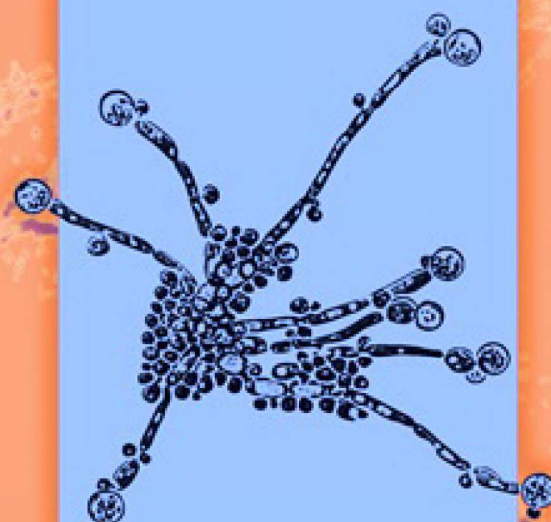


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23 №3



Problems in medical mycology

Vol.23 №3

2021

Защищать и спасать

Показания к применению препарата Ноксафил®:

- Профилактика инвазивных грибковых инфекций
- Лечение рефрактерных инвазивных грибковых инфекций
- Лечение орофарингеального кандидоза (см. инструкцию по применению)

КОРОТКАЯ SSI (Selected Safety Information, Ключевая информация по безопасности)

Ключевая информация по безопасности препарата Ноксафил® (позаконазол) в соответствии с одобренной в РФ Инструкцией, регистрационный номер ЛСР - 004329/07 и ЛП-Н (000074)-(РГ-РУ)

Противопоказания:

- Повышенная чувствительность к какому-либо из компонентов препарата.
- Совместное применение с алкалоидами спорыньи (в связи с риском повышения концентрации алкалоидов спорыньи в крови и развития эрготизма), субстратами CYP3A4 — терфенадином, астемизолом, цисапридом, пимозидом, галофантрином или хинидином (в связи с риском повышения концентрации данных препаратов в крови, последующего удлинения интервала QTc и, в редких случаях, развития пируэтной желудочковой тахикардии (torsades de pointes)), ингибиторами ГМГ КоА-редуктазы — симвастатином, ловастатином и аторвастатином (в связи с риском повышения концентрации данных препаратов в крови и развития рабдомиолиза).
- Беременность, если преимущества лечения для женщины значительно не перевешивают потенциальный риск для плода.

С осторожностью:

- При повышенной чувствительности к другим азольным соединениям в анамнезе.
- При тяжелом нарушении функции печени, дисфункции ЖКТ
- При врожденном или приобретенном удлинении интервала QTc; при кардиомиопатии, особенно в сочетании с сердечной недостаточностью; при синусовой брадикардии; при диагностированных симптоматических аритмиях; при совместном приеме с лекарственными средствами, удлиняющими интервал QTc (кроме перечисленных в разделе «Противопоказания») — в связи с повышенным риском развития нарушений сердечного ритма.
- Лекарственные взаимодействия: позаконазол является ингибитором изофермента CYP3A4 и, если пациент уже принимает препараты, метаболизируемые изоферментом CYP3A4, то позаконазол должен применяться только в особых случаях. Имеет место винкристиновая токсичность. Рифамициновые антибактериальные средства, определенные антиконвульсанты, эфавиренз и циметидин могут значительно снижать концентрацию позаконазола. Мидазолам и другие бензодиазепины: совместный прием с позаконазолом связан с риском развития длительной седации и возможного угнетения дыхательной функции.

Побочные явления: : часто - тошнота (6%) и головная боль (6%). Серьезные нежелательные явления, (с частотой 1%) гипербилирубинемия, повышение активности ферментов печени, повреждение гепатоцитов, тошнота и рвота. Редкие (>1/10000, <1/1000) жизнеугрожающие побочные явления кардиологические расстройства: пируэтная желудочковая тахикардия, внезапная смерть, желудочковая тахикардия, остановка сердца и дыхания, сердечная недостаточность, инфаркт миокарда; сосудистые расстройства: нарушение мозгового кровообращения, тромбоз эмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен (неуточненный).

Применение в педиатрии: эффективность и безопасность применения Ноксафил - суспензия у детей в возрасте до 13 лет не установлены. Безопасность и эффективность препарата Ноксафил – кишечнорастворимые таблетки у детей в возрасте до 18 лет не установлены.

Использование позаконазола во время беременности противопоказано, если преимущества лечения для женщины значительно не перевешивают потенциальный риск для плода.

Показания: Профилактика инвазивных грибковых инфекций
Лечение рефрактерных инвазивных грибковых инфекций
Лечение орофарингеального кандидоза (см. инструкцию по применению)

Регистрационный номер: ЛСР-004329/07 от 09.12.2019, ЛП-Н (000074)-(РГ-РУ) от 12.08.2020. Отпускается по рецепту. Перед назначением/применением любых препаратов, упоминающихся в данном материале, пожалуйста, ознакомьтесь с полными инструкциями по медицинскому применению, предоставляемыми производителями. Компания MSD не рекомендует применять препараты компании способами, отличными от описанных в инструкциях по применению.

Адрес: ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия, 119021, г. Москва, ул. Тимура Фрунзе д. 11 стр.1

Тел.: +7 495 916 71 00, Факс: +7 495 916 70 94.

msd.ru

SSI от 09.2021

ENC-POS-0027-RU

ISI-2984 09.2021

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Honored Scientist of the Russian Federation, Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

Manager of Editorial Office —

E.S. Gukova (elena.gukova@szgmu.ru)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

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

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 23, № 3, 2021

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

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.

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23, № 3, 2021

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.В. Васильева — Заслуженный деятель науки Российской Федерации, д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

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

А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

Зав. редакцией —

Е.С. Гукова (elena.gukova@szgmu.ru)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Игнатъева С.М., Богомолова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Аак О.В., Соловьева Г.И., Борзова Ю.В., Хостелиди С.Н., Шадринова О.В., Козлова О.П., Попова М.О., Чудиновских Ю.А., Зюзгин И.С., Успенская О.С., Климко Н.Н., Васильева Н.В.</i> Применение мультиплекс-ной тест-системы «Hrm-Zygo-Asp» в реальном времени при исследовании свежих и парафинизированных, фиксированных в формалине тканей больных мукормикозом.....	3
<i>Веселов А.В., Солопова Г.Г.</i> Суспензия позаконазола у гематологических пациентов подросткового возраста. Краткий обзор клинических данных.....	13
<i>Медведева Т.В., Леина Л.М., Петунова Я.Г., Чилина Г.А., Пчелин И.М.</i> Антропонозная трихофития: представление об этиологии, эпидемиологии, дифференциальном диагнозе. Клинические случаи и обзор литературы.....	29

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В.</i> Иммунопатогенез орофарингеального кандидоза у больных гемобластозами.....	38
<i>Шабалин В.Н., Шатохина И.С., Шатохина С.Н.</i> Морфологические структуры <i>Candida</i> spp. в биологических жидкостях больных висцеральным кандидозом.....	46
<i>Шабашова Н.В., Ткаченко Е.М.</i> Влияние традиционной терапии острых вирусных инфекций на иммунитет.	53
<i>Корнишева В.Г., Авдеенко Ю.Л., Кукушкина К.С.</i> Первичная идиопатическая псевдопелада (Брока). Клинический случай	58

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Рябинин И.А., Аак О.В., Васильева Н.В.</i> Поиск и реконструкция белков с доменами, уникальными для царства <i>Fungi</i> , как перспективных иммунохимических (антигенных) маркеров для создания экспресс-тест-систем индикации мукоромицетов в биоматериалах человека.	62
<i>Оганесян Э.Г., Выборнова И.В., Ковыршин С.В., Тараскина А.Е., Мошкевич И.Р., Богомолова Т.С., Чилина Г.А., Гордеева С.А., Борзова Ю.В., Козлова О.П., Васильева Н.В.</i> Изоляты <i>Candida auris</i> от пациентов с COVID-19: идентификация, резистентность к противогрибковым препаратам.....	72

