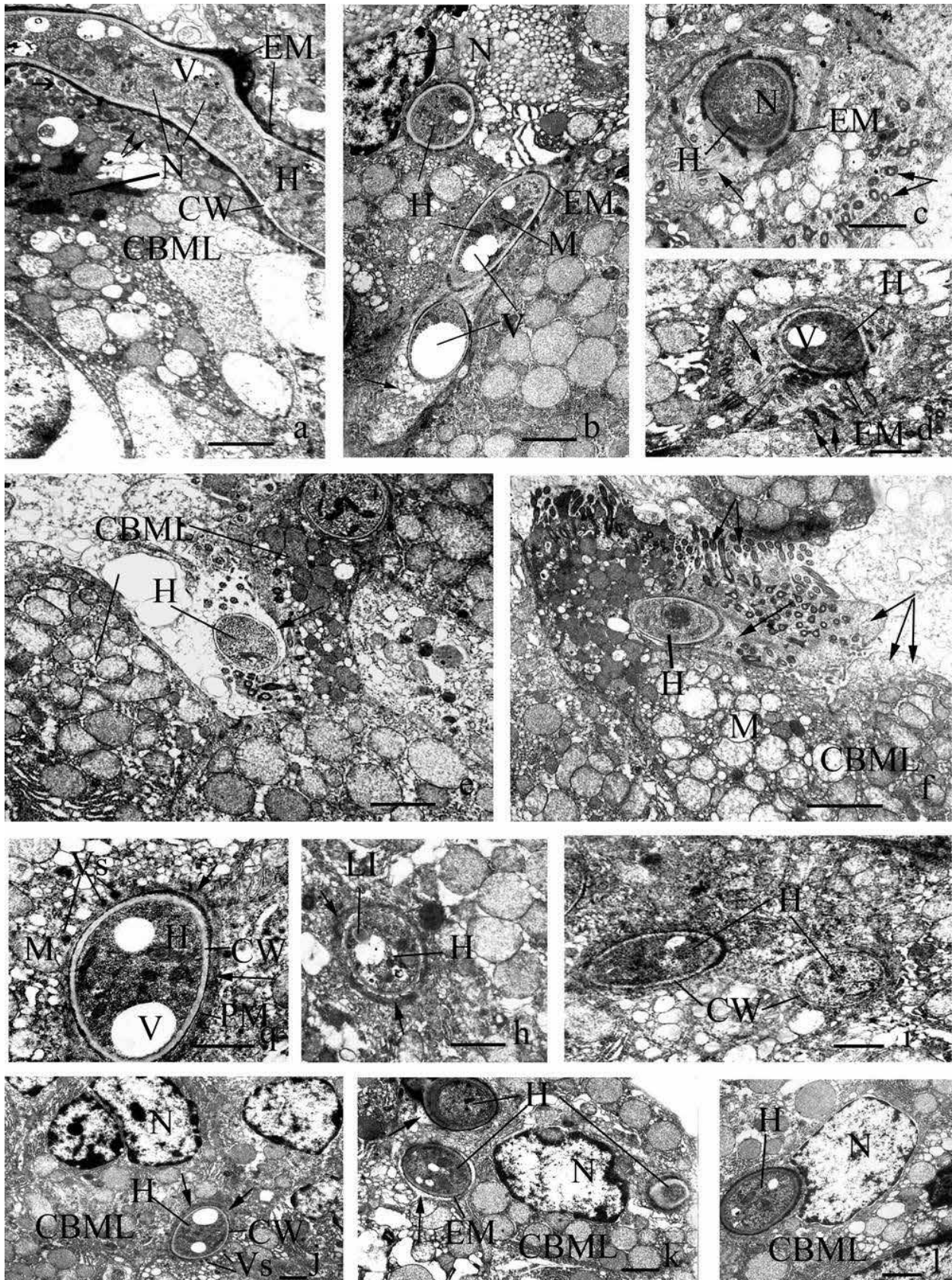


Fig. 1. Transmission electron microscopy of the *A. fumigatus* hyphal cells and tracheobronchial epithelium in the murine lungs after 5 days of beginning experiments. Explanation for this and figure 2: BP – basal plate; CBML – cell(s) of the bronchial mucous layer; CW – cell wall, EM – extracellular matrix; H – hypha; LI – lipid inclusions; M – mitochondrion(a); Mc – macrophage; N – nucleus; PM – plasma membrane; V – vacuole; Vs – vesicles. a – single ↑ demonstrated living elements of ciliated layer and double ↑ – with destroyed internal part; b – single ↑ demonstrated the intercellular space; c – single ↑ show the intercellular space; d – single ↑ demonstrated the intercellular space and double ↑ – ciliates, f – single ↑ show the “fold” of the cell of the bronchial mucous layer formed during the process of phagocytosis of hyphae; q, h, j – single ↑ demonstrated the fibrillary ring; k – ↑ show the space between the host cell plasma membrane and hyphae. Scale: a – f – 2 μm; q – 0,5 μm; d, h – l – 1 μm.



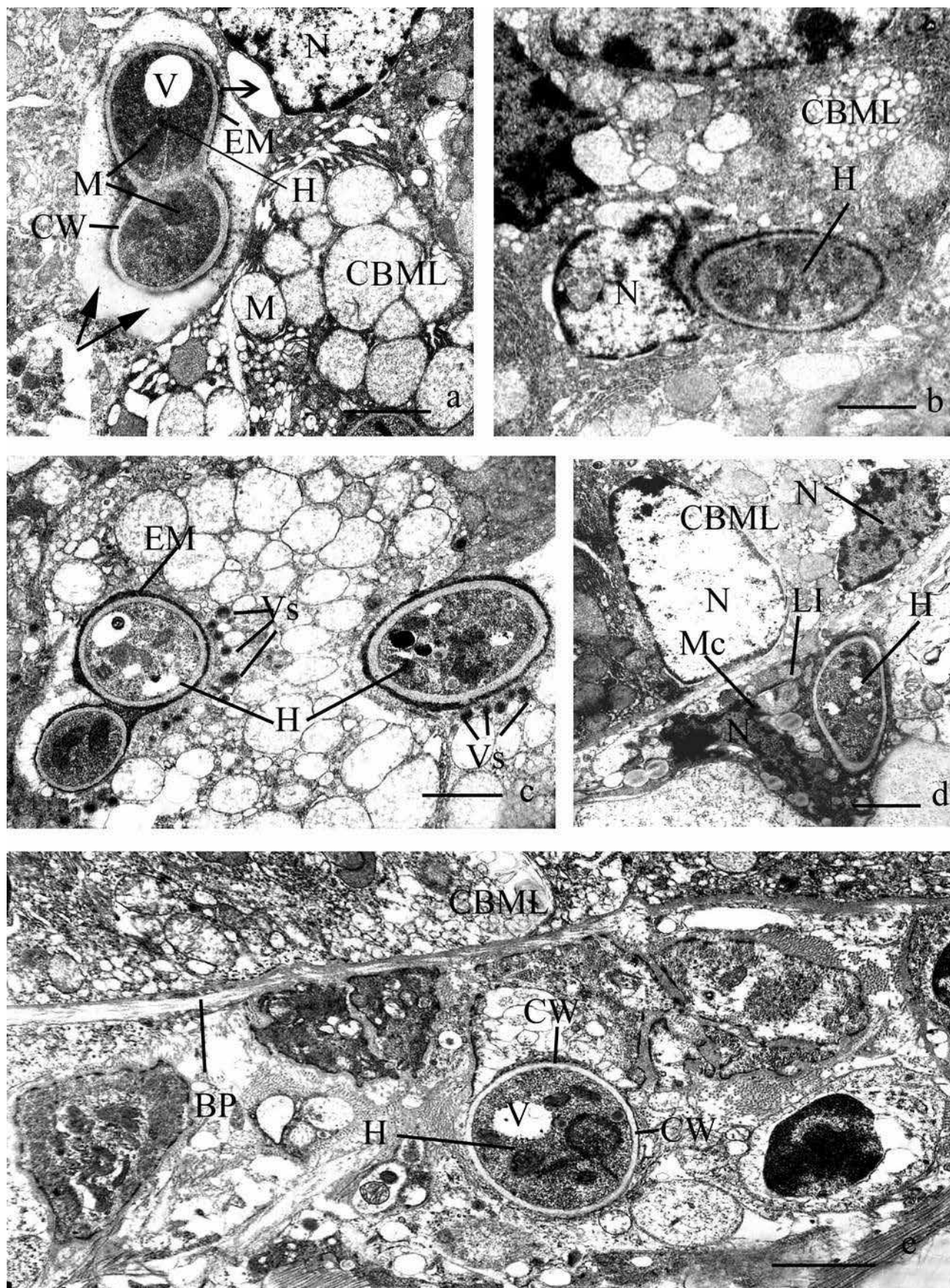


Fig. 2. Ultrastructure of the *A. fumigatus* hyphal cells and tracheobronchial epithelium in the murine lung after 5 days of beginning experiments. a - single ↑ show the expanded perinuclear space and double one - the space the host plasma membrane and hyphae. Scale: a - l - 1 μm.

represent the «easy» site for secondary penetration of hyphal cells across this layer. But in our opinion the route of the penetration across the living host cells give pathogenic fungi medium from which they obtain nutrition for active growth, development and completion of penetration. For example, we may see presence of lipid globules in the hyphal cells localized inside the cells of tracheobronchial epithelium (Fig. 1 h, 2 e) or after its «fortunate» penetration across this layer (Fig. 2 a). Obvious that this storage substances accumulated during destruction of host cells and absorption of «products» of its damage. In this pattern interaction between the hyphal elements and host cells we revealed the presence of numerous secretory vesicles (0,5-1,5 µm) with dark homogenous granule in area of its contact (Fig. 1 j). This vesicles more easy revealed in the destroying cells of tracheobronchial epithelium without cytosol (Fig. 2 c). Specific peculiarities of host cell cytosol for two described before patterns of interaction, which surround the «capture» hyphae was the presence in close contact with host plasma membrane the fibrillar ring (Fig. 1 q, j, arrows). Besides with possible protective functions of this fibrillar ring we suggested its motive activity for the aim of translocation of hyphal elements inside the host cell.

Sometimes we revealed the single hyphal profiles under the basal plate of destroying cells of the cells of tracheobronchial epithelium (Fig. 2 e). It was obvious, that in the hyphal and bronchial mucous layer cells confrontation finished with the «win» of first one. But it was obvious that the common attribute of penetrating hyphal cells – extracellular matrix around this hyphal cell absent. We suggest that the extracellular matrix lose during process of penetration through the «living» host lung barrier. The future of such kind hyphal cells may be different: 1) they may continue active growth, invasion and destruction of murine lung tissue; 2) they may be ingested with macrophages (Fig. 2 d) which «expect its enemy» and localized in close contact under basal plate of the destroying bronchial mucous layer.

In our case after 5 days of the beginning experiments, the main attack from the side of *A. fumigatus* across the first host lung barrier – the cells of tracheobronchial epithelium provide hyphal elements, what give us possibility suggest that mature conidia of the inoculum undergo germination in the directly in the bronchial gleam. But the participation of germinating conidia in penetration of fungal infection in more early time of beginning infection not possible exclude.

Thus, according our data in the applied dose of hydrocortisone some cells of the bronchial mucous layer may kill penetrated hypha, but another – not may. This data indirectly demonstrated differences in the level of «immunity» between the cells of tracheobronchial epithelium. Perhaps revealed distinctions can be connected with physiological «age» of the cells of the lung bronchial barrier and the number of hyphae inside them. But in whole, in our case during this «opposition» the pathogenic fungi was «win», invasive infection was developed in murine lung [6] and what evidently correlated with the death of part of mice in our experiments. Capacity of the murine cells bronchial mucous layer to internalized fungal hyphae important as for subsequent development of disease as well as for preventing of last. Thus, functional role of this type of cells in struggle with fungi possible named «two-faced Janus». Perhaps the cells of murine lung

bronchial mucous layer play the same role in respect of another microorganisms and in human they play the same functional role.

The penetration of the hyphal elements across the bronchial mucous layer may pass through intercellular space and host cell content. In both this variants the host cells may be destroyed or to remain in living condition. Also the intercellular space of destroyed cells and himself destroyed one may present secondary more easy «route» for fungal penetration in murine tissue. Investigated in this work of *A. fumigatus* strain, as we show previously, give invasive form of aspergillosis [6]. According the main cytological peculiarities the pathogenic fungi hyphal cells which pass across the cells of bronchial mucous layer and growing in murine lung tissue [6] were very identical for exception that the last one developed giant mitochondrion more wide extracellular matrix. This last layer was typical for in vitro growing submerged cells [1, 10] and in vivo in murine lung of the same strain of *A. fumigatus* [6] and another one [11]. In mouse lung tissue after 5 days of beginning experiment the hyphae of the same strain RKPGF-1172 developed in 2 – 6 times more thick extracellular matrix in comparison with cell wall [6]. The same thickness was typical for the extracellular matrix of mature hyphal cells of this species, which infected the human lung [10, 12]. So that during penetration hyphal cells through the bronchial mucous layer the extracellular matrix, as a rule, was destroyed, we suggest that the host cells possess with strong ferments system which dissolved melanin and chitin of cell walls in composition of this layer and suggest the participation of secretory vesicles with dark granule in this process. It was interesting note that elements of endomembrane system in the different age hyphae of studied *A. fumigatus* strain growing in vitro [1] and in vivo [6] also present in minor quantity, the single cisterns of Golgi absent and light secretory vesicles very rare. This data about morphological criterion not active condition of the components of endomembrane system in actively growing hyphal cells of our model object with its destructive function which in eukaryotic cells participate in the cells growth, synthesis and secretion of hydrolytic ferments support the opinion of Vasilyev A.E. with coauthors [Камалетдинова Ф.И., Васильев А.Е. Цитология дискомицетов, 1982; Васильев А.Е. // Ботан. журн. – 1985. – Т. 70, №9; Степанова А.А., Васильев А.Е. Ультраструктурные основы морфогенеза шляпочных грибов, 1994] that in fungi the elements of the endomembrane system in evolution meaning belong on the stage of functional specialization. Thus, in this organism present alternative mechanism of synthesis and secretion – as eukaryotic with participation of endomembrane system and prokaryotic (with participation of plasma membrane, cytosol and free ribosomes). The presence of prokaryotic mechanism of secretion and synthesis of ferments give fungi «preference» and considerably increase its ability to active growth and destruction of substrate (including host tissue) in extremal condition. Thus, at the first time Vasilyev A.E. [Васильев А.Е. // Ботан. журн. – 1985. – Т. 70, №9] propose consider fungi as «mesokaryotes».

Also if to be strict, internal localization of hyphal cells in host cell not possible call as «phagosome/phagolysosome», as in the case with bacteria, yeast cells or conidia. We suggest another terminology for this case – «hyphasoma/hyphalysosome». This terminology actually used and for description of interaction between the cells of immune

system and fungal hyphae.

It was actually to continue the started research and investigate the peculiarities of interaction of model *A. fumigatus* strain with the cells of murine lung immune system.

## RESUME

1. In studied case for the cells of murine tracheobronchial epithelium typical different level of «immune status». Capacity of the murine cells bronchial mucous layer to internalized fungal hyphae important as for subsequent

development of disease as well as for preventing of last.

2. Penetration of the *A. fumigatus* hyphae through the host bronchial barrier pass with two ways: 1) across the intercellular space of the cells of tracheobronchial epithelium; 2) with using of phagocytosis-like (hyphacytosis) activity and then across himself cells of bronchial epithelium.

3. The fate of the interactions between the *A. fumigatus* hyphal cells and the same of bronchial epithelium may be different: the host cells may be destroyed the hyphal one and contrary - hyphal cells may destroyed the host ones.

## REFERENCES

1. Степанова А.А., Сеницкая И.А., Авдеенко Ю.Л. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus fumigatus* // Проблемы мед. микологии. – 2004. – Т. 6, №3. – С. 34-40.
2. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Цитологическое изучение морфогенеза конидиогенного аппарата *Aspergillus fumigatus* // Проблемы мед. микологии. – 2005. – Т. 7, №3. – С. 41-49.
3. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Ультраструктурные аспекты старения клеток некоторых видов рода *Aspergillus* // Проблемы мед. микологии. – 2009. – Т. 11, №4. – С. 24-29.
4. Степанова А.А., Сеницкая И.А. Некоторые аспекты цитологического изучения прорастающих конидий *Aspergillus fumigatus* Fres. // Проблемы мед. микологии. – 2010. – Т. 12, №2. – С. 134.
5. Stepanova A.A., Sinitckaya I.A. Cytological investigations of *Aspergillus fumigatus* germinating conidia // J. Проблемы мед. микологии. – 2012. – Т. 14, №2. – С. 43-53.
6. Степанова А.А., Босак И.А., Сеницкая И.А. Цитологическое исследование *Aspergillus fumigatus* в легких мышей // Проблемы мед. микологии. – 2013. – Т. 15, №1. – С. 52-58.
7. Dagenais T. R. T., Keller N.P. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis // Clin. Microbiol. Rev. – 2009. – Vol. 22, №3. – P. 447-465.
8. Van Waeyenberghe L., Pasmans F., D'Herde K., et al. Germination of *Aspergillus fumigatus* inside avian respiratory macrophages is associated with cytotoxicity // Veterinary Research. – 2012. – Vol. 43, №1.
9. Balloy V., Huerre M., Latgé J.P., Chignard M. Differences in patterns of infection and inflammation for corticosteroid treatment and chemotherapy in experimental invasive pulmonary aspergillosis // Infect. and Immun. – 2005. – Vol. 73, №1. – P. 1-15.
10. Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Zhang F., et al. Electronmicroscopic investigations of invasive aspergillosis, caused with *Aspergillus fumigatus* // Проблемы мед. микологии. – 2015. – Т. 17, №3 – P. 38-41.
11. Loussert C., Schmitt C., Prevost M.-C., et al. In vivo biofilm composition of *Aspergillus fumigatus* // Cell. Microbiol. – 2009. – Vol. 12. – P. 405-410.
12. Степанова А.А., Васильева Н.В., Борзова Ю.В. и др. Электронно-микроскопическое изучение аспергиллеза легких человека на примере архивного материала// Проблемы мед. микологии. – 2013. – Vol. 16, №3. – P. 70-79.

Поступила в редакцию журнала 25.11.2015

Рецензент: Корнишева В.Г.



## МИКОБИОТА ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ СОВРЕМЕННОЙ ПОСТРОЙКИ С ОЧАГАМИ ГРИБКОВОЙ БИОДЕСТРУКЦИИ

Халдеева Е.В. (зав. лаб.)\*, Глушко Н.И. (с.н.с.), Лисовская С.А. (в.н.с.), Паршаков В.Р. (н.с.)

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Казань, Россия

©Коллектив авторов, 2015

*Провели изучение микобиоты 60 жилых помещений современной постройки с очагами грибковой биодеструкции. Определен качественный состав микобиоты воздуха и очагов биодеструкции. Отмечено, что качественный состав микобиоты воздуха может отличаться от микобиоты очагов. Выполнено исследование поверхностных и глубинных очагов биоповреждения, показаны качественные и количественные различия их микобиоты. Представлены результаты оценки эффективности строительных фунгицидов.*

**Ключевые слова:** биодеструкция, грибы-биодеструкторы, микобиота, микромицеты

## MYCOBIOTA OF MODERN-BUILT LODGINGS WITH BIODAMAGES

Khaldeeva E.V. (head of the laboratory), Glushko N.I. (senior scientific researcher), Lisovskaya S.A. (leading scientific researcher), Parshakov V.R. (scientific researcher)

Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia

©Collective of authors, 2015

*Mycobiota of 60 modern-built lodgings with biodamages was investigated. Qualitative composition of mycobiota of air and surface points of biodamages was defined. It was noted that air mycobiota composition may differ from surface. The study of surface and deep points of biodeterioration shows the qualitative and quantitative differences in their mycobiota. The results of evaluation of the effectiveness of building fungicides are presented.*

**Key words:** biodestruction, biodestructors, fungi, mycobiota, micromycetes

## ВВЕДЕНИЕ

Проблеме качества микологической обстановки жилых помещений и ее влияния на здоровье человека необходимо уделять серьезное внимание. Интерес к этой проблеме возник относительно недавно. Первоначально основное внимание уделяли оценке присутствия потенциально патогенных грибов в воздухе лечебных учреждений, в которых постоянно находятся люди со сниженным иммунитетом, что создает риск развития микозов [1-4]. Позднее исследования были распространены на различные общественные и производственные помещения, поскольку микогенная контаминация в них может неблагоприятно повлиять на здоровье человека [5-7].

В последнее время микологический мониторинг офисных и жилых помещений приобрел особую актуальность. Это обусловлено, в первую очередь, поисками причин «синдрома больного здания» (sick building syndrome), а также building-related illnesses [8]. Одной из возможных причин «синдрома больного здания» считают микогенную контаминацию помещений, в частности, в виде биоаэрозоля, включающего в себя споры грибов, их метаболиты, в т.ч. микотоксины, летучие органические соединения, (1-3)-β-глюкан [8].

Микогенная контаминация помещений является одним из факторов риска развития инфекционных и аллергических заболеваний человека. Наличие пораженных грибами строительных и отделочных материалов способствует контаминации воздуха спорами и летучими метаболитами грибов, что может негативно сказаться на здоровье людей, пребывающих в этом помещении длительное время.

Проблему грибкового поражения зданий и сооружений традиционно рассматривали как неотъемлемый признак старых построек. Однако в последние годы отмечают значительное ухудшение микологической обстановки в помещениях современной постройки. Это выражается в увеличении видового разнообразия и уровня обсемененности грибами, а также в распространении процессов биодеструкции на современные здания. Одна из причин – использование новых синтетических материалов, которые служат субстратом для роста грибов-микромицетов и бактерий, в том числе – обладающих биоразрушающей способностью.

В связи с этим, представляло интерес провести систематизацию результатов микологического обследования жилых помещений, расположенных в домах постройки 2000-2013 гг. с современной внутренней отделкой, с целью изучения видового состава микобиоты.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования отбирали пробы воздуха, смывы и соскобы с поверхности и в глубине пораженных участков стен. Для забора проб воздуха использовали аспирационный метод с применением пробоотборника ПУ-1Б, а также седиментационный метод. Пробы из очагов отбирали в стерильные пробирки с последующим суспендированием в воде и количественным высевом на три питательные среды: агары Сабуро и Чапека, а также на мясо-пептонный агар для выделения бактерий.

Культивирование грибов проводили при 28 °С в течение 10 суток. Количество выросших микроорга-

\* Контактное лицо: Халдеева Елена Владимировна, Тел.: +7 (843)2365659

низмов пересчитывали на 1 грамм взятого материала или на 1 дм<sup>2</sup> площади. Грибы определяли общепринятыми морфологическим и микроскопическим методами. Идентификацию осуществляли с помощью определителей грибов, руководств по микологии: «Определитель патогенных и условно-патогенных грибов» (Саттон Д. и др., 2001) и «Каталог микромицетов-биодеструкторов полимерных материалов» (Лугаускас А.Ю. и др., 1987).

Использовали препараты «Триосепт», «Неомид Биоремонт», «УльтраДез», «Кеми-сайд», «СТ-99», «Биопаг Д», «Полисепт». Для оценки эффективности фунгицидной обработки на образцы гипсокартона, пластика и штукатурки наносили суспензию спор *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Chaetomium globosum* и обрабатывали противогрибковым препаратом методом распыления. Эффективность обработки оценивали после 1 и 24-часовой экспозиции препарата по сохранению жизнеспособности спор при последующих высевах на питательную среду в смывах стерильной дистиллированной водой с обработанных материалов (гипсокартон, пластик, штукатурка) [9]. Противогрибковые препараты применяли в рекомендованных производителями концентрациях.

Провели микологическое обследование 60 квартир, расположенных в различных районах г. Казани, в домах постройки 2000-2013 гг. Все квартиры были жилыми, с современным ремонтом и мебелью. Среди обследованных квартир 45 (75%) расположены на верхних этажах домов, 11 (18,3%) – на средних и 4 (6,7%) – на нижних. Площадь обследованных квартир варьировала от 40 м<sup>2</sup> до 260 м<sup>2</sup>. Отметим, что среди домов, в которых расположены данные квартиры, были объекты, сданные по программе ликвидации ветхого жилья и социальной ипотеке, объекты коммерческой застройки с типовыми квартирами, а также элитные жилые комплексы со свободной планировкой квартир. В большинстве случаев очаги грибковых поражений отмечали на наружных стенах в местах межпанельных швов, на откосах вокруг пластиковых окон, на потолке квартир верхних этажей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При обследовании воздуха жилых помещений с очагами грибковой биодеструкции выявили преобладание различных видов рода *Penicillium* spp. (100%), в том числе: *P. chrysogenum* (53,3%), *P. tardum* (40%), *P. funiculosum* (20%). Грибы рода *Aspergillus* обнаружили в 80% квартир, причем чаще всего отмечали присутствие в воздухе *A. terreus* (43,3%) и *A. niger* (50%). Отметим, что выявление *A. niger* в воздухе коррелировало с результатами обследования очагов биодеструкции (Рис. 1).

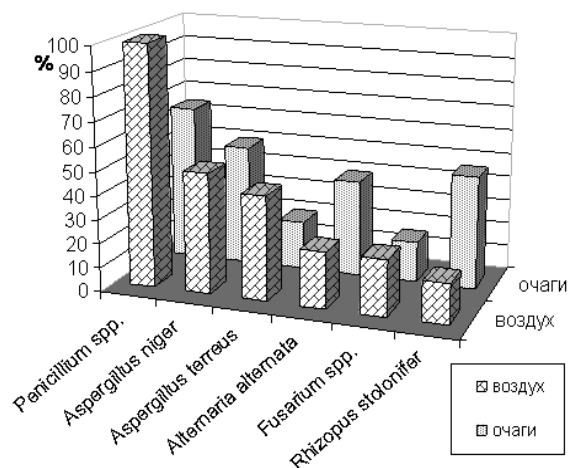


Рис. 1. Распространение микромицетов в воздухе жилых помещений и очагах биодеструкции

Виды *A. fumigatus* и *A. flavus* в воздухе наблюдали в единичных случаях, хотя на поверхности очагов их обнаруживали значительно чаще. Также в воздухе 23,3% квартир отмечали *A. alternata*, с той же частотой выявляли виды рода *Fusarium*, реже – *Rhizopus stolonifer* (16,7%) и *Neurospora sitophyla* (10%). В очагах биодеструкции виды *R. stolonifer* и *A. alternata* встречались значительно чаще, а *Fusarium* spp. и *N. sitophyla* – реже. В единичных случаях в воздухе присутствовали *Acremonium atra*, *Cladosporium herbarum* и *Trichoderma viride*. Уровень микогенной контаминации воздуха варьировал в пределах  $2 \cdot 10^2$ – $1 \cdot 10^4$  КОЕ/м<sup>3</sup>. При этом наибольшее количество грибов отмечали в воздухе новых квартир, расположенных в домах не старше 2 лет, что, вероятно, связано с массовым проведением ремонтов и, как следствие, повышенным уровнем пыли. В жилых помещениях без очагов биодеструкции микобиота воздуха была представлена практически теми же видами грибов, а уровень микогенной контаминации варьировал от 20 до  $1 \cdot 10^3$  КОЕ/м<sup>3</sup>, хотя в отдельных случаях достигал  $5 \cdot 10^3$  КОЕ/м<sup>3</sup>.

При сопоставлении уровня микогенной контаминации воздуха и относительной влажности воздуха показано, что в случае повышения относительной влажности воздуха до 55-60% имело место снижение количества спор в воздухе квартир (до 2-5 раз). Так, в одной квартире в помещении со свежими протечками (относительная влажность 60%) наблюдали грибковую контаминацию воздуха на уровне 260 КОЕ/м<sup>3</sup>, а в смежной комнате (относительная влажность 42%) – 800 КОЕ/м<sup>3</sup>. Величина очагов биодеструкции незначительно влияла на количественные параметры микобиоты. В частности, при обследовании двух смежных квартир, в одной из которых площадь очага биодеструкции (на смежной стене) составляла около 2 м<sup>2</sup>, а в другой – не более 100 см<sup>2</sup>, отмечали присутствие в воздухе 600 и 540 КОЕ/м<sup>3</sup> соответственно.

При обследовании очагов биоповреждения в жилых помещениях современной постройки (60 квартир, 300 проб) выявили, что доминирующими видами были *P. chrysogenum* (40%), *R. stolonifer* (46,7%), *A. niger* (50%), которые обнаруживали в количестве  $10^2$ – $10^3$  КОЕ/дм<sup>2</sup>. Эти же виды находили и в очагах, но в большем количестве (до  $10^5$  КОЕ/дм<sup>2</sup>). Кроме того, в очагах биодеструкции часто устанавливали *Acremonium* spp. (53,3%), *A.*

*alternata* (40%), *P. funiculosum* (23,3%) и *Acremonium* spp. (43,3%), в том числе *A. atra* (23,3%). Несколько реже в обследованных квартирах наблюдали *A. terreus* (20,0%), *Fusarium verticilloides* (13,3%), *Cladosporium* spp. (16,7%), *Chaetomium globosum* (6,7%), *Penicillium brevicompactum* (6,7%), *P. tardum* (15,2%), *P. expansum* (13%), а также *Fusarium* spp. (16,7%), в том числе *F. oxysporum* (6,7%). Также в ряде квартир из очагов биодеструкции выявляли преимущественно дрожжеподобные виды *Rhodotorula mucilaginosa* (23,3%) и *Candida* spp. (13,3%). В единичных случаях в современных квартирах отмечали *Stemphyllium* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Mucor luteus*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavipes*.