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Ignatieva S.M., Bogomolova T.S., Avdeenko Y.L., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Aak O.V., Solovyeva G.I., Borzova Yu.V., Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Kozlova O.P., Popova M.O., Chudinovskikh Y.A., Zyuzgin I.S., Uspenskaya O.S., Klimko N.N., Vasilyeva N.V.</i> The use of the multiplex test system "Hrm-Zygo-Asp" in real time in the study of fresh and paraffinized, formalin-fixed tissues of patients with mucormycosis.....	3
<i>Veselov A.V., Solopova G.G.</i> Posaconazous suspension in adolescent hematological patients. Clinical summary.....	13
<i>Medvedeva T.V., Leina L.M., Petunova Y.G., Chilina G.A., Pchelin I.M.</i> Anthroponous trichophytosis: view of the etiology, epidemiology, differential diagnosis. Clinical cases and literature review.....	29

CLINICAL MYCOLOGY

<i>Danilova J.Y., Shabashova N.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V.</i> Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in patients with hemoblastosis.....	38
<i>Shabalin V.N., Shatokhina I.S., Shatokhina S.N.</i> Morphological structures of <i>Candida</i> spp. in biological fluids of patients with visceral candidiasis	46
<i>Shabashova N.V., Tkachenko E.M.</i> The effect of traditional therapy of acute viral infections on immunity.....	53
<i>Kornisheva V.G., Avdeenko Y.L., Kukushkina K.S.</i> Primary idiopathic pseudopelade (Brocq). Clinical case.....	58

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

<i>Ryabinin I.A., Aak O.V., Vasilyeva N.V.</i> The revealing and reconstruction of proteins with domains unique for the kingdom <i>Fungi</i> as prospective immunochemical (antigenic) markers for creation of express-test-systems for mucoromycetes indication in human biomaterials.....	62
<i>Oganesyanyan E.G., Vybornova I.V., Kovyryshin S.V., Taraskina A.E., Moshkevich I.R., Bogomolova T.S., Chilina G.A., Gordееva S.A., Borzova Yu V., Kozlova O.P., Vasilyeva N.V.</i> Isolates <i>Candida auris</i> from patients with COVID-19: identification, resistance to antifungal drugs.	72

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «HRM-ZYGO-ASP» В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ СВЕЖИХ И ПАРАФИНИЗИРОВАННЫХ, ФИКСИРОВАННЫХ В ФОРМАЛИНЕ ТКАНЕЙ БОЛЬНЫХ МУКОРМИКОЗОМ

¹Игнатъева С.М. (в.н.с.)*, ¹Богомоллова Т.С. (зав. лаб.), ¹Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), ¹Фролова Е.В. (зав. лаб.), ¹Учеваткина А.Е. (с.н.с.), ¹Филиппова Л.В. (с.н.с.), ¹Аак О.В. (в.н.с.), ¹Соловьева Г.И. (в.н.с.), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой), ¹Хостелиди С.Н. (доцент), ¹Шадринова О.В. (доцент), ¹Козлова О.П. (доцент), ²Попова М.О. (врач-гематолог), ³Чудиновских Ю.А. (врач-гематолог), ³Зюзгин И.С. (зав. отд.), ⁴Успенская О.С. (зав. отд.), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина; кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии); ²Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой; ³Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова; ⁴Ленинградская областная больница, Санкт-Петербург, Россия

Цель работы заключалась в апробации разработанной ранее мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» в режиме реального времени (RV) с анализом кривых плавления ПЦР-продуктов высокого разрешения (HRM) для выявления и идентификации мукоормицетов. Исследовали 30 клинических образцов от 25 больных мукоормикозом: биоптаты, аутопсийный материал, операционный материал, парафиновые блоки с тканями, фиксированными в формалине. Показаны сравнительные результаты исследования биологического материала молекулярными, микологическими, гистологическими и серологическими методами. Отмечена перспективность использования мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» для выявления мукоормицетов при отрицательном результате посевов биосубстратов, а также при диагностике сочетанной мукоормикоз-аспергиллезной инфекции.

Ключевые слова: мукоормикоз, инвазивный аспергиллез, биологические образцы, онкогематологические пациенты, мукоормицеты, аспергиллы, мультиплексная тест-система

*Контактное лицо: Игнатъева Светлана Михайловна, e-mail: svetlana.ignatieva@szgmu.ru

THE USE OF THE MULTIPLEX TEST SYSTEM "HRM-ZYGO-ASP" IN REAL TIME IN THE STUDY OF FRESH AND PARAFFINIZED, FORMALIN-FIXED TISSUES OF PATIENTS WITH MUCORMYCOSIS

¹Ignatieva S.M. (leading scientific researcher), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Avdeenko Y.L. (senior scientific researcher), ¹Frolova E.V. (head of the laboratory), ¹Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), ¹Filippova L.V. (senior scientific researcher), ¹Aak O.V. (leading scientific researcher), ¹Solovyeva G.I. (leading scientific researcher), ¹Borzova Yu.V. (head of the clinic), ¹Khostelidi S.N. (associate professor), ¹Shadrivova O.V. (associate professor), ²Popova M.O. (physician-hematologist), ³Chudinovskikh Y.A. (physician-hematologist), ³Zyuzgin I.S. (head of the clinical department), ⁴Uspenskaya O.S. (head of the clinical department), ¹Klimko N.N. (head of the department), ¹Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kashkin Research Institute of Medical Mycology; Department of Clinical Mycology, Allergy and Immunology); ²R. Gorbachova Institute of Children's Hematology and Transplantation; ³N.N. Petrov Research Institute of Oncology; ⁴Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

The purpose of the work was to test the previously developed multiplex PCR test system "HRM-Zygo-Asp" in real time (RV) with the analysis of the melting curves of high-resolution PCR products (HRM) for the detection and identification of mucormycetes. 30 clinical samples from 25 patients with mucormycosis were examined: biopsies, autopsy material, surgical material, paraffin blocks with tissues fixed in formalin. Comparative results of the study of biological material by molecular, mycological, histological and serological methods are shown. The prospects of using the multiplex PCR test system "HRM-Zygo-Asp" for the detection of mucormycetes with a negative result of biosubstrate crops, as well as in the diagnosis of combined mucormycosis-aspergillosis infection were noted.

Key words: mucormycosis, invasive aspergillosis, oncogematology patients, mucormycetes, *Aspergillus*, polymerase chain reaction (PCR), multiplex test system.

ВВЕДЕНИЕ

Мукоормикоз – тяжелая инфекция, характеризующаяся быстрым прогрессированием и высокой летальностью у иммунокомпрометированных и инфи-

цированных COVID-19 пациентов [1, 2]. Для успешного лечения таких больных решающее значение имеют ранняя диагностика и противогрибковая терапия. Традиционные микроскопические и культуральные методы идентификации микромицетов обладают рядом недостатков, связанных с длительностью инкубации на питательных средах, морфологическими изменениями возбудителей в патологическом материале и низким высевом мукодомицетов из биологического образца (не превышает 60%). Серологические методы диагностики мукодомикозов отсутствуют. При гистологическом исследовании патологического материала иногда сложно различить возбудителей мукодомикоза и других микозов [3]. Мукодомикоз и аспергиллез имеют сходные рентгенологические и клинические признаки, но их противогрибковая терапия отличается. Для каждой из этих инфекций ранняя диагностика и начало направленного лечения имеют важное значение для снижения летальности. При мукодомикозе для стартовой терапии используют липидные формы амфотерицина В, а для лечения инвазивного аспергиллеза – вориконазол или изавуконазол.

Использование молекулярных методов в исследовании клинического материала может улучшить диагностику и лечение мукодомикоза [4]. Известно, что некоторые роды или виды *Mucorales* различаются по своей чувствительности *in vitro*, особенно к позаконазолу и изавуконазолу, при этом самый низкий показатель МИС (минимальная ингибирующая концентрация) наблюдается у некоторых *Rhizopus* spp. [5,6]. Молекулярные методы могут обеспечить быстрое и эффективное лечение путем точного определения рода возбудителя мукодомицета [7]. В связи с этим разработка высокочувствительных и специфичных молекулярных методов для обнаружения и видовой идентификации грибов-патогенов представляется перспективной.