Очаги биодеструкции можно условно разделить на поверхностные и глубинные, причем первые чаще являются источником микогенной контаминации воздуха, а вторые – могут представлять определенную угрозу состоянию строительных конструкций. Отметим, что микобиота поверхностных (Рис. 2) и глубинных (Рис. 3) очагов несколько отличается. Так, на поверхности преобладали *Penicillium* spp. (*P. tardum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*), *Aspergillus* spp. (*A. niger*, *A. fumigatus*) и *R. stolonifer*, тогда как в глубине строительных конструкций значительно чаще обнаруживали *P. funiculosum*, *A. terreus*, *A. alternata*, *A. atra*, *Acremonium* spp.

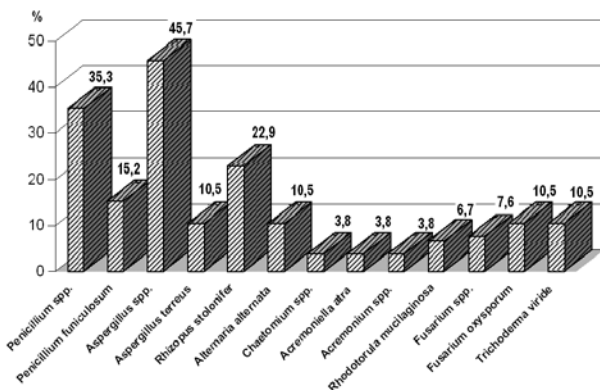


Рис.2. Частота обнаружения микромицетов в поверхностных очагах биодеструкции

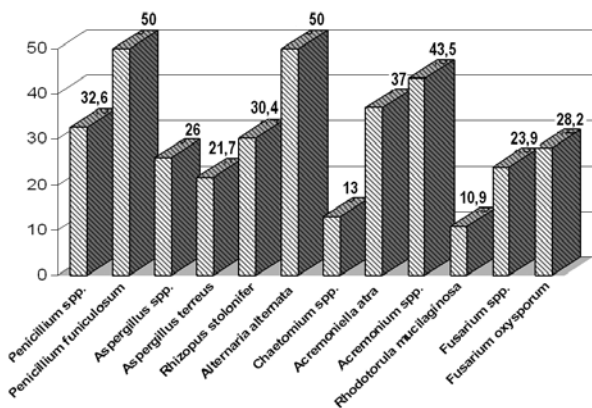


Рис.3. Частота обнаружения микромицетов в глубинных очагах биодеструкции

Проведенные исследования дали возможность предположить наиболее вероятные причины интенсификации грибковой обсемененности в жилых по-

мещениях современной постройки. Так, на первом плане оказались проблемы, связанные с недостаточной вентиляцией на верхних этажах зданий, а также пониженный воздухообмен в жилых помещениях. Не менее важной причиной развития очагов грибкового поражения является нарушение герметизации стыков панелей и деформационных швов, а также недостаточная теплоизоляция стен и потолка, что приводит к образованию конденсата воды при высокой влажности помещения. Это подтверждено данными строительной экспертизы.

Общие рекомендации для борьбы с очагами грибковых поражений: устранение причин замачивания, в частности, строительных дефектов; утепление и герметизация швов и откосов, просушивание и налаживание вентиляции в сочетании с противогрибковой обработкой помещения. Для такой обработки в настоящее время предлагают широкий спектр препаратов различной природы.

При исследовании фунгицидной способности строительных биоцидов выявили, что все они обладали выраженной фунгицидной активностью. В то же время, ни один из предлагаемых коммерческих препаратов не обладал 100% эффективностью при однократном применении (табл.1). При этом увеличение концентрации фунгицидных агентов незначительно влияло на их эффективность.

## ВЫВОДЫ

1. Качественный состав микобиоты воздуха помещений современной постройки с очагами и без очагов биодеструкции различается незначительно.
2. Уровень микогенной контаминации воздуха обусловлен уровнем влажности и запыленности помещения, а также наличием и величиной очагов биодеструкции.
3. Установили, что микобиота воздуха и очагов биодеструкции могут быть качественно различны.
4. Выявили количественные различия микобиоты поверхностных и глубинных очагов биодеструкции.
5. Основные причины возникновения очагов биодеструкции в жилых помещениях современной постройки связаны с нарушением тепло- и гидроизоляции стен и недостаточной вентиляцией.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Особенности конструкции и отделки современных жилых зданий, пониженный воздухообмен в помещениях создают, при наличии замачивания, благоприятные условия для развития грибов. Ухудшение микологической обстановки негативно отражается на здоровье проживающих лиц, особенно – страдающих аллергическими заболеваниями. Для оздоровления микологической обстановки необходима реализация комплексного подхода, включающего в себя микологический мониторинг помещения, строительную экспертизу, помогающие выявить причины избыточного увлажнения помещений, и последующую противогрибковую обработку. При использовании такого подхода будет создана возможность своевременно принять адекватные меры и предотвратить негативные последствия воздействия грибов на организм человека.

Таблица 1.

## Эффективность действия фунгицидных препаратов на жизнеспособность спор

Кратность обработки/ время экспозиции	Образец	«Сурфаниос» 0,25%	«Биодез-оптима», 0,25%	«Биодез-оптима», 0,5%	«УльтраДез Форте», 2%	«УльтраДез Форте», 3%	«Не-омид Био ремонт»	«СТ-99», 1:5	«Биопаг Д» 3%	«Биопаг Д», 5%	«Полисепт», 5%
1 крат/ 1 час	ГКЛ	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±
	Пластик	+	±	±	±	+	±	+	+	+	+
	Штукатурка	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
1 крат/ 24 часа	ГКЛ	±	±	-	-	±	±	±	±	±	±
	Пластик	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Штукатурка	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±
2 крат/ 1ч+1ч	ГКЛ	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	Пластик	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Штукатурка	+	±	+	±	±	+	+	+	+	+
2 крат / 24 ч+24ч	ГКЛ	+	±	+	+	+	±	+	±	+	+
	Пластик	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Штукатурка	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «+» - высокая (отсутствие роста грибов), «+/-» - средняя (рост грибов слабый), «-» - низкая (обильный рост грибов)

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Н.В., Елинов Н.П. Микроорганизмы – контаминанты и патогены – индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей. – СПб.: Коста, 2009. – 224 с.
2. Биоповреждения больничных зданий и их влияние на здоровье человека / Под ред. А.П. Щербо, В.Б. Антонова. – СПб МАПО, 2008. – 232 с.
3. Суханова Ю.А. Грибы-контаминанты в воздухе чистых помещений больниц// Проблемы медицинской микологии. – 2006. – Т. 8, №2. – С. 89-90.
4. Павлова И.Э. Биоповреждения в больничных зданиях Санкт-Петербурга// Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, №1. – С. 35-39.
5. Митрофанов В.С., Козлова Я.И. Плесени в доме (обзор)// Проблемы медицинской микологии. – 2004. – Т. 6, №2. – С. 10-18.
6. Масюк В.С. Влияние диссеминации грибов и их метаболитов в жилищной среде на здоровье населения// Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т. 7, №1. – С. 14-20.
7. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциальные патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции. Микология сегодня / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева// Национальная академия микологии. – 2007. – Т. 1. – С. 235-266.
8. Murphy M. Sick Building Syndrome and the Problem of Uncertainty: Environmental Politics, Technoscience, and Women Workers. – Durham: Duke University Press, 2006. – 253 p.
9. Горюнов А.В., Балаболкин И.И., Лихачев А.Н. Оценка дезинфектантов против оппортунистических видов грибов, потенциальных возбудителей микогенной аллергии// Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – №2. – С. 47-52.

Поступила в редакцию журнала 13.03.2015

Рецензент: Т.С. Богомолова



## ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ «СТРОИТЕЛЬНЫХ БИОЦИДОВ» В ОТНОШЕНИИ *STACHYBOTRYS SP.* И *ASPERGILLUS NIGER*

**Доршакова Е.В. (н.с.)\*, Елинов Н.П. (проф. кафедры), Павлова И.Э. (н.с.), Выборнова И.В. (н.с.)**

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

©Коллектив авторов, 2015

*В связи с негативным воздействием на здоровье людей микромицетов-биодеструкторов возникает необходимость борьбы с ними как потенциальными патогенами и токсигенами. Ранее мы изучали 8 «строительных биоцидов» в отношении *Stachybotrys spp.*, синтезирующих опасные для людей микотоксины. Представляет интерес сравнить эффективность их действия для подтверждения активности в отношении различных родов микромицетов (*Stachybotrys spp.*, *Aspergillus niger*).*

**Ключевые слова:** биодеструкция, биоциды, фунгицидное действие, фунгистатическое действие

## THE STUDY OF THE «BUILDING BIOCIDES» ACTION IN RELATION TO *STACHYBOTRYS SP.* AND *ASPERGILLUS NIGER*

**Dorshakova E.V. (scientific collaborator), Elinov N.P. (professor of the chair), Pavlova I.E. (scientific collaborator), Vybornova I.V. (scientific collaborator)**

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

©Collective of authors, 2015

*There is necessity a straggle with micromycetes-biodestructors in connection and their negative action at people. They are the potential pathogens and toxigens. Previously, we studied 8 «building biocides» against *Stachybotrys spp.*, synthesizing dangerous for people mycotoxins. It is interest to compare their effectivity of action in relation to several geni of micromycetes (*Stachybotrys spp.*, *Aspergillus niger*) to confirm their activity.*

**Key words:** biocides, biodestruction, fungicidal action, fungistatic action

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день имеет место необходимость борьбы с микромицетами-биодеструкторами в связи с их негативным воздействием на здоровье людей: их ролью как потенциальных патогенов, антигенными свойствами и токсигенной активностью. Ранее нами было изучено действие восьми «строительных биоцидов» в отношении *Stachybotrys spp.*, синтезирующих микотоксины, оказывающие на организм цитотоксическое, нейротоксическое действия [1-5]. Представляет интерес сравнение эффективности действия «строительных биоцидов» в отношении различных родов микромицетов, наиболее часто встречающихся в помещениях. Также необходимо проведение повторных исследований действия биоцидов в отношении *Stachybotrys spp.* в целях подтверждения их активности. В исследовании были взяты биоциды «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Тугу» и «Антиплесень» фирмы «Лакра», обладающие наибольшими показателями эффективности в отношении *Stachybotrys spp.* Действие данных биоцидов изучали в отношении *Stachybotrys sp.* и *Aspergillus niger*, выявленных в одном из общественно-производственных зданий в 2015 году.

Цель исследования – оценить чувствительность *Stachybotrys sp.* и *A. niger* к действию противогрибковых средств, ранее испытанных в отношении *Stachybotrys spp.*

## МАТЕРИАЛЫ

1. Техногенные субстраты помещений (отделочные материалы).

2. Культуры *Stachybotrys sp.* и *A. niger* из Российской коллекции патогенных грибов (РКПГ).

3. Для оценки антифунгальной активности были выбраны следующие «строительные биоциды»: «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Тугу» и «Антиплесень» фирмы «Лакра».

В исследование биоциды были взяты в виде рабочих растворов, рекомендованных производителями.

4. Использовали следующие питательные среды: Сусло-агар («НИЦФ»); картофельный агар (картофель – 300 г, вода дистиллированная – 1 л, глюкоза – 2 г, агар-агар – 20 г); агар Сабуру; бульон Сабуру; картофельный отвар (картофель – 300 г, вода дистиллированная – 1 л, глюкоза – 2 г).

## МЕТОДЫ

### 1. Выделение культур *Stachybotrys spp.* из техногенных субстратов

Взятие проб с пораженных микромицетами поверхностей осуществляли ватным тампоном, смоченным в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида, а с грубого и шероховатого – скальпелем. Образцы помещали в герметичные упаковки с сопроводительными этикетками и засевали на питательные среды (сусло-агар и Сабуру-агар) в лабораторных условиях. Посевы инкубировали в термостатах при +28 °С и +37 °С в течение 14 суток [6], затем идентифицировали колонии *Stachybotrys sp.* и *A. niger* по морфологическим и культуральным признакам.

Выделение *Stachybotrys sp.* в чистые культуры из ассоциаций с другими микромицетами осуществляли путем пересева колоний микробиологической иглой на картофельный агар, *A. niger* – на агар Сабуру.

\* Контактное лицо: Доршакова Евгения Владимировна, тел.: (812) 303-51-40



Видовую идентификацию культур проводили по морфологическим признакам.

## 2. Метод определения антифунгальной (фунгицидной и фунгистатической) активности строительных биоцидов

Действие «строительных биоцидов» изучали методом серийных разведений в жидкой питательной среде (картофельном отваре – для *Stachybotrys* sp., бульоне Сабуро – для *A. niger*). В исследование были взяты рабочие растворы «строительных биоцидов», предварительно разведенные в 15 или 100 раз. Для каждого биоцида были поставлены ряды пробирок. В первые пробирки каждого ряда исследуемые вещества вносили в минимальном разведении, затем проводили их титрование до 8 пробирки путем двукратного разведения. В пробирки с питательной средой и биоцидом соответствующего разведения вносили взвеси спор микромицетов в количестве 0,1 мл.

Для приготовления взвесей спор культуры микромицетов выращивали в течение 7 дней при +28 °С в пробирках на сусло-агаре (*Stachybotrys* sp.) и агаре Сабуро (*A. niger*). С поверхностей культур брали смывы конидий с постепенным добавлением 0,85% стерильного раствора натрия хлорида до густоты рабочих взвесей 1 ЕД по МакФарланду.

В исследовании каждого биоцида ставили 3 пробы контроля:

1 – контроль культуры (1 мл питательной среды + 0,1 мл рабочей взвеси тест-культуры);

2 – контроль питательной среды (1 мл питательной среды);

3 – контроль препарата (0,5 мл питательной среды + 0,5 мл исходного раствора препарата).

Все ряды подготовленных разведений с культурами и образцами контроля выдерживали при 28 °С в течение 7-10 суток до появления роста гриба в первом контроле. Минимальной фунгистатической (подавляющей) концентрацией (МПК) препарата считали концентрацию в последней пробирке ряда (максимальное разведение), в которой отсутствовал визуально определяемый рост микромицетов.

Для определения фунгицидного действия препарата делали высев штрихами микробиологической петлей на секторы агаризованной среды сусло в чашках Петри из каждой пробирки, в которой визуально отсутствовал рост тест-культуры, а также из первой контрольной пробирки. Чашки с высевами ставили в термостат при 28 °С на срок до появления роста колоний в контрольном секторе, после чего вели учет роста микроскопических грибов во всех секторах.

Минимальной фунгицидной концентрацией (МФК) считали минимальную концентрацию (максимальное разведение) препарата в пробирке, высев из которой на плотную питательную среду не давал роста *Stachybotrys* spp. Проводили расчет МПК и МФК в объемных процентах для соответствующих активных разведений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено исследование антифунгальной активности рабочих растворов новых партий строительных биоцидов: «Антиплесень» фирмы «Лакра» и «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру» в отношении *A. niger* и *Stachybotrys* sp., выявленных в одном

из офисных помещений г. Санкт-Петербурга. Обнаружено, что состав антисептический «Макросепт» оказывает фунгистатическое действие на *A. niger* и *Stachybotrys* sp. при разведениях 1:80 и 1:160, фунгицидное – в обоих случаях – 1:160. Фунгистатическое действие биоцида «Антиплесень» фирмы «Лакра» в отношении *A. niger* было выявлено при разведении биоцида в соотношении 1:160, фунгицидное – 1:80; в отношении *Stachybotrys* sp. как статическое, так и цидное действия рабочего раствора этого биоцида отмечали при разведении 1:1280 (табл. 1).

Таблица 1

### Фунгицидная и фунгистатическая активности строительных биоцидов по отношению *Stachybotrys* sp. и *A. niger*

Принадлежность к роду/виду микромицета	Наименование строительного биоцида			
	«Антиплесень» (фирмы Лакра)		«Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру»	
	Минимальные активные разведения			
	МПК	МФК	МПК	МФК
<i>Stachybotrys</i> sp.	1:1280	1:1280	1:160	1:160
<i>A. niger</i>	1:160	1:80	1:160	1:80

образца на себя внимание значительно более эффективное действие биоцида «Антиплесень» в отношении *Stachybotrys* sp., в отличие от такового «Макросепт». В отношении *A. niger* активность взятых в исследование биоцидов не отличалась.

В исследованиях, проведенных ранее в отношении 16 штаммов *Stachybotrys* spp., было показано, что «Антиплесень» фирмы «Лакра» обладает активностью в диапазоне разведений 1:1000 – 1:8000 [7], при этом МПК (% об.) данного средства составляло 0,02-0,1, МФК (% об.) – 0,025-0,2. «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру» в отношении 16 штаммов *Stachybotrys* spp. проявлял эффективное действие в диапазоне разведений 1:400-1:3200, его МПК (% об.) составляла 0,031-0,25, МФК (% об.) – 0,0625-0,25 [7]. Выявленные в текущем исследовании значения МПК (% об.) и МФК (% об.) «строительных биоцидов» в отношении *Stachybotrys* sp. – 0,07 («Антиплесень») и 0,625 («Макросепт») находятся в пределах таковых значений предыдущего исследования (табл. 2).

Таблица 2

### Активность строительных биоцидов по отношению к *Stachybotrys* sp. и *A. niger* (в объемных % рабочего раствора)

Принадлежность к роду/виду микромицета	Наименование строительного биоцида			
	«Антиплесень» (фирмы Лакра)		«Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру»	
	МПК	МФК	МПК	МФК
<i>Stachybotrys</i> sp.	0,07	0,07	0,625	0,625
<i>A. niger</i>	0,625	1,25	0,625	1,25

Таким образом, была подтверждена высокая эффективность новых партий строительных биоцидов «Антиплесень» фирмы «Лакра» и «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру» в отношении *Stachybotrys* spp. Показана большая устойчивость *A. niger*, чем *Stachybotrys* sp., к обоим противогрибковым средствам. Выявлено значительно более эффективное действие биоцида «Антиплесень» фирмы «Лакра», чем «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Туру» в отношении потенциального токсинопродукта *Stachybotrys* sp.

## ВЫВОДЫ

1. Наибольшей эффективностью против роста *Stachybotrys* spp. являются вещества – производные гуанидина – основные действующие компоненты биоцида «Антиплесень» фирмы «Лакра».

2. Биоциды – «Антиплесень» фирмы «Лакра» и «Макросепт» (состав антисептический) фирмы «Тугу» обладают высокой активностью в отношении микромицетов, их целесообразно применять в качестве биостатических и биоцидных средств при обработке помещений.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Pestka J.J., Yike I., Dearborn D.G., et al. *Stachybotrys chartarum*, trichothecene mycotoxins and damp building – related illness: new insights into a public health enigma// Toxicological sciences. – 2008. – Vol. 104. – P. 4-26.
2. Cameron D.G. Toxicity profile of *Stachybotrys chartarum* //A thesis in environmental toxicology/ submitted to the graduate faculty of texas tech university in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science. – 2009.
3. Scott A.M. *Stachybotrys chartarum* (or *S. atra* or *S. alternans*): review of toxicological literature. Integrated Laboratory Systems, Inc. Research Triangle Park, North Carolina. – 2004.
4. Hossain M.A., Ahmed M.S. and Ghannoum M.A. Attributes of *Stachybotrys chartarum* and its association with human disease// J. Allergy Clin Immunol. – 2004. – Vol. 113. – P. 200-208.
5. Васильева Н.В., Елинов Н.П. Микроорганизмы - контаминанты и патогены - индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей (учебное пособие) /Под ред. Н.П. Елинова. – СПб.: КОСТА, 2009. – 224 с.
6. Доршакова Е.В., Павлова И.Э., Богомолова Т.С. и др. Чувствительность штаммов *Stachybotrys* spp. к некоторым строительным биоцидам// Проблемы медицинской микологии. – 2014. – Т. 16, №3. – С. 87-90.
7. Доршакова Е.В., Павлова И.Э., Елинов Н.П. и др. Антифунгальная активность «строительных биоцидов» в отношении *Stachybotrys* spp.// Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т.15, №3. – С.60-63.

Поступила в редакцию журнала 02.12.2015

Рецензент: Г.Е. Афиногенов



# ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ СТАФИЛОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

<sup>1</sup>Козлова Н.С. (доцент кафедры)\*, <sup>2</sup>Баранцевич Н.Е. (н.с.), <sup>2</sup>Иванова Л.В. (н.с.), <sup>2</sup>Гоик В.Г. (с.н.с.), <sup>2</sup>Шварц А.П. (м.н.с.), <sup>1</sup>Мокрова Е.В. (студентка 5 курса), <sup>2,3</sup>Баранцевич Е.П. (зав. НИЛ)

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова (кафедра медицинской микробиологии); <sup>2</sup>Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр; <sup>3</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова (кафедра факультетской терапии), Санкт-Петербург, Россия

©Коллектив авторов, 2015

Определяли чувствительность 292 штаммов стафилококков, выделенных от пациентов многопрофильного стационара, к 15 антибактериальным препаратам: пенициллину, оксациллину, ципрофлоксацину, моксифлоксацину, доксициклину, гентамицину, амикацину, кларитромицину, клиндамицину, фузидину, рифампицину, ванкомицину, тигециклину, линезолиду, сульфаметоксазол/триметоприму. Среди стафилококков, циркулирующих в многопрофильном стационаре, преобладали антибиотикорезистентные культуры (76,6%), которые чаще выявляли среди *Staphylococcus epidermidis* (88,6%), чем среди *S. aureus* (66,6%). Для стафилококков был характерен высокий удельный вес метициллин-резистентных и полирезистентных штаммов, который был более чем в три раза выше среди *S. epidermidis* (62,1% и 74,1% соответственно), чем среди *S. aureus* (17,1% и 17,9%). При этом все метициллин-резистентные культуры *S. aureus* и подавляющее большинство штаммов метициллин-резистентных *S. epidermidis* (97,5%) были полирезистентными.

В данном стационаре наибольшую активность в отношении стафилококков проявляли ванкомицин и тигециклин, к которым были чувствительны все изученные культуры. Из остальных препаратов наибольшей активностью обладали линезолид, рифампицин и амикацин, к которым были устойчивы всего 2,8%, 3,1% и 3,8% штаммов соответственно, причем не было обнаружено штаммов *S. aureus*, устойчивых к линезолиду и рифампицину. Высокую активность в отношении *S. aureus* сохраняли также фузидин и сульфаметоксазол/триметоприм.

Среди стафилококков, циркулирующих в стационаре, отмечали 80 спектров антибиотикорезистентности, чем подтверждена высокая гетерогенность изученных микроорганизмов по детерминантам устойчивости к антибиотикам.

**Ключевые слова:** антибиотикорезистентность, метициллин-резистентность, MRSA, MRSE, стафилококки

## SUSCEPTIBILITY TO ANTIBIOTICS IN NOSOCOMIAL STAPHYLOCOCCI FROM MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

\* Контактное лицо: Козлова Надежда Сергеевна, Тел.: (812) 543-19-20

<sup>1</sup>Kozlova N.S. (associate professor of the chair), <sup>2</sup>Barantsevich N.E. (scientific collaborator), <sup>2</sup>Ivanova L.V. (scientific collaborator), <sup>2</sup>Shvarza A.P. (junior scientific collaborator), <sup>2</sup>Goik V.G. (senior scientific collaborator), <sup>1</sup>Mokrova E.V. (student of 5 course), <sup>2,3</sup>Barantsevich E.P. (head of scientific research unit)

<sup>1</sup>North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov (chair of medical microbiology); <sup>2</sup>North-West Federal Medical Research Centre; <sup>3</sup>I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (chair of faculty therapy), St. Petersburg, Russia

©Collective of authors, 2015

Susceptibility of 292 strains of *Staphylococci*, isolated from patients of multidisciplinary hospital to 15 antibiotics (penicillin, oxacillin, ciprofloxacin, moxifloxacin, doxycycline, gentamicin, amikacin, clarithromycin, clindamycin, fusidic acid, rifampicin, vancomycin, tigecycline, linezolid, trimethoprim / sulfamethoxazole) was studied. Resistant to antibiotics (76,6%) strains prevailed. Resistance in *Staphylococcus epidermidis* (88,6%) was higher, than in *Staphylococcus aureus* (66,6%). *Staphylococci*, isolated in multidisciplinary hospital, were characterized by high ratio of methicillin resistance and polyresistance (62,1% and 74,1% in *S. epidermidis*, compared to 17,1% and 17,9% in *S. aureus*); all MRSA isolates and the majority of MRSE were polyresistant. All the strains studied were susceptible to vancomycin and tigecycline. Only 2,8%, 3,1% and 3,8% of strains were resistant to linezolid, rifampicin, amikacin respectively. No strains of *S. aureus* were resistant to linezolid and rifampicin. The majority of *S. aureus* strains were highly susceptible to fusidic acid and trimethoprim/sulfamethoxazole.

The studied strains were highly heterogenous in determinants of antibiotic resistance as 80 spectra of resistance to antibiotics were detected in nosocomial *Staphylococcus* strains.

**Key words:** methicillin resistance, MRSA, MRSE, resistance to antibiotics, *Staphylococci*

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время стафилококки занимают значительное место среди возбудителей нозокомиальных инфекций [1-4]. В России в отделениях с интенсивным использованием антибиотиков частота выделения *Staphylococcus aureus* составляет 75% среди всех грамположительных возбудителей [2, 5], при этом более половины из них являются метициллин-резистентными (MRSA) [1, 2, 6, 7]. Для последних, наряду с резистентностью ко всем бета-лактамам антибиотикам, характерна полирезистентность, то есть устойчивость ко многим другим группам антимикробных препаратов разных механизмов действия [2, 5, 6, 7]. MRSA – основные нозокомиальные патогены, эндемичные во многих стационарах [2, 5, 7]. Значительно возросла также роль метициллин-чувствительных (MSCNS) и метициллин-резистентных коагулазо-негативных стафилококков (MRCNS), особенно – *Staphylococcus epidermidis*, который часто выделяют при инфекциях кровотока, менингитах, пневмониях и др. [1, 2, 8]. Представляет интерес обнаружение конкурентных взаимоотношений между *S. aureus* и *S. epidermidis*. Выявили, что вещества, продуцируемые *S. epidermidis* (аутоиндукторы), блокируют токсинообразование у большинства штаммов *S. aureus*, в то время как вещества, продуцируемые *S. aureus*, не препятствуют пролиферации *S. epidermidis* [Otto M., et al. // Infect. and Immun. – 2001. – Vol. 69; Сидоренко С.В.// Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2001. – Т. 3, №4]. Возможно, этим частично можно объяснить преимущественное распространение коагулазонегативных стафилококков при катетер-ассоциированных инфекциях [Сидоренко С.В.// Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. –

2001. – Т. 3, №4].

Цель нашего исследования: учитывая высокий уровень резистентности стафилококков к антимикробным препаратам разного механизма действия и его выраженную вариабельность в различных регионах, изучить антибиотикорезистентность этих микроорганизмов, особенно – выделенных в многопрофильных стационарах [2, 7, 8].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2011-12 гг. в многопрофильном стационаре г. Санкт-Петербурга из различного материала от больных (табл.) были выделены 292 штамма стафилококков, в том числе: 123 культуры *S. aureus*, 158 штаммов *S. epidermidis* и 11 культур других коагулазонегативных стафилококков (в том числе – по 3 культуры *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* и *S. warneri* и 2 штамма *S. hominis*).

Таблица

Происхождение выделенных штаммов стафилококков	Количество штаммов			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	Другие CNS	Всего
Материал				
Кровь	25	70	2	97
Мокрота	11	5	0	16
Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)	14	10	1	25
Нос, зев	35	1	0	36
Моча, мочевые катетеры	6	34	2	42
Центральный венозный катетер	0	6	0	6
Раны	30	24	0	54
Клапаны	0	6	5	11
Синовиальная жидкость	2	0	0	2
Кардиальный выпот	0	1	1	2
Плевральная жидкость	0	1	0	1
Всего штаммов	123	158	11	292

Большее количество культур стафилококков (Рис.1) изолировали из крови (33%), ран (18,5%) и мочи и мочевых катетеров (14,4%).

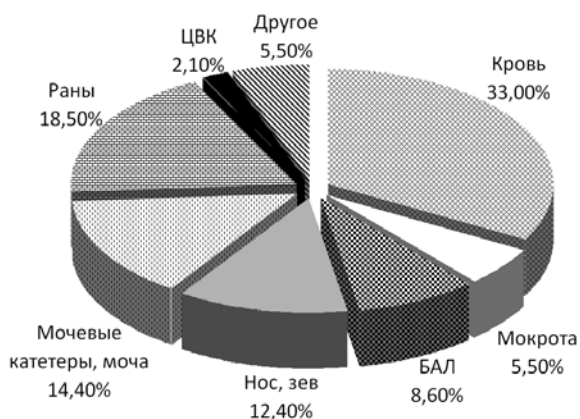


Рис. 1. Удельный вес стафилококков, выделенных из разного материала от больных

Идентификацию этиологически значимых микроорганизмов осуществляли фенотипически, а также по последовательности первых 500 пар нуклеотидов гена 16SPHK [9]. Определение чувствительности выделенных чистых культур стафилококков к антибиотикам проводили методом серийных разведений в агаре Мюллер-Хинтон с диапазоном концентраций от 0,015 мкг/мл до 128 мкг/мл [10].