Ранее [8] мы сообщали о разработанной в НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина мультиплексной ПЦР-тест-системе «HRM-Zygo-Asp» в режиме реального времени (РВ) и последующим анализом кривых плавления ПЦР-продуктов высокого разрешения (HRM). Тест-система позволяет не только выявлять в биологическом материале больных одновременно возбудителей аспергиллеза и мукодомикоза, но и идентифицировать аспергиллы до рода, а мукодомицеты – до вида или комплекса видов: *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus microsporus*, *Lichtheimia corymbifera*, *Mucor circinelloides*, *Cunninghamella echinulata*, *Syncephalastrum racemosum*, *Rhizopus arrhizus* / *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus* / *Mucor plumbeus*.

Целью данного исследования была дальнейшая апробация разработанной тест-системы на различных типах клинического материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали 30 клинических образцов от 25 больных мукодомикозом, госпитализированных в стационары г. Санкт-Петербурга и других городов РФ с 2013 по 2021 г. Диагноз устанавливали в соответствии с критериями Европейской организации по лечению и исследованию рака/группы, изучающей микозы, и Консорциумом по обучению и исследованиям микозов (EORTC/MSGERC, 2020) [9]. Микологический диагноз ставили на основании обнаружения микромицетов при прямой микроскопии биоматериала с калькофлюором белым и/или высева грибов порядка *Mucorales* и/или рода *Aspergillus*, обнаружения морфологических элементов грибов в гистологических образцах, а также положительного результата при определении галактоманнанового антигена *Aspergillus* spp. в БАЛ (ИОП \geq 1,0) или сыворотке крови (ИОП \geq 0,5) с помощью тест-системы «Platelia *Aspergillus* Ag» (Bio-Rad Laboratories). В качестве контрольных использовали 34 образца нативных и парафинизированных тканей от пациентов без микозов. ДНК выделяли из клинических образцов хлороформ-изоамиловой экстракцией и проводили амплификацию с аспергилл- и мукодомицет-специфичными праймерами и интеркалирующим красителем EvaGreen (Синтол, Москва) в модификации ранее предложенного протокола [10] на приборе Rotor-Gene 6000 (CorbettLifeScience, Австралия). При работе с парафиновыми блоками при выделении геномной ДНК выполняли предобработку образцов ксилолом, направленную на очистку от парафина.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При формировании групп больных для апробации тест-системы на основании клинических и лабораторных данных у 25 пациентов с мукодомикозом были диагностированы следующие клинические формы: мукодомикоз придаточных пазух носа (ППН) (n=9), мукодомикоз легких (n=4), мукодомикоз легких и почки (n=1), мукодомикоз печени (n=2), мукодомикоз желудочно-кишечного тракта (n=3), микст-микоз легкого (n=1), диссеминированный мукодомикоз (n=1), диссеминированный микст-микоз, обусловленный грибами порядка *Mucorales* и рода *Aspergillus* (n=2). У 15 больных мукодомикоз развивался на фоне онкогематологических заболеваний, у 2 – после политравмы, у 8 – на фоне перенесенной COVID-19 (табл. 1). Исследованы 30 образцов биологического материала различного типа: нативные (8) и парафинизированные, фиксированные в формалине ткани больных мукодомикозом (22).

Таблица 1
Характеристика и тип клинических образцов больных му-
кормикозом

Формы мукормикоза	Фоновое заболевание	Количество пациентов	Клинический материал	Количество образцов
Мукормикоз легких	Онкогематология	3	Биоптат	1
			Парафиновые блоки	2
	Политравма	1	Парафиновые блоки	1
Мукормикоз печени	Онкогематология	1	Биоптат	1
		1	Парафиновые блоки	1
Мукормикоз кишечного тракта	Онкогематология	3	Парафиновые блоки	3
Мукормикоз придаточных пазух носа	Политравма	1	Биоптат	1
	Онкогематология	2	Парафиновые блоки	2
		4	Биоптат	4
	COVID-19	3	Парафиновые блоки	7
Диссеминированный мукормикоз	Онкогематология	1	Аутопсийный материал	1
			Парафиновые блоки	1
Мукормикоз легких и почки	Онкогематология	1	Парафиновые блоки	1
Мукормикоз лимфатического узла	COVID-19	1	Парафиновые блоки	1
Микст-микоз легкого (аспергиллез + мукормикоз)	Онкогематология	1	Парафиновые блоки	1
Диссеминированный микст-микоз (аспергиллез + мукормикоз)	Онкогематология	2	Парафиновые блоки	2
Всего образцов			Биоптат, аутопсийный материал	8
			Парафиновые блоки	22
Итого		25		30

1. Исследование свежих тканей биопсийного, аутопсийного и операционного материала.

Микроскопическое исследование 5 образцов операционного материала, 2 биоптатов тканей и 1 аутопсийного материала от пациентов с мукормикозом позволило обнаружить широкий несептированный мицелий, ветвящийся под прямым углом, в 6 образцах. Однако из клинического материала только 4 больных удалось получить культуру гриба: у 1 пациента с мукормикозом легких – *L. corymbifera* и у 3

пациентов с мукормикозом ППН – *R. arrhizus* (табл. 2).

Таблица 2
Исследование нативных тканей пациентов с мукормикозами

Диагноз пациента	Клинический материал	Количество образцов	Микологическое исследование			Молекулярное исследование (+)
			Прямая микроскопия (+)	Культура	Количество (+) посевов	
Мукормикоз легких	Биоптат	1	1	<i>Lichtheimia corymbifera</i>	1	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
Мукормикоз печени	Биоптат	1	1	-	0	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
Мукормикоз придаточных пазух носа	Операционный материал	5	3	<i>Rhizopus arrhizus</i>	3	<i>Rhizopus arrhizus</i>
Диссеминированный мукормикоз	Аутопсийный материал	1	1	-	0	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
ИТОГО:		8	6 (75%)		4 (50%)	8 (100%)

При исследовании клинического материала с помощью мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» во всех 8 образцах свежей ткани были выявлены и идентифицированы возбудители мукормикоза: в 5 образцах операционного материала придаточных пазух носа – *R. arrhizus* и в 3 образцах биопсийного и аутопсийного материала – *L. corymbifera*, в том числе в 2 биосубстратах, в которых высев культуры был затруднен (в них была обнаружена ДНК *L. corymbifera*). Результаты ПЦР-теста «HRM-Zygo-Asp» согласовывались с данными микроскопии и посева в 100% случаев. В биопсийном материале контрольной группы 17 больных ДНК мукормицетов не выявлена.

Таким образом, чувствительность тест-системы «Zygo-Asp-HRM» в биопсийном и аутопсийном материале была выше, чем посева патологического материала. Применение мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» для анализа свежих тканей от больных мукормикозом позволяет обнаружить и идентифицировать возбудителя при отрицательном результате посева биосубстрата.

2. Исследование тканей, фиксированных в формалине и заключенных в парафин.

В 22 парафиновых блоках от 19 больных с различными формами мукормикоза гистологическими методами исследования окрашенных срезов регистрировали чаще всего наличие несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом, сходного с грибами порядка *Mucorales*. В одном случае, в клиническом материале у пациента с микст-микозом легкого мукоромицеты не были найдены, но отмечали наличие септированного мицелия, сходного с мицелием грибов рода *Aspergillus*. В другом случае, у больной риноцеребральным мукормикозом выявляли 2 вида мицелия: широкий несептированный мицелий, сходный с мицелием мукоромицетов, и септированный мицелий, ветвящийся под острым углом, сходный с мицелием грибов рода *Aspergillus*. Поскольку видовая идентификация возбудителей при гистологических исследованиях затруднена, клинический материал анализировали молекулярным методом с применением мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp». Чаще всего в парафинизированных образцах выявляли ДНК *R. arrhizus* (41%) и *R. microsporus* (27%), реже – *L. corymbifera* (18%) и *R. pusillus* (14%).

У 1 пациента с микст-микозом легкого и у 1 – с риноорбитальным мукормикозом молекулярным методом уточнена смешанная инфекция, вызванная *R. arrhizus* и *Aspergillus* spp. У 2 больных с диссеминированным микозом выявлена ДНК *R. microsporus* и *Aspergillus* spp. (табл. 3).