Была установлена чувствительность всех штаммов к 15 антибактериальным препаратам: пенициллину

(Pn), оксациллину (Ox), ципрофлоксацину (Cip), моксифлоксацину (Mox), доксициклину (Dx), гентамицину (Gm), амикацину (Ak), кларитромицину (Clr), клиндамицину (Cld), фузидину (Fz), рифампицину (Rif), ванкомицину (Van), тигециклину (Tig), линезолиду (Ln), сульфаметоксазол/триметоприму (Stri). При оценке чувствительности стафилококков к антибиотикам вместо метициллина, за счет большей стабильности при хранении, применяли оксациллин; в этом случае термин оксациллин-резистентность является полным синонимом метициллин-резистентности. Был использован референтный штамм *S. aureus* ATCC 27853. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ SPSS Statistics 17.0 (США) [Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М., 1999].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Большая часть изученных культур (76,8%) оказалась устойчивой хотя бы к одному антибактериальному препарату; удельный вес таких штаммов был выше среди *S. epidermidis* (88,6%), чем среди других коагулазонегативных стафилококков (72,7%) и *S. aureus* (66,6%).

На рисунке 2 видно, что среди стафилококков преобладали культуры, устойчивые к пенициллину (70,6%). Около половины штаммов были резистентны к кларитромицину (49,0%), ципрофлоксацину (45,2%), оксациллину (42,5%) и моксифлоксацину (41,1%). Активность моксифлоксацина в отношении стафилококков была лишь немного выше, чем ципрофлоксацина, что может быть связано с активным применением этого препарата в стационаре.

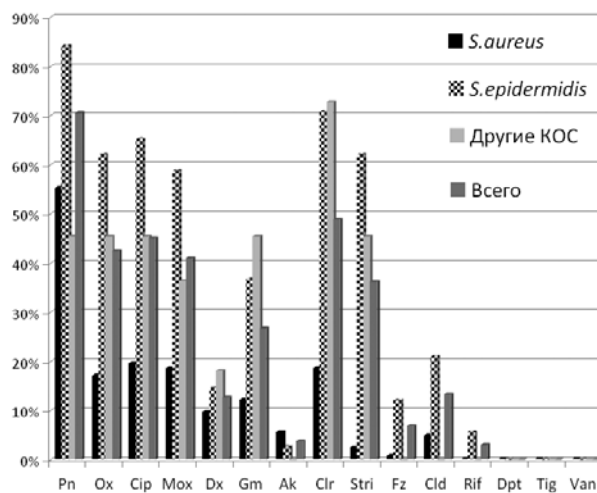


Рис. 2. Устойчивость стафилококков к антибактериальным препаратам

Удельный вес метициллин-резистентных культур среди *S. aureus*, *S. epidermidis* (MRSE) и всех коагулазонегативных стафилококков представлен на рисунке 3. Число таких штаммов среди коагулазонегативных стафилококков (61,0%) более чем в три раза больше, чем среди *S. aureus* (17,1%). В целом, метициллин-резистентные культуры составили почти половину от общего числа выделенных штаммов. Очевидно, что высокая частота встречаемости таких культур среди стафилококков ведет к сужению списка антибактериальных препаратов, используемых для лечения стафи-

лококковых инфекций.

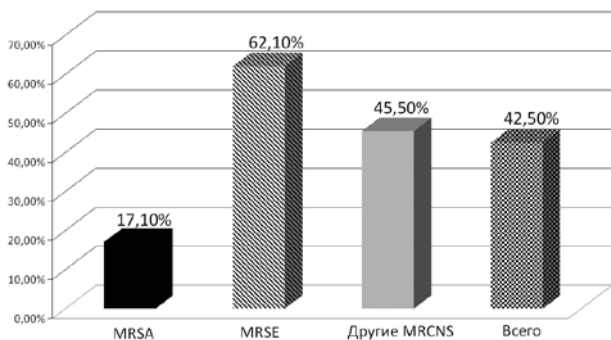


Рис. 3. Удельный вес метициллин-резистентных культур среди стафилококков разных видов

На рисунке 4 представлено распределение MRSA, MSSA, MRCNS и MSCNS среди выделенных в стационаре стафилококков с преобладанием среди них MRCNS (35,3%) и MSSA (34,9%).

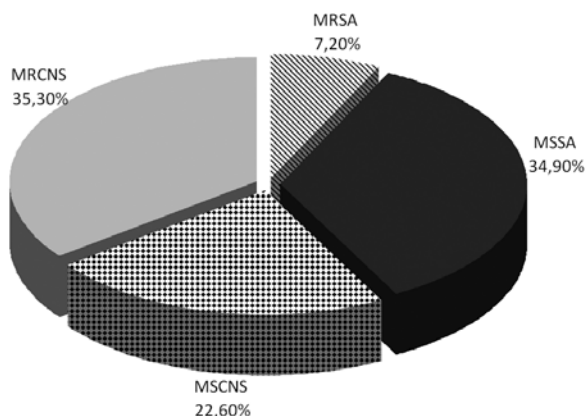


Рис. 4. Удельный вес MRSA, MSSA, MRCNS и MSCNS среди всех выделенных стафилококков

Несколько реже выявляли среди стафилококков культуры, устойчивые к сульфаметоксазол/триметоприму (36,3%) и гентамицину (26,8%), еще реже – к доксициклину (12,7%), клиндамицину (13,4%) и фузидину (6,9%). Отметим, что сульфаметоксазол/триметоприм и клиндамицин проявили *in vitro* высокую активность в отношении *S. aureus*, только три (2,5%) и шесть (4,9%) штаммов которого, соответственно, оказались резистентными к этим препаратам. Была обнаружена только одна культура *S. aureus*, устойчивая к фузидину. Наиболее редкими оказались штаммы, устойчивые к рифампицину (3,1%), амикацину (3,8%) и линезолиду (2,8%), при этом все изученные культуры *S. aureus* были чувствительны к рифампицину и линезолиду.

Наиболее активными в отношении стафилококков в нашем исследовании оказались тигециклин и ванкомицин, к которым не выявили ни одного устойчивого штамма стафилококков.

При сравнении чувствительности к отдельным препаратам *S. aureus* и *S. epidermidis* отмечали (Рис. 2), что устойчивость ко всем изученным антибактериальным препаратам была значительно выше у *S. epidermidis*. Исключение составил только амикацин, удельный вес резистентных к которому штаммов был в два раза выше среди *S. aureus* (5,7%), чем среди *S. epidermidis* (2,6%).

Превалировали штаммы стафилококков, устойчи-

вые только к одному (18,5%) или одновременно к семи (18,2%) антимикробным препаратам. В два раза реже наблюдали культуры, резистентные к восьми (8,3%), шести (7,6%), двум и пяти препаратам (по 7,2%). Гораздо реже обнаруживали штаммы с устойчивостью к трем, четырем (по 3,5%). Все устойчивые к девяти (2,1%), десяти (0,7%) и одиннадцати (0,4%) антибиотикам культуры – *S. epidermidis*.

Полирезистентные культуры (устойчивые к 3 и более препаратам разного механизма действия) составили среди стафилококков почти половину – 49,4% (Рис. 5). Удельный вес таких культур был более чем в четыре раза выше среди *S. epidermidis* (74,1%), чем среди *S. aureus* (17,9%).

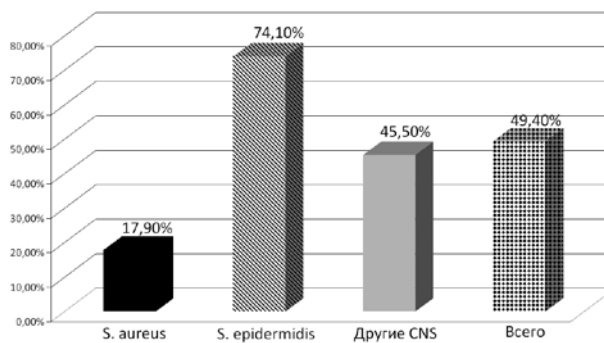


Рис. 5. Удельный вес полирезистентных штаммов среди стафилококков разных видов

Все метициллин-резистентные культуры *S. aureus* и 98,3% коагулазонегативных стафилококков, в том числе – 97,5% *S. epidermidis*, были полирезистентными. Удельный вес метициллин-чувствительных штаммов среди полирезистентных культур был более чем в 3 раза выше среди коагулазонегативных стафилококков (17,1%), чем среди *S. aureus* (4,6%). Распределение MRSA, MSSA, MRCNS и MSCNS среди полирезистентных культур стафилококков с явным преобладанием MRCNS представлено на рисунке 6.

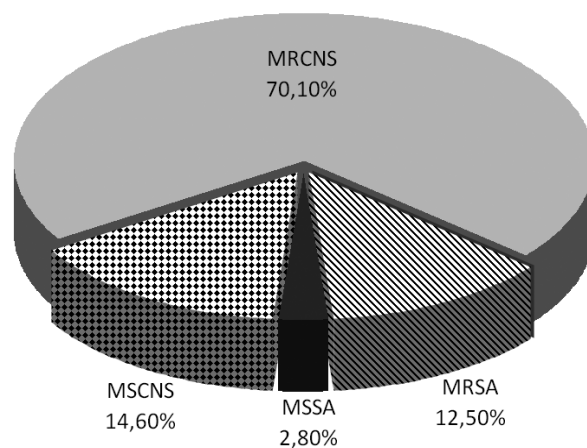


Рис. 6. Удельный вес метициллин-резистентных и метициллин-чувствительных культур среди стафилококков с множественной лекарственной устойчивостью

Удельный вес метициллин-резистентных и полирезистентных штаммов различался в зависимости от исследуемого материала (Рис.7). Так, наиболее высокий удельный вес таких культур наблюдали в крови (53,6% и 68,0% соответственно), моче и мочевых катетерах (64,3% и 66,7%), наименьший – в отделяемом носа и зева (по 5,6%). Отметим, что среди стафилококков,

выделенных с катетеров и клапанов, 90% составили коагулазонегативные стафилококки с безусловным преобладанием *S. epidermidis* (78%), что подтверждает данные об их преимущественном распространении при катетер-ассоциированных инфекциях [Сидоренко С.В.// Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2001. – Т. 3, №4].



Рис. 7. Удельный вес полирезистентных и метициллин-резистентных штаммов в разном исследуемом материале

Всего среди стафилококков выявили 80 различных спектров антибиотикорезистентности, большинство которых (68) были полирезистентными. Наиболее распространенными среди стафилококков оказались культуры со спектрами устойчивости к одному Pn (16,1%), к Pn,Ox,Cip,Mox,Gm,Clr,Stri (9,3%), Pn,Clr (4,5%), Clr (2,4%), Pn,Ox,Cip,Mox,Clr,Stri (2,4%), Pn,Ox,Cip,Clr,Stri (1,8%) и Pn,Ox,Cip,Mox,Dx,Gm,Clr,Stri (1,8%); штаммы с этими спектрами вместе составили более трети изученных культур (38,1%). Остальные 73 спектра резистентности были представлены единичными штаммами. У *S. aureus* установили двадцать один спектр резистентности, у *S. epidermidis* – шестьдесят семь, у других коагулазо-негативных стафилококков – четыре. Преобладающие спектры резистентности различались у представителей разных видов стафилококков. Из штаммов *S. aureus* с различными спектрами устойчивости около трети составили культуры, резистентные только к пенициллину (31,7%), 6,5% – штаммы со спектрами устойчивости к PnClr и 3,3% – к Pn,Ox,Cip,Mox,Dx,Gm,Clr. Среди *S. epidermidis* преобладали культуры со спектром резистентности к Pn,Ox,Cip,Mox,Gm,Clr,Stri (15,9%), который не наблюдали у *S. aureus*, значительно реже отмечали штаммы, устойчивые только к пенициллину (5,1%) и к Pn,Ox,Cip,Mox,Clr,Stri (4,5%). Отметим, что только 8 из 80 спектров антибиотикорезистентности оказались общими для *S. aureus* и *S. epidermidis*

(Pn, Clr; Pn,Clr,Cip,Mox, Dx,Clr,Stri; Pn,Ox,Cip,Mox,Dx; Pn,Ox,Cip,Mox,Clr; Pn,Ox,Cip,Mox,Gm,Ak,Clr и Pn,Ox,Cip,Mox,Dx,Gm,Clr,Stri), что служит показателем гетерогенности детерминант устойчивости этих микроорганизмов к антибиотикам.

## ВЫВОДЫ

1. Среди стафилококков, выделенных в многопрофильном стационаре, преобладали антибиотикорезистентные культуры (76,7%), которые чаще наблюдали среди *S. epidermidis* (88,6%), чем среди *S. aureus* (66,6%).

2. Для стафилококков был характерен высокий удельный вес метициллин-резистентных и полирезистентных штаммов, который был более чем в три раза выше среди *S. epidermidis* (62,1% и 74,1% соответственно), чем среди *S. aureus* (17,1% и 17,9%), при этом все метициллин-резистентные культуры *S. aureus* и подавляющее большинство штаммов метициллин-резистентных *S. epidermidis* (97,5%) были полирезистентными.

3. В данном стационаре наибольшую активность в отношении стафилококков проявляли ванкомицин и тигециклин, к которым были чувствительны все изученные культуры. Из остальных препаратов наибольшей активностью обладали линезолид, рифампицин и амикацин, к которым отмечали всего 2,8%, 3,1% и 3,8% устойчивых штаммов соответственно, причем не выявили штаммов *S. aureus*, устойчивых к линезолиду и рифампицину. Высокую активность в отношении *S. aureus* сохраняли также фузидин и сульфаметоксазол/триметоприм.

4. У стафилококков, циркулирующих в стационаре, установили 80 различных спектров антибиотикорезистентности, что является показателем высокой гетерогенности этих микроорганизмов по детерминантам устойчивости к антибиотикам.

5. В связи с вариабельностью устойчивости стафилококков к антимикробным препаратам необходимо проведение постоянного мониторинга их антибиотикорезистентности.

### Список используемых сокращений

- CNS – коагулазо-негативные стафилококки
- MRSA – метициллин-резистентные *S. aureus*
- MRSE – метициллин-резистентные *S. epidermidis*
- MSSA – метициллин-чувствительные *S. aureus*
- MRCNS – метициллин-резистентные коагулазо-негативные стафилококки
- MSCNS – метициллин-чувствительные коагулазо-негативные стафилококки

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Светличная Ю.С., Колосовская Е.Ю., Кафтырева Л.А. и др. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за госпитальными инфекциями// Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014, №1. – С. 9-14.
2. Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России. Российские национальные рекомендации. – М., 2012. – 92 с.
3. Klein E.Y., Sun L., Smith D.L. and Laxminarayan R. The changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: A national observational study// Am. J. of Epidemiology. – 2013. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: – 10.1093/aje/kws273
4. Sarma J.B., Ahmed G.U. Characterisation of methicillin resistant *S. aureus* strains and risk factors for acquisition in a teaching hospital in northeast India// Indian J. Med. Microbiol. – 2010. – Vol. 28. – P. 127-129.
5. Дехнич А.В., Никулин А.А., Рябкова Е.Л. и др. Эпидемиология резистентности штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования// Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2008. – №4. – С. 333-344.
6. Романов А.В., Дехнич А.В. Типирование MRSA: какие методы являются оптимальными для решения различных задач?