		1	Мицелий мукоромицета + септированный мицелий, ветвящийся под острым углом	<i>Aspergillus</i> spp. + <i>Rhizopus arrhizus</i>
Мукормикоз лимфатического узла	Ткань лимфоузлов	1	Мицелий мукоромицета	<i>Rhizopus arrhizus</i>
Диссеминированный мукормикоз	Фрагменты некротизированной и грануляционной ткани	1	Мицелий мукоромицета	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
Мукормикоз легких и почки	Ткань почки	1	Мицелий мукоромицета	<i>Rhizomucor pusillus</i>
Микст-микоз легкого (аспергиллез + мукормикоз)	Ткань легкого	1	Септированный мицелий, ветвящийся под острым углом	<i>Aspergillus</i> spp. + <i>Rhizopus arrhizus</i>
Диссеминированный микст-микоз (аспергиллез + мукормикоз)	Ткань печени Ткань легкого	2	Широкий несептированный мицелий мукоромицета	<i>Aspergillus</i> spp. + <i>Rhizopus microsporus</i>
Итого		22		22

Таблица 3

Исследование парафинизированных тканей, фиксированных в формалине, у пациентов с мукормикозом

Диагноз пациента	Клинический материал	Количество образцов	Гистологическое исследование	Молекулярное исследование (+)
Мукормикоз легких	Ткань легкого	2 1	Мицелий мукоромицета	<i>Lichtheimia corymbifera</i> <i>Rhizopus microsporus</i>
Мукормикоз кишечного тракта	Ткань кишечника Ткань сальника	2	Мицелий мукоромицета	<i>Rhizomucor pusillus</i>
	Ткань толстой кишки	1	Морфологические признаки грибковой инвазии прямой кишки	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
Мукормикоз печени	Ткань печени	1	Широкий несептированный мицелий мукоромицета	<i>Rhizopus arrhizus</i>
Мукормикоз придаточных пазух носа	Ткань придаточных пазух носа	2	Мицелий мукоромицета	<i>Rhizopus microsporus</i>
		6	Мицелий мукоромицета	<i>Rhizopus arrhizus</i>

Диагноз сочетанного микоза подтверждали положительным высевом *Aspergillus fumigatus* из БАЛ у пациента с микст-микозом легкого, наличием галактоманнана *Aspergillus* spp. в БАЛ у больных с диссеминированным микозом, а также выявлением в гистологическом материале пациента с риноцеребральным мукормикозом двух типов мицелия, различающегося по ширине, характеру ветвления и наличию септ.

В 17 контрольных образцах операционного материала от больных с неподтвержденным лабораторно диагнозом микоза ДНК микромицетов не обнаруживали. Таким образом, чувствительность мультиплексной тест-системы «Zygo-Asp-HRM» при исследовании тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином, была выше, чем гистологических методов. Данные исследования парафиновых блоков ПЦР-тест-системой согласовывались с результатами гистологических методов в 100% случаев. Высокая корреляция гистологической и молекулярной диагностики мукормикоза была обусловлена корректным взятием образца из патологического материала для постановки ПЦР. Для этого после просмотра окрашенных срезов тканей на стекле отмечали маркером место локализации мицелия мукоромицета, затем стекло накладывали на соответствующую

ший отпечаток ткани в парафиновом блоке и для молекулярного исследования брали образец из отмеченной области блока. Эффективность такого протокола подчеркнута в Глобальных рекомендациях по диагностике и терапии мукормикоза [4].

Таким образом, при исследовании 22 тканей, фиксированных в формалине и заключенных в парафиновые блоки, от 19 пациентов с мукормикозом показана перспективность использования ПЦР-тест-системы для выявления возбудителей мукормикоза и/или аспергиллеза и видовой идентификации мукоромицетов в гистологическом материале больных.

Далее приведены отдельные примеры применения тест-системы «HRM-Zygo-Asp» в клиническом материале.

Пример 1. Применение мультиплексной тест-системы «HRM-Zygo-Asp» для исследования свежей ткани операционного материала больной с риноцеребральным мукормикозом.

Пациентка К., 65 лет, с сахарным диабетом 2 типа перенесла новую коронавирусную инфекцию COVID-19, длительно принимала глюкокортикостероидные препараты. На фоне факторов риска развился острый верхнечелюстной синусит с образованием «черного струпа». 08.09.2021 г. была выполнена операция по удалению очага воспаления. При микроскопии операционного материала с калькофлюором белым выявлен несептированный мицелий, ветвящийся под прямым углом (Рис.1).

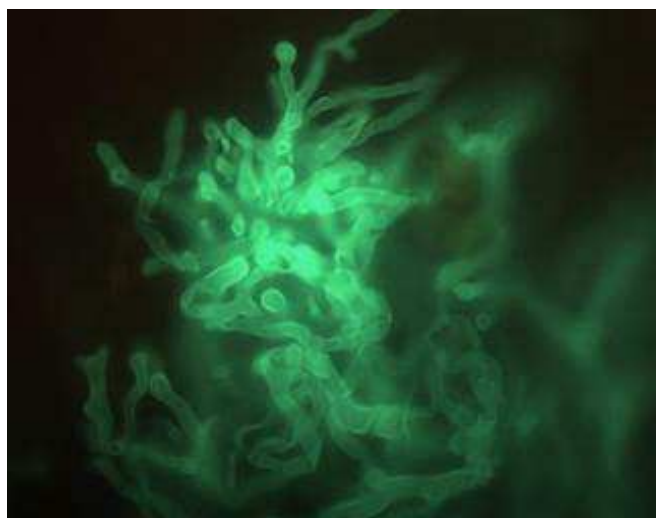


Рис.1. Исследование операционного материала пациентки К. люминесцентной микроскопией с калькофлюором белым, х400.

При посеве биоматериала культуру получить не удалось. При гистологическом исследовании окрашенных срезов ткани обнаружено 2 типа мицелия с разной яркостью окрашивания при PAS-реакции. В тканях, некротических массах, тромбированных сосудах наблюдали широкие, хаотично расположенные

несептированные гифы гриба, сходного с мукоромицетами (Рис. 2).

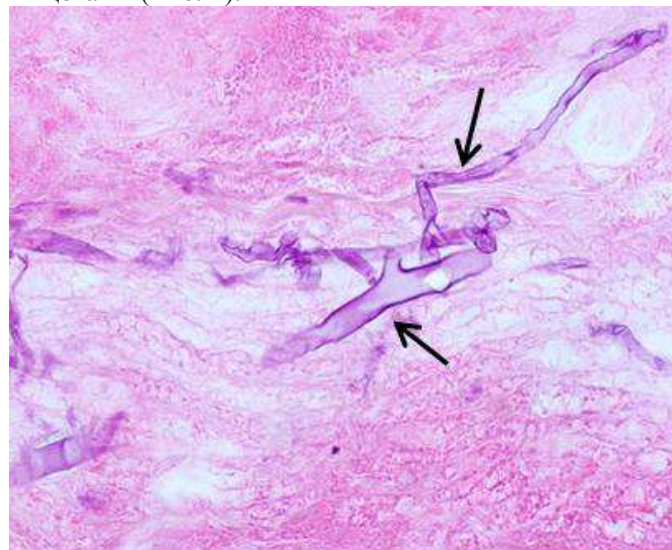


Рис. 2. PAS-реакция тканей ППН пациентки К. Стрелками указана нить широкого несептированного мицелия мукоромицета, х400.

Также среди фибрина в некротических массах на поверхности встречались единичные, более узкие фрагменты гиф гриба с редкими септами (Рис.3).

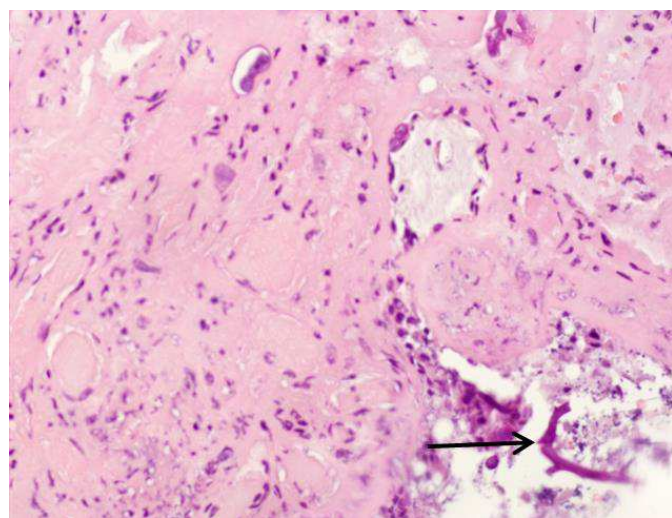


Рис. 3. PAS-реакция тканей ППН пациентки К. Стрелкой указана нить тонкого мицелия с редкими септами, х400.

На основании гистологических данных пациентке сделано заключение о наличии хронического язвенно-некротического микотического синусита.

При исследовании операционного материала больной К. с помощью тест-системы «HRM-Zygo-Asp» получены кривые плавления ПЦР-продуктов ДНК (Рис. 4) с 3 пиками: в области 76-78 °С, характерной для *Aspergillus* spp., 81-82°С (малый пик) и 84-85°С (основной пик) – для *R. arrhizus* (= *Rhizopus oryzae*).

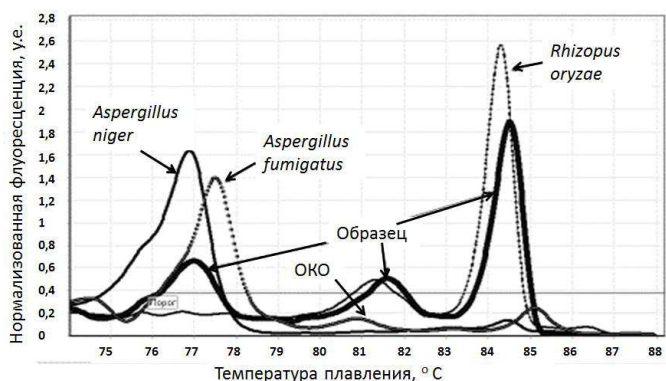


Рис. 4. Кривые плавления ПЦР-продуктов ДНК операционного материала больной К. с микст-микозом ППН, вызванного грибами рода *Aspergillus* и *Rhizopus arrhizus* (= *Rhizopus oryzae*). *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus oryzae* – ДНК культур (положительный контроль), ОКО – отрицательный контроль.

Таким образом, применение мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp» для анализа биоматериала больной К. позволило идентифицировать возбудителей сочетанной инфекции, обусловленной грибами рода *Aspergillus* и *R. arrhizus*.

Пример 2. Применение мультиплексной тест-системы «HRM-Zygo-Asp» для исследования парафиновых блоков пациентки С. с политравмой и мукормикозом ППН.

У пациентки С., 45 лет, с политравмой, острым нарушением мозгового кровообращения и сахарным диабетом 2 типа диагностирован некроз слизистой оболочки носа, носовой перегородки, правой гайморовой пазухи на фоне тромбоза кавернозного синуса внутренней сонной артерии (ВСА). Больной была проведена операция по удалению пораженной ткани ППН.

При гистологическом исследовании операционного материала обнаружены широкие нити несептированного мицелия, ветвящиеся под углом 90°, сходного с мукоромицетами (Рис. 5).

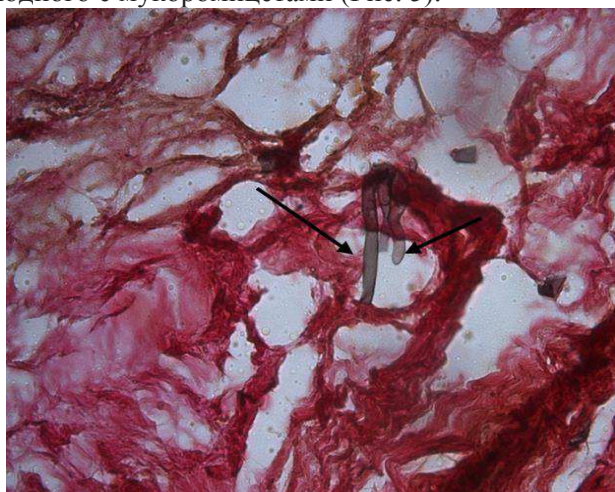


Рис. 5. PAS-реакция тканей ППН пациентки С. Стрелками указаны нити толстого несептированного мицелия мукоромицета, х400.

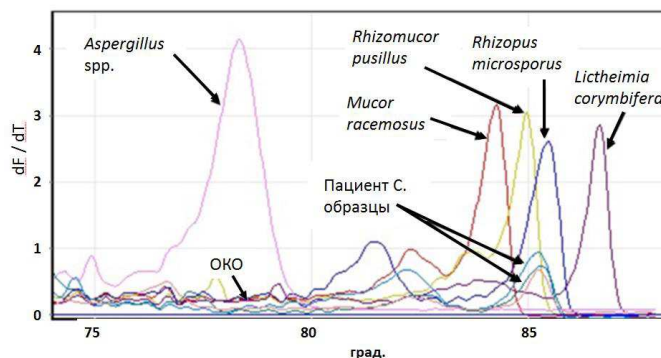


Рис. 6. Профили плавления ПЦР-продуктов ДНК пациентки С. с мукормикозом ППН. ДНК культур грибов – положительный контроль, ОКО – отрицательный контроль.

Ткани операционного материала, фиксированные в формалине и залитые парафином, исследовали с помощью мультиплексной ПЦР-тест-системы «HRM-Zygo-Asp». Как видно из рисунка 6, при молекулярном исследовании парафиновых блоков с тканями ППН пациентки С. мы получили пики плавления ПЦР-продуктов ДНК в диапазоне 85,5 °С, характерном для *R. microsporus*. Таким образом, мукоромицет, обнаруженный в гистологическом материале, идентифицирован как *R. microsporus*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранняя диагностика является ключевым моментом в лечении мукормикоза. Прямая микроскопия свежих тканей с окрашиванием калькофлюором белым или окрашенных гистологических срезов обычно позволяет отличить несептированные гифы мукоромицетов от септированного мицелия других грибов [11-13]. Характерным морфологическим признаком мукоромицетов является также ветвление мицелия под прямым углом. Однако в некоторых случаях микроскопические исследования могут быть затруднены, когда в биосубстрате обнаруживают только короткие фрагменты мицелия без типичных лентообразных несептированных гиф. Некоторые авторы это связывают с повреждением мицелия мукоромицетов во время обработки ткани [12, 14]. Кроме того, сочетанная инфекция, вызванная грибами рода *Aspergillus* и порядка *Mucorales*, может еще больше затруднить микологическую диагностику [15, 16]. В настоящем исследовании при микроскопическом изучении свежих тканей операционного материала больных мукормикозом широкий несептированный мицелий, ветвящийся под прямым углом, был выявлен в 6 из 8 образцов (75%).

Идентификация этиологического агента, вызывающего мукормикоз, крайне важна, поскольку существуют различия в чувствительности к антимикотическим средствам *in vitro* среди видов порядка *Mucorales* [17]. Однако частота выделения культуры мукоромицета из биоматериала обычно не превышает 60-68% при риноцеребральном [18] и 40-50% –