- //Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2011. – №2. – С. 168-176.
7. *Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Annual report of European Antimicrobial resistance surveillance network (EARS-net), 2011.* – Stockholm: ECDC, 2012. – 79 p.
  8. Козлова Н.С., Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е. Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных из крови // Научное обозрение. – 2014. – №3. – С. 184-190.
  9. Пестова Н.Е., Баранцевич Е.П., Рыбкова Н.С. и др. Изучение эффективности применения метода секвенирования ДНК по фрагменту гена 16s рРНК для идентификации микроорганизмов// Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – №4. – С. 57-59.
  10. *EUCAST-(2013)* – [Электронный ресурс] – Режим доступа: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)

*Поступила в редакцию журнала 16.10.2015*

*Рецензент: Л.А. Кафтырева*



## ВНУТРИВИДОВОЕ ТИПИРОВАНИЕ *STACHYBOTRYS* SPP. МОЛЕКУЛЯРНО- БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Руднева М.В. (м.н.с.)\*, Доршакова Е.В. (н.с.),  
Лавникович Д.М. (аспирант), Игнатьева С.М.  
(в.н.с.), Тараскина А.Е. (зав. лаб.), Елинов Н.П.  
(профессор кафедры)

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

©Коллектив авторов, 2015

*Stachybotrys* spp. относят к наиболее опасным токсинообразующим микромицетам - биодеструкторам с доказанными межштаммовыми вариациями в продуцировании микотоксинов. На основании изучения нуклеотидных последовательностей можно предсказывать токсигенные свойства стахиботрисов. Цель работы заключалась в разработке методики мультилокусного типирования *Stachybotrys* spp. по локусам триходииен-синтазы и хитин-синтазы. Показано, что с помощью молекулярно-биологического метода можно выделять группы штаммов разной степени токсичности, а также однозначно идентифицировать стахиботрисы до вида.

**Ключевые слова:** микотоксины, молекулярная идентификация, мультилокусное типирование, *Stachybotrys* spp.

## INTRASPECIES TYPING OF *STACHYBOTRYS* SPP. BY THE METHODS OF MOLECULAR GENETICS

Rudneva M.V. (junior scientific collaborator),  
Dorshakova E.V. (scientific collaborator), Lavnikovich  
D.M. (postgraduate student), Ignatieva S.M. (leading  
scientific collaborator), Taraskina A.E. (head of the  
laboratory), Elinov N.P. (professor of the chair)

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

©Collective of authors, 2015

*Stachybotrys* spp. are known to produce mycotoxins that have been associated with a number of human and veterinary health problems. Many investigators notice variation in the levels of toxin production among *Stachybotrys* individuals that can be predicted by nucleotide analysis. The aim of this study is intraspecies typing of *Stachybotrys* spp. by multilocus sequencing of the trichodiene synthase gene and the chitin synthase gene. This method can be used for discriminating toxic and nontoxic strains and for the identification of *Stachybotrys* species.

**Key words:** molecular identification, multilocus sequence typing, mycotoxins, *Stachybotrys* spp.

## ВВЕДЕНИЕ

*Stachybotrys* spp. достаточно широко распространены в природе и, будучи контаминантами жилых помещений при избыточной влажности, являются «индикаторами» состояния зданий. В то же время, стахиботрисы способны выделять опасные для человека микотоксины, при этом их количество варьирует в зависимости от штамма. Исследователи, изучающие токсичные свойства *Stachybotrys* spp., прибегают к определению их нуклеотидных последовательностей. При этом установлено, что только при типировании по нескольким локусам удается выявить различия между штаммами [1-3]. Локусы, выбираемые для молекулярно-генетической идентификации, должны присутствовать у всех видов изучаемого рода и при этом отличаться вариативностью между видами и штаммами. Наибольшей вариативностью у стахиботрисов обладают гены триходииен-синтазы (TRI5) и хитин-синтазы (CHS) [Gruse M., et al. //Mycologia. – 2002. – Vol. 94]. Ген TRI5 кодирует фермент триходииен-синтазу, который участвует в превращении фарнезил пирофосфата в триходииены, являющиеся начальным звеном синтеза трихотиценовых микотоксинов (Рис.1). Ген TRI5 имеет в своем составе высоко-консервативные участки, а также интрон, обеспечивающий значительную вариативность между различными видами. Таким образом, этот ген может быть использован в качестве маркера для оценки потенциальной продукции микотоксинов и представляет интерес для идентификации видов, таксономических анализов и анализов географического распространения штаммов [4].

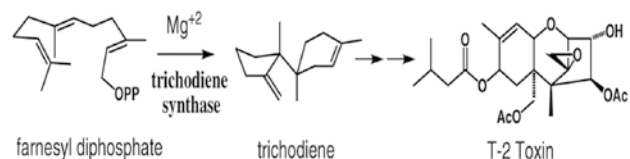


Рис. 1. Синтез трихотиценовых микотоксинов, катализируемый ферментом триходииен-синтазой

Ген хитин-синтазы (CHS) кодирует фермент, отвечающий за образование клеточной стенки (Рис. 2).

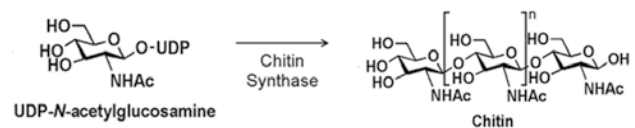


Рис. 2. Синтез хитина при участии фермента хитин-синтазы

Цель исследования – проведение внутривидового типирования для выделения генетически обусловленных токсигенных и нетоксигенных штаммов *Stachybotrys* spp.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Коллекция штаммов *Stachybotrys* spp. включала 16 изолятов, выделенных в чистые культуры из образцов строительных и отделочных материалов жилых, офисных и больничных помещений. Культуральным методом 15 образцов были определены как *Stachybotrys chartarum*, 1 образец – *S. chlorochalonata*. У всех штаммов биохимическим методом определяли количество продуцируемых микотоксинов с помощью коммерческой иммуноферментной тест-системы ELISA (США) в соответствии с инструкцией производителя.

\* Контактное лицо: Руднева Мария Владимировна, тел. (812) 303-51-40



Для выделения ДНК использовали десятидневные культуры. Фрагменты мицелия измельчали с помощью гомогенизатора Precellys. Измельченный мицелий инкубировали с экстракционным буфером SDS 1% (5 mM ЭДТА, 0,1 M NaCl, 1% SDS, 20mM Tris) в течение ночи при 65 °С. Далее проводили экстракцию хлороформ-изоамиловой (24:1) смесью в течение 15 мин, после чего центрифугировали 10 мин при 12 000 об/мин на микроцентрифуге MiniSpin (Eppendorf). ДНК осаждали этанолом при -20 °С, после чего концентрировали центрифугированием в течение 10 мин при 15 000 об/мин. Полученный осадок дважды промывали 70% спиртом, высушивали и растворяли в буфере TE (10mM Tris, 1mM ЭДТА). Концентрацию выделенной ДНК измеряли на флуориметре Qubit (Invitrogen, США).

Амплификацию гена триходииен-синтазы проводили по участку TRI5, присутствующему у всех грибов, продуцирующих микотоксины, и локусу STOX, являющимся таксон-специфичным для рода *Stachybotrys*. Ген хитин-синтазы был амплифицирован по локусу CHS. Для ПЦР по локусу TRI5 применяли праймеры TRI5-5'(5'-CAT CAA TCC AAC AGT TTC AC-3') и TRI5-3'(5'-GCA ACC TTC AAA GAC TAT TG-3') [Cruse M., et al. //Mycologia. – 2002. – Vol. 94]. Участок STOX был амплифицирован с помощью праймеров STOX5-1 (5'-GTC TAT ACT CGA CAA TAG TCC-3') и STOX5-4 (5'-GTC CTT CTG AGA GAA CAC TA-3') [Petrola J., et al. // Can. J. Microbiol. – 2002. – Vol. 48]. Для ПЦР по локусу CHS использовали праймеры Chs1-5' (5'-ATC TCA CCA CAA GCA CCG CCA CAC A-3') и chs1-3' (5'-GGA AGA AGA TCG TTG TGT GCG TGG T-3') [Cruse M., et al. //Mycologia. – 2002. – Vol. 94].

Нами был модифицирован протокол амплификации, предложенный Sodipe A. [1]. ПЦР проводили в 50 мкл смеси, содержащей 0,2 mM дНТФ (Синтол, Москва), 10 пкмоль каждого праймера (Синтол, Москва), 0,9 е.а. Таq-полимеразы (Синтол, Москва), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Синтол, Москва) и 0,5 нг геномной ДНК. Амплификацию осуществляли при следующем режиме: стартовая денатурация 5 мин. – 95 °С; 34 цикла, включающих денатурацию 30 сек. – 95 °С, отжиг 30 сек. – 52 °С, элонгацию 1 мин. – 72 °С; финальная элонгация 10 мин. – 72 °С.

Полученные ПЦР фрагменты разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в трис-борат-ЭДТА буфере в присутствии бромистого этидия и визуализировали в УФ-свете. Очистку продуктов амплификации осуществляли осаждением этанолом в присутствии ЭДТА.

Определение нуклеотидных последовательностей выполняли по методу Сэнджера на генетическом анализаторе ABI Prizm 3500 (Applied Biosystems, США). Реакцию проводили с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) в объеме 10 мкл, согласно рекомендациям производителя. Очистку от терминирующих аналогов нуклеотидов осуществляли набором BigDye XTerminator Purification Kit (Applied Biosystems, США). Полученные последовательности сравнивали с базой данных GenBank.

На основании полученных последовательностей нуклеотидов были построены филогенетические дендрограммы, отражающие степень родства между

штаммами. Филогенетический анализ, основанный на числе пар общих оснований, выполняли в программе MEGA 5.03.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Подобрана оптимальная программа амплификации стахиботрисов для локусов TRI5, STOX и CHS. Показано, что ПЦР идет наиболее эффективно при температуре отжига 52 °С, с количеством ДНК 0,5 нг на реакцию. Биохимическим методом выявили 10 высокотоксичных штаммов, продуцирующих микотоксины в высоких концентрациях, и 6 – средней токсичности.

С помощью мультилокусного типирования по локусам триходииен-синтазы и хитин-синтазы мы провели точную видовую идентификацию изолятов *Stachybotrys* spp., что невозможно при стандартном определении по локусу ITS. Молекулярно-генетическим методом выявлено 15 образцов *Stachybotrys chartarum*, 1 образец – *S. chlorochalonata*, что на 100% соответствует культуральному определению.

Во всех исследуемых образцах мы обнаружили ген триходииен-синтазы и этим доказали токсичность образцов. Построены филогенетические дендрограммы, отражающие степень сходства между штаммами. На основании анализа дендрограмм можно выделить несколько групп штаммов с близкими нуклеотидными последовательностями, которые сходны также по количеству продуцируемых микотоксинов. Дендрограммы по каждому локусу представлены на рисунках 3-5. Кружками выделены группы штаммов высокой токсичности.

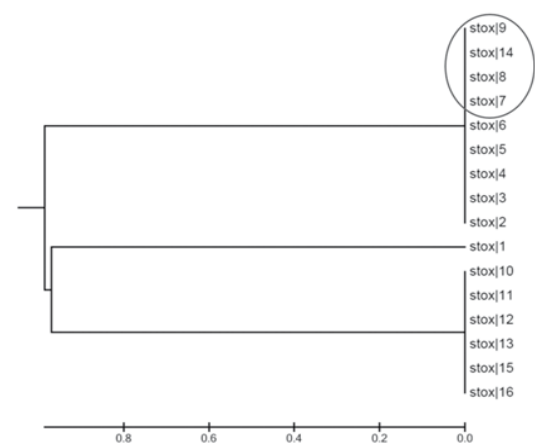


Рис. 3. Филогенетическая дендрограмма по локусу STOX

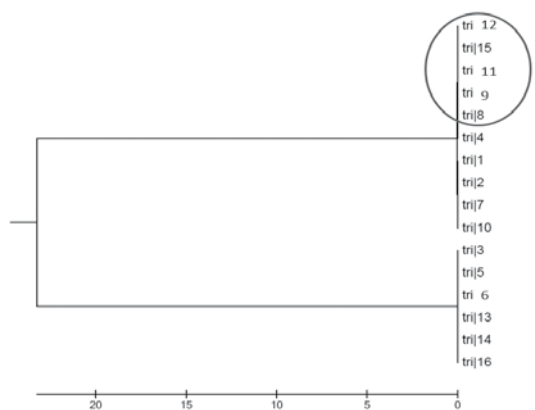


Рис. 4. Филогенетическая дендрограмма по локусу TRI

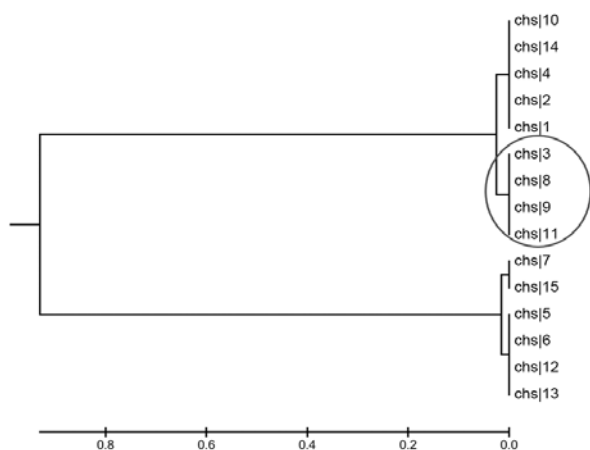


Рис. 5. Филогенетическая дендрограмма по локусу CHS

## ВЫВОДЫ

1. Подобран оптимальный метод молекулярно-генетической идентификации *Stachybotrys* spp. по генам триходииен-синтазы и хитин-синтазы
2. Методом мультилокусного типирования удастся точно определять вид *Stachybotrys* spp.
3. Метод мультилокусного типирования можно обоснованно применять для оценки токсигенных свойств *Stachybotrys* spp.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Sodipe A., Ogbonnia F. Amplification of *Stachybotrys* gene using PCR// Eur. Intern. J. of Sci. and Technol. – 2013. – Vol. 2, №2. – P. 52-62.
2. Black J. Detection of *Stachybotrys chartarum* using rRNA, tri5, and b-tubulin primers and determining their relative copy number by real-time PCR// Mycological Research. – 2008. – Vol. 12. – P. 845-851.
3. Koster B. A multi-gene phylogeny for *Stachybotrys* evidences lack of trichodiene synthase (tri5) gene for isolates of one of three intrageneric lineages// Mycological Research. – 2009. – Vol. 113. – P. 877-886.
4. Semeiks J., Borek D. Comparative genome sequencing reveals chemotype-specific gene clusters in the toxigenic black mold *Stachybotrys*// BMC Genomics. – 2014. – Vol.15, №590. – P.1-16.