при легочном мукормикозе [19]. Наиболее распространенными возбудителями мукормикоза являются виды *Rhizopus* (48%), *Mucor* (14%), *Lichtheimia* (13%), *Cunninghamella* (7%) и *Rhizomucor* (6%) [20, 21]. При получении положительного высева *Rhizopus* spp. в 75% случаев *R. arrhizus* является преобладающим возбудителем, вызывающим микоз [22]. Согласно нашим данным, при посеве 8 образцов свежей ткани только в 4 образцах (50%) были выделены культуры мукоромицетов: *L. corymbifera* (25%) и *R. arrhizus* (75%), изолированный из операционного материала всех больных с мукормикозом придаточных пазух носа. У 1 пациента с гистологически подтвержденным риноорбитocereбральным мукормикозом и отрицательным высевом мукоромицетов получен рост культуры *Aspergillus flavus*, что указывало на наличие сочетанной грибковой инфекции. Низкий уровень культуральной диагностики мукормикоза способствовал поиску новых маркеров инфекции. В 2019 г. Европейской конфедерацией медицинской микологии (ЕСММ) были опубликованы «Глобальные рекомендации по диагностике и терапии мукормикоза» [4], в которых уделено особое внимание молекулярно-генетическим методам на основе ПЦР (сила рекомендаций ВП) как потенциально перспективным для точной диагностики на ранней стадии инфекции в различных биоматериалах: свежие и парафинированные, фиксированные в формалине ткани, периферическая кровь, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) и спинномозговая жидкость. Наибольшее количество зарубежных публикаций посвящено ПЦР-исследованиям биопсийного и операционного материала больных мукормикозом [3, 23-27]. Эффективность тканевой ПЦР-диагностики во многом зависит от качественной экстракции тотальной ДНК. Для успешного получения генетического материала часто используют классические «домашние» методы на основе хлороформ-изоамиловой экстракции или применяют коммерческие наборы, например QiAmp Tissue DNA Mini Kit (Qiagen, Германия). Особые сложности представляет выявление возбудителя в парафинизированных и фиксированных в формалине тканях. Известно, что фиксация в формалине неблагоприятно сказывается на сохранности геномной ДНК, зачастую вызывая ее деструкцию, уменьшая тем самым диагностическую чувствительность молекулярного метода. Фиксация ткани на более длительный период, чем 1 неделя, может препятствовать амплификации [28]. Кроме того, для наилучшей экстракции ДНК необходима депарафинизация образца, осуществляемая чаще всего с помощью ксилола. Эффективность ПЦР-диагностики возрастает с 50% до 100% при извлечении генетического материала непосредственно с места локализации мицелия мукоромицетов в парафиновом блоке [3, 29, 30]. Нам удалось, используя такой прием, достичь высокого уровня корреляции между гистологическими наход-

ками грибов и молекулярной детекцией их в патологическом материале. В настоящее время отсутствуют стандартизованные протоколы для молекулярной идентификации грибов в тканях, фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE), выбора метода экстракции ДНК и мишеней для постановки ПЦР. В недавней публикации Jillwin J. с соавт. [31] сообщили, что предприняли попытку разработки такого протокола. При исследовании 63 образцов тканей от пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом инвазивного мукормикоза они показали, что наиболее эффективной является экстракция ДНК при традиционной хлороформ-изоамиловой экстракции ткани с размером образца не менее 50 мкм. Наиболее часто в молекулярных исследованиях для постановки ПЦР используются локусы ITS1 и ITS2, а также полный внутренний транскрибируемый спейсер (ITS1-5.8S-ITS2) 18S и D1 / D2 регион 28S субъединицы рибосомальных генов. Чувствительность теста в тканях, как показали Jillwin J. с соавт., была лучшей при использовании ITS1 (61,9%) в качестве мишени (по сравнению с другими локусами) и составила для грибов с септированным, несептированным мицелием и дрожжей 75,5, 18,7 и 100% соответственно.

Тканевая диагностика требует наличия грибковых элементов в фиксированной формалином и залитой парафином ткани, а также указывает на доказанное грибковое заболевание, но не позволяет идентифицировать возбудитель. В настоящее время для видовой идентификации мукоромицетов в тканях рекомендовано проведение амплификации грибковой ДНК с пан-фунгальными праймерами с последующим секвенированием полученного в ходе реакции фрагмента, но только в случаях, когда морфологические элементы мукоромицетов обнаруживаются гистологическим исследованием [4, 9]. Допускается также применение методов ПЦР с использованием узкоспецифичных праймеров к конкретному виду/роду возбудителя мукормикоза, позволяющих выявить одного или несколько видов/родов мукоромицетов (мультиплексный анализ) в одном образце. Высокие диагностические характеристики молекулярных методов при анализе клинического материала, заключенного в парафиновые блоки, отмечены во многих публикациях [3, 23, 26]. Springer J. с соавт. [10], например, при проведении *Mucorales*-специфичного ПЦР в реальном времени с применением флуоресцентного зонда Muc18S для анализа тканей, залитых парафином, показал высокую чувствительность метода (91%) в гистологически подтвержденных образцах от 16 онкогематологических пациентов с трансплантацией солидных органов и травмами. Pandey M. и соавт. [32] провели проспективное исследование, включающее 239 клинических случаев с подозрением на инвазивный микоз в период 2015-2018 гг., и показали, что для «доказанного

мукормикоза» (n=11) чувствительность *Mucorales*-специфичной вложенной ПЦР и пангрибковой ПЦР составила 100%, а специфичность – 91,9 и 73,7% соответственно. При «вероятном» мукормикозе (n=129) чувствительность обеих ПЦР составляла 98,5%, а специфичность для пангрибковой ПЦР – 73,7% и для *Mucorales*-специфичной ПЦР – 91,9%. Таким образом, пангрибковая ПЦР с последующим секвенированием в сочетании с *Mucorales*-специфической ПЦР, по мнению авторов, может играть важную роль в диагностике ИМ, особенно для тех пациентов, у кого получены отрицательные результаты как при прямой микроскопии, так и при посеве.

Поскольку секвенирование является дорогостоящим исследованием, а клинико-диагностические лаборатории не располагают специальным оборудованием, для рутинной диагностики микоза целесообразен поиск альтернативных методов идентификации основных возбудителей мукормикоза. Jillwin J. с соавт. [38] предлагают в таких случаях использовать полугнездовую ПЦР с мукоромицет-специфичными праймерами с чувствительностью 68,3% в тканях. Более высокие диагностические характеристики молекулярного метода могут быть достигнуты применением интеркалирующих красителей SYBR Green или Eva Green для проведения ПЦР в режиме РВ с анализом кривых плавления ПЦР-продуктов высокого разрешения (ПЦР/HRM), позволяющей определить род или вид возбудителя мукормикоза [33]. В формате ПЦР/HRM нами была разработана мультиплексная ПЦР-тест-система «Zygo-Asp-HRM», которая позволяет выявлять не только мукоромицеты, но и аспергиллы в тканях, а также идентифицировать мукоромицеты до вида или комплекса видов, а *Aspergillus* spp. – до рода. Тест-система эффективна для исследования различных типов биопсийного и операционного материала (свежие и парафинизированные ткани) больных мукормикозом. При исследовании 30 свежих и парафинизированных тканей, фиксированных в формалине, чувствительность и специфичность тест-системы «Zygo-Asp-HRM» составляла 100%. В клиническом материале выявлены следующие возбудители мукормикоза: *L. corymbifera* (23%), *R. arrhizus* (47%), *R. microsporus* (20%), *R. pusillus* (10%). Применение тест-системы особенно актуально при отрицательных результатах микроскопии и/или культуральной диагностики нативных тканей. В нашем исследовании у 3 пациентов не удалось получить культуру гриба при посеве операционного материала, но при постановке ПЦР смогли уточнить возбудителя мукормикоза: *L. corymbifera* – у 2 гематологических пациентов с мукормикозом печени и диссеминированным микст-микозом и *R. arrhizus* – у больного риноорбитоцеребральным мукормикозом, ассоциированным с COVID-19. Обладая большей чувствительностью и специфичностью,

чем традиционные микологические и гистологические методы, ПЦР-тест-система может выявлять также смешанную инфекцию, обусловленную грибами рода *Aspergillus* и порядка *Mucorales*. При исследовании 8 образцов свежих и 22 фиксированных в формалине и заключенных в парафин тканей у 5 пациентов (17%) с помощью мультиплексной тест-системы была подтверждена сочетанная инфекция, обусловленная мукоромицетами и аспергиллами. У одного из этих больных при посеве биоптата была получена культура *Aspergillus flavus*, у другого – обнаружено 2 типа мицелия (септированный и несептированный) с ветвлением под разными углами в окрашенных гистологических срезах, а у 3 человек с диссеминированным мукормикозом и микст-микозом легкого выявлен положительный результат галактоманнанового теста в БАЛ. Полученные нами результаты согласовывались с зарубежными данными, показывающими, что молекулярное обнаружение ДНК *Mucorales* в образцах тканей имеет клиническое применение как в свежих, так и в образцах с фиксированными формалином парафиновых тканях [3, 28-30, 34, 35].

В настоящее время в России отсутствуют отечественные зарегистрированные ПЦР-тест-системы для диагностики мукормикоза. За рубежом для молекулярной диагностики мукормикоза в тканях применяют собственные «домашние» методы, разрабатывают стандартизованные протоколы выделения ДНК и амплификации. Недавно появился первый зарубежный коммерческий набор в формате реального времени с использованием пан-*Mucorales* праймеров, валидированный для клинического применения («MucorGenius» Pathonostics). Тест предназначен для выявления в клиническом материале (бронхоальвеолярный лаваж, сыворотка крови, биопсийные образцы, в том числе парафинизированные) основных возбудителей мукормикоза: *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Rhizomucor* spp., *Lichtheimia* spp., *Cunninghamella* spp. Было проведено ретроспективное мультицентровое испытание набора на 106 образцах крови от 16 пациентов. Чувствительность в периферической крови составила 75%, частота положительных результатов была выше у гематологических больных, чем у негематологических пациентов, при доказанном мукормикозе, чем при вероятном (89% vs 57%).

ВЫВОДЫ

1. Мультиплексная ПЦР-тест-система «HRM-Zygo-Asp» позволяет выявлять и идентифицировать мукоромицеты до вида.

2. Тест-система эффективна для исследования различных типов клинического материала больных мукормикозом: биопсийный, аутопсийный и операционный материал, свежие и формализованные ткани, заключенные в парафин.

3. Тест-система обладает большей чувствительностью, чем традиционные микологические методы диагностики мукормикоза. Применение тест-системы особенно актуально при отрицательных результатах посева свежих тканей.

4. ПЦР-тест-система «HRM-Zygo-Asp» перспективна в лабораторной диагностике сочетанных инфекций, обусловленных грибами рода *Aspergillus* и порядка *Mucorales*.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Skiada A., Pagano L., Groll A., et al.* European Confederation of Medical Mycology Working Group on Zygomycosis. Zygomycosis in Europe analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17 (12): 1859-1867. doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03456.x
2. *Shivaprakash M.R., Martin H., Meis J. F., et al.* ECMM/ISHAM recommendations for clinical management of COVID-19 associated mucormycosis in low-and middle-income countries. *Mycoses.* 2021; 64: 1028-1037. doi: 10.1111/myc.13335.
3. *Salehi E., Hedayati M.T., Zoll J., et al.* Discrimination of aspergillosis, mucormycosis, fusariosis, and scedosporiosis in formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens by use of multiple real-time quantitative PCR Assays. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54 (11): 2798-2803. doi.org/10.1128/JCM.01185-164.
4. *Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., et al.* Mucormycosis ECMM MSG Global Guideline Writing Group. Global guideline for diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19 (12): e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3
5. *Vaezi A., Moazeni M., Rahimi M.T., et al.* Mucormycosis in Iran: a systematic review. *Mycoses.* 2016; 59 (7): 402-15. doi.org/10.1111/myc.12474
6. *Guimaraes L.F., Halpern M., de Lemos A.S., et al.* Invasive fungal disease in renal transplant recipients at a Brazilian center: local epidemiology matters. *Transplant. Proc.* 2016; 48 (7): 2306-9. doi.org/10.1016/j.transproceed.2016.06.019
7. *Shigemura T., Nakazawa Y., Matsuda K., et al.* Evaluation of Mucorales DNA load in cerebrospinal fluid in a patient with possible cerebral mucormycosis treated with intravenous liposomal amphotericin B. *Int. J. Infect. Dis* 2014; 29: 200-2. doi.org/10.1016/j.ijid.2014.10.019
8. *Игнатъева С.М., Спиридонова В.А., Богомолова Т.С. и др.* Апробация мультиплексной тест-системы «HRM-ZYGO-ASP» на клиническом материале больных мукормикозами. *Проблемы медицинской микологии.* 2019; 21 (4): 36-42. [Ignatieva S.M., Spiridonova V.A., Bogomolova T.S., et al. Approbation of multiplex test system «HRM-Zygo-Asp» on the clinical material of patients with mucormycosis. *Problems in medical mycology.* 2019; 21 (4): 36-42 (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2019-4-36-42
9. *Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A.* Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71 (6): 1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008
10. *Springer J., Lackner M., Ensinger C., et al.* Clinical evaluation of a Mucorales-specific real-time PCR assay in tissue and serum samples. *J. Med Microbiol.* 2016; 65 (12): 1414-21. doi.org/10.1099/jmm.0.000375
11. *Marr K.A., Patterson T., Denning D., et al.* Aspergillosis DD. Aspergillosis. pathogenesis, clinical manifestations, and therapy. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2002; 16: 875-894. doi.org/10.1016/S0891-5520(02)00035-1
12. *Lass-Flörl C., Mayr A.* Diagnosing invasive fungal diseases – limitations of microbiological diagnostic methods. *Expert Opin. Med. Diagn.* 2009; 3: 461-470. doi.org/10.1517/17530050902878031
13. *Schelenz S., Barnes R.A., Barton R.C., et al.* British society for medical mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases. British society for medical mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15: 461-474. doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70006-X
14. *Cornely O.A., Arikian-Akdagli S., Dannaoui E., et al.* ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20: 5-26. doi.org/10.1111/1469-0691.12371
15. *Vaidya D., Shah P.* Coinfection by *Aspergillus* and *Zygomycetes* species in a case of acute rhinosinusitis. *Case Rep. Otolaryngol.* 2011; 2011: 382473. doi: 10.1155/2011/382473
16. *Shashir W., Rupali S., Sujata L., Preeti M.* Concomitant zygomycosis and aspergillosis of the rhinocerebral region in a post renal transplant patient. *Indian J. Transpl.* 2014; 8: 25-27. doi.org/10.1016/j.ijt.2013.12.001
17. *Espinell-Ingroff A., Chakrabarti A., Chowdhary A., et al.* Multicenter evaluation of MIC distributions for epidemiologic cutoff value definition to detect amphotericin B, posaconazole, and itraconazole resistance among the most clinically relevant species of Mucorales. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015; 59: 1745-1750. doi.org/10.1128/AAC.04435-14
18. *Chakrabarti A., Chatterjee S.S., Das A., et al.* Invasive zygomycosis in India: experience in a tertiary care hospital. *Postgrad. Med. J.* 2009; 85: 573-581. doi.org/10.1136/pgmj.2008.076463