Поступила в редакцию журнала 11.12.2015

Рецензент: А.А. Степанова



## АНАЛИЗ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *CANDIDA ALBICANS*, ВЫДЕЛЕННЫХ С КОЖИ БОЛЬНЫХ РАЗНЫХ НОЗОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП

Лисовская С.А. (в.н.с.)\*, Халдеева Е.В. (зав. лаб.), Глушко Н.И. (с.н.с.), Паршаков В.Р. (н.с.)

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Казань, Россия

©Коллектив авторов, 2015

Изучены адгезивные свойства 296 штаммов *C. albicans*, выделенных с кожи пациентов с клиническими признаками поверхностной кандидозной инфекции и их отсутствием. Исследование проводили на 48 часовых культурах *C. albicans*, выращенных на среде Сабуро при температуре 30 °С. Адгезивные свойства выделенных штаммов *C. albicans* выявляли на модели для определения *in vitro*, основанной на взаимодействии адгезинов клеточной стенки грибов с гемоглобином. Адгезивные способности штаммов, полученных с поверхности кожи при кандидозах, коррелируют с клиническими проявлениями заболевания и уровнем обсемененности *C. albicans*. При исследовании штаммов *C. albicans*, изолированных от больных после успешного проведенного лечения, отмечали снижение уровня адгезии в 2-3 раза.

**Ключевые слова:** адгезия, бластоспор, адгезивные свойства штаммов *Candida albicans*, кандидоз, патогенность

## ANALYSIS OF ADHESIVE ACTIVITY OF CLINICAL STRAINS OF *CANDIDA ALBICANS* ISOLATED FROM SKIN OF PATIENTS OF DIFFERENT NOSOLOGICAL GROUPS

Lisovskaya S.A. (leading scientific collaborator), Khaldeeva E.V. (head of the laboratory), Glushko N.I. (senior scientific collaborator), Parshakov V.R. (scientific collaborator)

Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia

©Collective of authors, 2015

Adhesive properties of 296 strains of *C. albicans* isolated from patients with clinical signs of superficial *Candida* infection and in its absence have been investigated. The study was conducted on 48 hour cultures of *C. albicans* grown on Sabouraud medium at a temperature of 30 °C. Determination of adhesive properties of strains of *C. albicans* was carried out using the *in vitro* model based on the interaction of adhesins of cell wall of fungi with hemoglobin. The adhesive ability of strains isolated from the surface of the skin with candidosis correlate with clinical symptoms of the disease and the level of dissemination by *C. albicans*. It was shown the decrease of the adhesion level in 2-3 times for the strains of *C. albicans* isolated from patients after a successful therapy.

**Key words:** adhesive properties of strains *Candida albicans*, blastospores adhesion, candidosis, pathogenity

\* Контактное лицо: Лисовская Светлана Анатольевна, тел.: +7(843)2365659

## ВВЕДЕНИЕ

*C. albicans* обитает повсеместно, включая природные субстраты, также она является комменсалом многих теплокровных животных, в том числе – человека. Носительство *C. albicans* на коже наблюдают более, чем у 30-50% населения. Наибольший процент колонизации кожи грибами возникает за счет кишечной популяции *C. albicans*, но нередко заражение происходит и экзогенным путем [Реброва Р.Н. Грибы рода *Candida* при заболеваниях негрибковой этиологии. – М., 1989].

Считают, что основные звенья в патогенезе возникновения кандидоза кожи: генетическая предрасположенность человека, нарушение барьерной функции кожи, нейровегетативные расстройства, нарушение обмена веществ, длительный прием антибиотиков, сахарный диабет и т.д [1; Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. – М., 2000]. Однако, несмотря на это, все чаще появляются подтверждения существования патогенных штаммов *C. albicans*, способных вызывать кандидозную инфекцию и отличающихся по ряду биохимических и биологических свойств от грибов этого же вида, выделенных от практически здоровых лиц. В связи с этим изучение факторов патогенности грибов особенно важно в плане характеристики штаммов. Выявление определенных патогенных свойств штаммов помогает сделать правильный вывод о грибах как этиологическом факторе заболевания [Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. – М., 2001].

Колонизация организма *C. albicans*, в отличие от кандиданосительства, обусловлена адгезией клеток гриба к эпителию, при которой основную роль выполняют адгезины клеточной стенки. Доказано, что для этого гриб использует различные механизмы [Pendrak M.L., Klotz S.A. // FEMS Microbiol. Lett. – 1995. – Vol. 129]. Физическое взаимодействие гриба с макроорганизмом связано с клеточными поверхностями. Компоненты клеточных стенок, такие как хитин, β-глюкан и липиды принимают участие в способности гриба к адгезии, но основными ее медиаторами являются белки и маннопротеины [Pendrak M.L., Klotz S.A.// FEMS Microbiol. Lett. – 1995. – Vol. 129; Olson E.J., et al.// Infect. Immun. – 1996. – Vol. 64].

Кроме того, актуальность проблемы изучения адгезивной активности *C. albicans* обусловлена прогрессирующим развитием заболеваний, вызываемых данным видом, вследствие воздействия факторов, снижающих специфический иммунный ответ и неспецифическую резистентность организма.

Цель нашей работы – изучение адгезивных свойств штаммов *C. albicans*, выделенных с кожи у лиц с клиническими признаками кандидоза кожи и их отсутствием, с помощью разработанной ранее модели адгезии с иммобилизированным гемоглобином.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали штаммы *C. albicans*, выделенные с кожи пациентов с клиническими признаками поверхностной кандидозной инфекции, а также культуры клинически незначимых, по мнению лечащего врача или миколога, штаммов (колонизация, контаминация), и культуры, полученные от больных, прошедших курс лечения антимикотическими препаратами.

Материалом для исследований служили 48 часовые культуры *S. albicans*, изолированные от пациентов и выращенные на стандартной среде Сабуро при 30 °С.

Грибы идентифицировали микроскопическими и биохимическими методами, проводили тесты на трубки прорастания и ферментацию углеводов. В работе использовали селективные хромогенные среды «CandiSelect 4» (Bio-Rad) и коммерческие тест-системы, основанные на исследовании ауксаногаммы: «Auchacolor 2» (Bio-Rad) [Кулько А.Б. Лабораторная диагностика микозов при туберкулезе. – М., 2001; Клишко Н.Н. и др. Перечень основных методов и критериев диагностики микозов. – СПб., 2001].

Адгезивные свойства выделенных штаммов *S. albicans* определяли на ранее разработанной авторами модели адгезии клеток гриба на нитроцеллюлозную пленку с иммобилизованным гемоглобином [2].

Полученную пленку площадью 7 см<sup>2</sup> инкубировали при 30 °С с 3 мл суспензии клеток гриба в 0,1М фосфатном буфере в течение двух часов. Начальная оптическая плотность суспензии клеток составляла 0,10-0,15 при длине волны 540 нм. Уровень адгезии определяли по разнице начальной и конечной оптической плотности суспензии клеток, а также прямым подсчетом клеток в суспензии с помощью микроскопа Биолан Р-11 при увеличении 10х20, подсчитывали не менее 10 полей зрения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обследовано 1860 пациентов в возрасте от 0 до 60 лет с поражением кожных покровов на наличие грибов-возбудителей.

Первую (основную) группу больных составили лица младшего и среднего возрастов с диагнозом «атопический дерматит» (АД). АД – это хроническое заболевание кожи, сопровождающееся сильным зудом и, как следствие, повреждением кожного покрова, что нередко приводит к осложнению грибковой инфекцией [Маланичева Т.Г. и др. //Практическая медицина. – 2003. – №1]. Установлено, что при исследовании кожных покровов у больных с АД *S. albicans* в посевах выявляли в 57% случаях (Рис. 1).

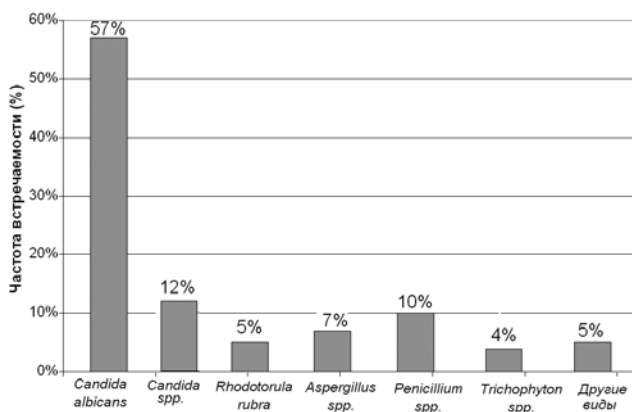


Рис. 1. Частота встречаемости микромицетов у больных с диагнозом «атопический дерматит»

Сопровождающие атопический дерматит нарушения иммунитета могут способствовать расширенной колонизации условно-патогенной микробиотой, в том числе – *S. albicans* с различной степенью вирулентно-

сти [Маланичева Т.Г. и др. //Практическая медицина. – 2003. – №1]. В связи с этим, нами изучены адгезивные способности штаммов *S. albicans*, выделенных от больных АД, для характеристики их патогенности.

Исследовали 130 штаммов *S. albicans*, полученных от больных четырех основных возрастных групп, характеризующихся своими особенностями иммунитета: до 3-х лет, от 3 до 12 лет, от 12 до 17 лет, от 17 до 30 лет. Все возрастные группы разделили на две основные группы – с высокой обсемененностью (КОЕ>10<sup>4</sup> ед/мл) и низкой обсемененностью (КОЕ<10<sup>2</sup> ед/мл).

При исследовании адгезивных свойств штаммов *S. albicans* установили, что, в зависимости от возраста пациента, взаимосвязь обсемененности с уровнем адгезии проявляется различным образом (табл. 1). Так, для детей до 3 лет часто, даже при очень высокой обсемененности (КОЕ>10<sup>5</sup> ед/мл), штаммы характеризовались невысоким уровнем адгезии (<5%), тогда как для возрастных групп от 12-17 и 17-30 лет, в большинстве случаев, штаммам с низким уровнем адгезии соответствовала низкая степень обсемененности анатомической точки, а штаммам с высоким уровнем адгезии – высокая степень обсемененности.

Таблица 1.

Адгезивные свойства штаммов, выделенных с кожных покровов больных с диагнозом «атопический дерматит» различных возрастных групп

Уровень обсемененности <i>S. albicans</i>	Возрастные группы больных	Общее количество штаммов	Количество штаммов при различном уровне адгезивной активности		
			<5%	5-12%	12-20%
КОЕ>10 <sup>4</sup> ед/мл	дети до 3-х лет	18	12	4	2
	от 3 до 12 лет	25	6	13	6
	от 12 до 17 лет	20	3	7	10
	от 17 до 30 лет	17	2	4	11
КОЕ<10 <sup>2</sup> ед/мл	дети до 3-х лет	6	4	1	1
	от 3 до 12 лет	15	9	4	2
	от 12 до 17 лет	12	8	3	1
	от 17 до 30 лет	17	11	4	2

По выявленным результатам адгезивной активности менее 5% отмечали, что у детей младшего возраста, и, в некоторых случаях, старшей группы больных АД, дрожжевая инфекция чаще протекает в форме неинвазивного процесса и является следствием основного заболевания. В то же время, в старшей группе больных чаще выделяли штаммы с высоким уровнем адгезии, что служит показателем более выраженных патогенных свойств штамма и его, возможно, более активной роли в инфекционном процессе.

Вторую группу составили штаммы, изолированные от пациентов с поражением кожного покрова с диагнозом микоза и кандидоза кожи. Выделено 90 штаммов *S. albicans* от больных в возрасте от 10 до 54 лет с клинически подтвержденным диагнозом с выраженной клинической картиной поражения кожного покрова с высокой и низкой степенью обсемененности. При этом у 20% пациентов в возрасте от 32 до 54 лет отмечали хроническое течение кандидоза и микоза кожи.

У штаммов *S. albicans*, полученных от больных с диагнозом микоза и кандидоза кожи, во всех возрастных группах можно проследить устойчивую закономерность в адгезивных способностях (табл. 2). Так, при высокой степени обсемененности в посевах уровень адгезии в 90% случаях был высоким или умеренно высоким, а при низкой степени обсемененности в 80% случаях – низким.

Таблица 2.

**Адгезивные свойства штаммов, выделенных с кожных покровов больных с клинически подтвержденным диагнозом микоза и кандидоза кожи различных возрастных групп**

Уровень обсемененности <i>C. albicans</i>	Возрастные группы больных	Общее количество штаммов	Количество штаммов при различном уровне адгезивной активности		
			<5%	5-12%	12-20%
КОЕ > 10 <sup>3</sup> ед/мл	от 10 до 17 лет	15	1	4	10
	от 17 до 32 лет	15	2	4	8
	от 32 до 54 лет	15	2	7	6
КОЕ < 10 <sup>2</sup> ед/мл	от 10 до 17 лет	15	12	3	0
	от 17 до 32 лет	15	9	5	1
	от 32 до 54 лет	15	10	5	0

Во всех случаях при диагностике кандидоза учитывали результаты комплексного обследования больного, однако наличие клинической картины оставалось одним из главных критериев. Отсутствие клинических признаков болезни и небольшое количество высевных грибов (до 100 колоний) врачи рассматривают как кандиданосительство, а выделенные штаммы принято считать клинически незначимыми. Помимо этого, *C. albicans* в небольшом количестве можно обнаружить при посевах после успешно проведенной антифунгальной терапии.

В связи с этим, группу клинически незначимых составили штаммы *C. albicans*, выделенные от пациентов без клинических признаков кандидоза, в количестве менее 10<sup>2</sup> КОЕ/мл. Всего в данную группу было отнесено 43 штамма. Другая группа (31 штамм) получена от больных, прошедших курс антифунгального лечения, при отсутствии клинических проявлений.

Адгезивная активность клинически незначимых штаммов варьировала в узком диапазоне значений от 2,3% до 4,5%. При исследовании штаммов *C. albicans*, изолированных от больных после успешно проведенной терапии, установили снижение уровня адгезии в 2-3 раза (табл. 3).

Таблица 3.

**Адгезивные свойства клинически незначимых штаммов *C. albicans* и штаммов, выделенных от больных до и после успешно проведенного лечения**

Группы штаммов	Общее количество штаммов	Среднее количество <i>C. albicans</i> , КОЕ/мл	Средний уровень адгезии, %
Штаммы <i>C. albicans</i> , выделенные с кожи больных до лечения	30	(2,6±0,1)×10 <sup>3</sup>	14,8±1,2
Штаммы <i>C. albicans</i> , выделенные с кожи больных после лечения	31	менее 10 <sup>2</sup>	6,1±0,1
Штаммы <i>C. albicans</i> , выделенные с кожи от пациентов без клинических признаков кандидоза	43	менее 10 <sup>2</sup>	3,2±0,3

Характер выявленных изменений хорошо согласуется с клиническими проявлениями заболевания и культуральными исследованиями. У больных в фазе ремиссии представительство *C. albicans* в составе микробиоты значительно снижается, приближаясь к количеству менее 10<sup>2</sup> КОЕ/мл, что характерно для нормобиоты.

## ВЫВОДЫ

1. При сопоставлении результатов, полученных для штаммов, выделенных при атопическом дерматите и микозах кожи, установили, что в случае АД при имеющихся повреждениях кожного покрова симптомы кандидоза могут быть обусловлены менее агрессивными штаммами, чем при кандидозе кожи, что требует учета патогенетических особенностей этих заболеваний.

2. В результате анализа адгезивной активности штаммов до и после лечения отмечали значительное снижение уровня адгезии, в некоторых случаях – до уровня клинически незначимых штаммов. Можно предположить, что проведенное лечение, затрагивая основные жизненные функции грибковой клетки, нарушает при этом процесс синтеза адгезинов.

Однако грань между транзитным кандиданосительством и кандидозом остается весьма тонкой и в определенных условиях, в частности, при снижении иммунитета, может быть преодолена.

3. Поскольку в условиях значительного «прессинга» со стороны многочисленных неблагоприятных факторов внешней среды, иммунологические показатели человеческой популяции ухудшаются, saniрующее лечение кандиданосителей, особенно – в группах риска при выявлении штаммов с повышенными адгезивными свойствами, представляется полезным.

4. С помощью определения адгезивных свойств штамма можно установить этиологическую роль гриба в данном заболевании, то есть выяснить – является он возбудителем заболевания или комменсалом.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Шевяков М.А., Авдеенко Ю.Л., Бурьгина Е.В., Пуговкина О.А. «Белые налеты» в пищеводе. Диагностика кандидоза, включая дифференциальную // Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т. 15, №2. – С. 25-27.
- Лисовская С.А., Глушко Н.И., Халдеева Е.В. Лабораторная модель для определения адгезивных свойств дрожжеподобных грибов // Проблемы медицинской микологии. – 2006. – Т. 8, №3. – С. 36-39.

Поступила в редакцию журнала 07.12.2015

Рецензент: Ю.В. Борзова



## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ОПАСНЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА МИКРОМИЦЕТОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАСТЕНИЙ- ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ

Свистова И.Д. (профессор кафедры), Кувшинова  
Н.М. (аспирант кафедры)\*

Воронежский государственный педагогический  
университет, Воронеж, Россия

© Свистова И.Д., Кувшинова Н.М., 2015

*Исследовали нарушения комплекса микромицетов в прикорневой зоне растений – продуцентов натуральных подсластителей. Показано накопление опасных для человека видов грибов, которые могут загрязнять растительную продукцию. Для получения экологически чистой продукции необходимо проводить микологический мониторинг почвы. Предложены индикаторные виды грибов для разных групп растений-подсластителей.*

**Ключевые слова:** биобезопасность, индикаторные виды, микро-биомониторинг, почвенные микромицеты, растительное сырье

## THE SPREAD OF DANGEROUS FOR PEOPLE MICROMYCETES IN CASE OF PLANTS- SWEETENERS CULTIVATION

Svistova I.D. (professor of the chair), Kuvshinova  
N.M. (postgraduate student)

Voronezh State Pedagogical University, Voronezh, Russia

© Svistova I.D., Kuvshinova N.M., 2015

*Violations of the complex of micromycetes in the rhizosphere of plants – producers of natural sweeteners have been investigated. It was shown the accumulation of dangerous for people species of fungi that can contaminate herbal products. It is necessary to conduct mycological monitoring of soil for getting environmentally friendly products. Indicator species of micromycetes for different groups of plants-sweeteners are proposed.*

**Key words:** biosafety, indicator species, microbiome-monitoring, plant resource, soil micromycetes

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы расширяется производство продуктов диетического питания для больных диабетом. При этом широко используют натуральные подсластители растительного происхождения: метаболизируемые полисахариды и сахара (не глюкозу) и неметаболизируемые гликозиды сладкого вкуса [Кретович В.Л. Биохимия растений. – М., 1986]. Необходимо увеличивать объемы выращивания растений, содержащих натуральные подсластители, среди которых есть представители региональной флоры и интродуценты [1]. Корневые выделения (ризодепозиты) растений – мощный фактор развития микроорганизмов в прикорневой зоне растений и их биохимической активности [Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М., 1988]. Ризодепозиты растений, содержащих подсластители, могут вызывать сукцессию почвенных микроскопических грибов. Экологические последствия введения в культуру растений-продуцентов натуральных подсластителей и безопасность для человека получаемого растительного сырья практически не исследованы. Ранее нами продемонстрированы негативные изменения свойств почвы и накопление опасных для человека видов микромицетов при выращивании в монокультуре лекарственных растений ряда семейств [2-4].

Цель работы – оценка нарушения комплекса микромицетов почвы и безопасности растительного сырья при введении в культуру растений-продуцентов натуральных подсластителей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полевые эксперименты проводили на стационарном полевом микроделяночном опыте на черноземе выщелочном. В 4-х летней монокультуре выращивали две группы растений – нетрадиционные сахароносы и продуценты подсластителей. В первую группу входили: якон осотolistный *Smilax sonchifolius* (Poepp.) H. Rob., подсолнечник клубненосный или топинамбур *Helianthus tuberosus* L. (эти виды накапливают фруктозу и ее полимер – инулин в клубнях) и чужа *Cyperus esculentus* L. (клубеньки содержат крахмал и сахарозу). Представители второй группы: стевия медовая *Stevia rebaudiana* Cav., содержащая неметаболизируемые гликозиды стевииозид и ребаудиозид в листьях и стеблях, и солодка голая *Glycyrrhiza glabra* L., накапливающая гликозид глицерризин в корневищах [Кретович В.Л. Биохимия растений. – М., 1986]. Контроль – почва без растений на том же участке.

Анализировали численность, видовой состав и структуру комплекса микромицетов почвы. Пробы отбирали из верхнего слоя 0-20 см в течение трех лет в динамике по сезону (представлены усредненные данные). Грибы выделяли на агаризованной среде Чапека. Изоляты идентифицировали до вида с помощью определителей для соответствующих классов грибов. Структуру комплекса микромицетов оценивали по частотам пространственной и временной встречаемости видов [Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М., 1988].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В прикорневой зоне растений-продуцентов натуральных подсластителей численность грибов значительно возрастала по сравнению с контролем (табл.

\* Контактное лицо: Кувшинова Наталья Михайловна,  
Тел.: 8-950-762-82-52

1). Наибольшую численность выявили в почве под чуйкой, что является подтверждением мощной экссудации сахаров в составе ризодепозитов этой культуры с C<sub>4</sub>-типом фотосинтеза.

Таблица 1.

**Численность и показатели структуры комплекса микромицетов в почве прикорневой зоны растений – продуцентов натуральных подсластителей**

Растения	Численность микромицетов, КОЕ/г	Количество видов грибов	Индекс Шеннона	К сходства Серенсена
Контроль (без растений)	22	26	3,42	1,00
<i>Нетрадиционные сахароносы</i>				
Топинамбур	26	11	2,52	0,44
Якон осотolistный	27	10	2,35	0,41
Чуфа	77	9	2,56	0,37
<i>Продуценты гликозидов</i>				
Стевия медовая	25	14	2,78	0,53
Солодка голая	22	15	3,11	0,62

В контроле нами были выделены 26 видов грибов. Комплекс микромицетов чернозема отличался высокими показателями  $\alpha$ -разнообразия и выравненности. Доминантами были представители семейства *Moniliaceae*: *Cephalosporium acremonium* Corda, *Paecilomyces lilacinum* Thom., *Acremonium alternatum* Lk. ex Fries, *Penicillium tardum* Thom. – олиготрофные психрофильные виды, стенотопные для степной зоны. Индекс видового разнообразия Шеннона в этом варианте опыта имел наибольшее значение. По-видимому, в парующей почве завершается минерализация трудно разлагаемых компонентов растительных остатков, накапливается олиготрофная «микобиота рассеяния».

Под растениями-продуцентами подсластителей наблюдали нарушения видового состава почвенных микромицетов. К общим закономерностям относятся, во-первых, снижение  $\alpha$ -разнообразия комплексов почвенных грибов. Видовое богатство снижалось с 26 до 9-15 видов, наиболее сильно – под монокультурами нетрадиционных сахароносов. Показатель видового разнообразия комплекса индекс Шеннона заметно снижен.

Второй особенностью является резкое возрастание плотности типичных видов грибов с 46 до 60-79% за счет элиминации не только случайных, но и типичных видов. Это явление, называемое «концентрацией доминирования» нескольких видов, служит показателем стрессового состояния микробного сообщества почвы в прикорневой зоне исследуемых растений.

Третья закономерность – нарушение видового состава почвенных грибов в прикорневой зоне растений по сравнению с контролем (средние и низкие значения показателя  $\beta$ -разнообразия К сходства Серенсена). Типичные в контроле виды переходили в ранг редких или случайных, часто вообще не выделяли. Направленность грибной сукцессии под монокультурами растений зависела от состава их ризодепозитов. Виды, частота встречаемости которых в прикорневой зоне заметно возрастала, считали индикаторными для этих растений (табл. 2).

Таблица 2.

**Индикаторные виды почвенных микромицетов в прикорневой зоне растений-продуцентов натуральных подсластителей**

Нетрадиционные сахароносы	Продуценты гликозидов
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai*	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai*
<i>Aspergillus terreus</i> Thom.	<i>Talaromyces flavus</i> (Klocker) Stolk et Samson*
<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	<i>P. canescens</i> Sopp.*
<i>A. fisheri</i> Thom. et Church.*	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom.	<i>Penicillium notatum</i> West.
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb. Ex Link) Lind	<i>P. lanosum</i> Westling*
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	<i>P. viridicatum</i> Westling*
	<i>P. restrictum</i> Gilb. et Abb.*
	<i>P. janthinellum</i> Biourge*

\*не выделяли в контроле.

Под монокультурами растений-нетрадиционных сахароносов в ранге доминантов и часто встречающихся выделяли представителей группы «сахарных» грибов – копиотрофов: *Rhizopus stolonifer*, *Mucor hiemalis*, или быстро растущих гидролитиков: *Trichoderma harzianum*, виды рода *Aspergillus*. В прикорневой зоне растений-продуцентов сладких гликозидов снижалась частота встречаемости копиотрофов, доминантами были нехарактерные для чернозема представители родов *Penicillium*, *Talaromyces*.

Обращает на себя внимание накопление видов, продуцирующих микотоксины с фитотоксическим действием [5; Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М., 1988]. Подобные нарушения комплекса микромицетов означают усиление метаболической регуляции системы почва – микробное сообщество – растения в виде как прямых (влияние биологически-активных соединений растений на почвенные микромицеты), так и обратных (влияние микотоксинов грибов на растения) взаимодействий.

Ранее нами было показано, что микотоксины указанных видов грибов проявляют широкий спектр биологического действия, в том числе не только фитотоксическое, но антибиотическое и фунгицидное [6]. Известно и зоотоксическое действие микотоксинов индикаторных видов грибов [Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты). – М., 1985]. Следовательно, нарушение состава и структуры комплекса почвенных микромицетов может вызвать более значительные экологические последствия, влияя не только на растения, но и на другие компоненты микробного сообщества почвы (бактерии, актиномицеты, грибы), а также на животных. Кроме того, ряд индикаторных видов микромицетов проявляют патогенное действие на человека, вызывая частные и системные микозы, а также аллергические реакции [7]. В виде споровой суспензии они могут вызывать аллергические реакции типа бронхиальной астмы, ринитов, дерматитов, сенсibilизации организма.

Растительное сырье (клубни, корневища), полученное в многолетней монокультуре, оказывается контаминировано ризосферной микобиотой, опасной для здоровья человека. Надземная биомасса стевии (листья, стебли) заселена микобиотой филлосферы, которая, в основном, имеет ризосферное происхождение.

## ВЫВОДЫ

1. Обнаружили нарушения комплекса микромицетов в почве под многолетними монокультурами растений-подсластителей, которые имеют опасные экологические последствия: возрастает доля токсигенных,

условно-патогенных и аллергенных видов грибов, загрязняющих растительное сырье.

2. Для получения экологически безопасной продукции необходимо выращивать растения-подсластители не в многолетней монокультуре, а в научно-обоснованных севооборотах, с обязательным контролем на-

копления токсигенных видов микромицетов в почве.

3. Выявили индикаторные виды грибов для микологического мониторинга почвы при выращивании разных групп растений – продуцентов натуральных подсластителей.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Верзилина Н.Д.* Стевия в Центральном Черноземье. – Воронеж: ВГАУ, 2013. – 210 с.
2. *Свистова И.Д., Парамонов А.Ю.* Влияние лекарственных растений на микромицеты и биологическую активность почвы// Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, №3. – С. 50-53.
3. *Свистова И.Д., Парамонов А.Ю.* Индикаторные виды микромицетов в почве под лекарственными растениями// Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, №3. – С. 54-56.
4. *Свистова И.Д., Кувшинова Н.М., Назаренко Н.Н.* Накопление опасных для человека микромицетов в почве под лекарственными растениями// Успехи медицинской микологии. – 2014. – Т. 12. – С. 117-123.
5. *Свистова И.Д., Кувшинова Н.М., Назаренко Н.Н.* Биотестирование чернозема для разработки севооборотов лекарственных растений// Вестник Воронежского ГАУ. – 2014. – № 4 (43). – С. 47-51.
6. *Свистова И.Д., Сенчакова Т.Ю.* Спектр биологической активности микромицетов чернозема// Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т. 11, №1. – С. 30-33.
7. *Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А.* Микроскопические грибы в связи с проблемами биологической безопасности (обзор)// Проблемы медицинской микологии. – 2011. –Т. 13, №3. – С. 3-12.

Поступила в редакцию журнала 10.12.2015

Рецензент: Н.П. Елинов







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

Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77

E-mail: mycobiota@szgmu.ru. Заведующая редакцией: Е.С.Гукова.

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

Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA. Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77

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

**«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»**

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

Журнал включен в реферативный журнал и базы ВИНТИ.

Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям

«Ulrich's Periodicals Directory».

Оригинал-макет — НИИ «Медицинской микологии им. П. Н. Кашкина СЗГМУ».

Подписано в печать 18.12.2015. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 9. Тираж 999 экз.