19. Spellberg B., Ibrahim A.S., Chin-Hong P.V., et al. The deferasirox-ambisome therapy for mucormycosis (DEFEAT Mucor) study: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012; 67 (3): 715-22. doi.org/10.1093/jac/dkr375
20. Petrikos G., Skiada A., Lortholary O., et al. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54 (Suppl.1): 23-34. doi.org/10.1093/cid/cir866
21. Binder U., Maurer E., Lass-Flörl C. Mucormycosis – From the pathogens to the disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20: 60-66. doi.org/10.1111/1469-0691.12566
22. Chakrabarti A., Dhaliwal M. Epidemiology of mucormycosis in India. *Curr. Fungal Infect. Rep.* 2013; 7: 287-292. doi.org/10.1007/s12281-013-0152-z
23. Drogari-Apiranthitou M., Panayiotides I., Galani I., et al. Diagnostic value of a semi-nested PCR for the diagnosis of mucormycosis and aspergillosis from paraffin-embedded tissue: A single center experience. *Pathol. Res. Pract.* 2016; 212 (5): 393-7. doi.org/10.1016/j.prp.2016.02.010
24. Ruangritchankul K., Chindamporn A., Worasilchai N., et al. Invasive fungal disease in university hospital: a PCR-based study of autopsy cases. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8 (11): 14840-52. PMID: 26823814
25. Buitrago M.J., Aguado J.M., Ballen A., et al. Efficacy of DNA amplification in tissue biopsy samples to improve the detection of invasive fungal disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19 (6): E271-7. doi.org/10.1111/1469-0691.12110
26. Gade L., Hurst S., Balajee S.A., et al. Detection of mucormycetes and other pathogenic fungi in formalin fixed paraffin embedded and fresh tissues using the extended region of 28S rDNA. *Med. Mycol.* 2017; 55 (4): 385-95. doi.org/10.1093/mmy/myw083
27. Gholinejad-Ghadi N., Shokohi T., Seifi Z., et al. Identification of Mucorales in patients with proven invasive mucormycosis by polymerase chain reaction in tissue samples. *Mycoses.* 2018; 61 (12): 909-15. doi.org/10.1111/myc.12837
28. Springer J., McCormick Smith I., et al. Identification of *Aspergillus* and *Mucorales* in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples: Comparison of specific and broad-range fungal qPCR assays. *Med. Mycology.* 2019; 57: 308-313. doi: 10.1093/mmy/myy041
29. Sunagawa K., Ishige T., Kusumi Y., et al. Renal abscess involving mucormycosis by immunohistochemical detection in a patient with acute lymphocytic leukemia: a case report and literature review. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2013; 66 (4): 345-7. doi.org/10.7883/yoken.66.34537.
30. Lass-Flörl C., Mutschlechner W., Aigner M., et al. Utility of PCR in diagnosis of invasive fungal infections: real-life data from a multicenter study. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (3): 863-868. doi: 10.1128/JCM.02965-12
31. Jillwin J., Rudramurthy S.M., Singh S., et al. Molecular identification of pathogenic fungi in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *J. Med. Microbiol.* 2020; 70 (2). doi.org/10.1099/jmm.0.001282
32. Pandey M., Xess I., Singh G., et al. Conventional PCR as a reliable method for diagnosing invasive mucormycosis in resource-limited settings. *J. Med. Microbiol.* 2021; 70 (5). doi.org/10.1099/jmm.0.001370
33. Lengerova M., Racil Z., Hrnčirova K., et al. Rapid detection and identification of mucormycetes in bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients with pulmonary infiltrates by use of high-resolution melt analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52: 2824-2828. doi.org/10.1128/JCM.00637-14
34. Buitrago M.J., Bernal-Martinez L., Castelli M.V., et al. Performance of panfungal and specific-PCR-based procedures for etiological diagnosis of invasive fungal diseases on tissue biopsy specimens with proven infection: a 7-year retrospective analysis from a reference laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52 (5): 1737-40. doi.org/10.1128/JCM.00328-14
35. Zaman K., Rudramurthy S.M., Das A., et al. Molecular diagnosis of rhino-orbito-cerebral mucormycosis from fresh tissue samples. *J. Med. Microbiol.* 2017; 66 (8): 1124-9. doi.org/10.1099/jmm.0.000560

Поступила в редакцию журнала 17.09.2021

Рецензент: А.Е. Тараскина

СУСПЕНЗИЯ ПОЗАКОНАЗОЛА У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА. КРАТКИЙ ОБЗОР КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ

¹Веселов А.В. (зам. директора)*, ²Солопова Г.Г. (зав. отд., врач-гематолог)

¹НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск; ²Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

Инвазивные грибковые инфекции – одна из основных причин заболеваемости и летальности у онкогематологических пациентов педиатрического профиля. Частота инвазивных микозов у детей и подростков в целом варьирует от <5% до >10% в зависимости от целого ряда факторов риска. Ранняя постановка диагноза и быстрое начало ранней эффективной противогрибковой терапии являются важнейшими компонентами, обеспечивающими улучшение исходов у таких пациентов. Однако проблемы диагностики обуславливают необходимость выбора правильных подходов к профилактике и, прежде всего, правильному выбору препарата. Позаконазол – триазол второго поколения с широким спектром активности, который в Российской Федерации представлен в виде суспензии для приема внутрь и таблетированной формы. Основным показанием для его применения, в том числе в педиатрической популяции, является профилактика инвазивных микозов у пациентов группы высокого риска с гемобластомами и/или трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. Помимо этого, позаконазол используют для терапии «спасения» в случае рефрактерного течения отдельных микозов, а также в качестве препарата первой линии при орофарингеальном кандидозе. На основании проведенных регистрационных и пострегистрационных исследований, позаконазол (в том числе и виде суспензии) входит в большинство практических рекомендаций по профилактике и терапии инвазивных микозов. Целью данного обзора будет попытка объединения имеющейся информации по применению суспензии позаконазола, включая его фармакокинетику, эффективность и безопасность, у пациентов педиатрического профиля с онкогематологическими заболеваниями, с попыткой акцента на возрастной группе лиц от 13 до 18 лет.

Ключевые слова: антимикотики, гемобласты, инвазивные грибковые инфекции, позаконазол, профилактика, суспензия для перорального приема

*Контактное лицо: Веселов Александр Валерьевич, e-mail: alex.veselov@antibiotic.ru

POSACONAZOLE SUSPENSION IN ADOLESCENT HEMATOLOGICAL PATIENTS. CLINICAL SUMMARY

¹Veselov A.V. (deputy director), ²Solopova G.G. (head of the clinical department, hematologist)

¹Institute of Antimicrobial Chemotherapy of Smolensk State Medical University, Smolensk; ²Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

Invasive fungal infections are one of the main causes of morbidity and mortality in pediatric oncohematological patients. The incidence of invasive mycoses in children and adolescents generally ranges from <5% to >10%, depending on a variety of risk factors; early diagnosis and early initiation of effective antifungal therapy are critical components for improving outcomes in these patients. However, diagnostic problems dictate the need to choose the right approaches to prophylaxis, and, above all, the right choice of drug. Posaconazole is a second generation triazole with a wide spectrum of activity, which in the Russian Federation is presented in the form of a suspension for oral administration and a tablet form of the drug. The main indication for its use, including in the pediatric population, is the prevention of invasive mycoses in high-risk patients with hemoblastosis and/or hematopoietic stem cell transplantation. In addition, posaconazole is used for rescue therapy in the case of refractory course of certain mycoses, and also as a first-line drug for oropharyngeal candidiasis. Based on the registration and post-registration studies, posaconazole, including in the form of a suspension, is included in most of the practical recommendations for the prevention and treatment of invasive mycoses. The purpose of this review is to attempt to combine the available information on the use of posaconazole suspension, including the pharmacokinetics, efficacy and safety, in pediatric patients with hematological malignancies, with an attempt to focus on the age group of patients from 13 to 18 years.

Key words: antifungals, azoles, hematologic malignancies, invasive fungal infections, posaconazole, prophylaxis, suspension per os

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивные грибковые инфекции (ИГИ) являются одной из основных причин заболеваемости и летальности онкогематологических пациентов педиатрического профиля, преимущественно при развитии глубокой и длительной нейтропении у лиц с гемобластомами и/или реципиентов аллогенных трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [1, 2]. Частота ИГИ в общей педиатрической популяции составляет <5%, тогда как у больных группы высокого риска она достигает и может превышать 10% в зависимости от основного заболевания и проводимой терапии. Несмотря на появление современных методов диагностики, а также новых антимикотиков (АМ), показатели частоты возникновения, особенно летальности от ИГИ, остаются на неприемлемо высо-

ком уровне, достигая 20% и нередко превышая данный показатель [3]. В отличие от взрослых, у детей отмечается ряд клинических особенностей, возможностей проведения диагностических исследований и назначения АМ, которые могут иметь ограничения по возрасту, в связи с чем практические рекомендации для взрослых не могут быть прямым образом экстраполированы на педиатрическую популяцию. Исключительно важными являются расширенные исследования фармакокинетики (ФК) препаратов в различных возрастных подгруппах, так как этих данных пока недостаточно [4].

Представляется достаточно сложной задачей точно определить частоту возникновения ИГИ у детей разных возрастных групп с онкогематологическими заболеваниями, так как эти показатели варьируют в зависимости от фоновой патологии, режима химиотерапии (ХТ), сопроводительной терапии и локальной эпидемиологии [3, 5]. На истинную оценку частоты могут повлиять как изменение критериев с течением времени, так и их несоответствие у пациентов различных групп, в частности при использовании различных протоколов ХТ [5-8]. Залогом успеха лечения и улучшения исходов ИГИ являются ранняя постановка диагноза и быстрое начало эффективной противогрибковой терапии [5-7]. Несвоевременное назначение антифунгальной профилактики и некорректный выбор препарата приводят к высокой частоте развития ИГИ. По данным Rosen G.P. и соавт., без проведения адекватной ранней профилактики частота возникновения ИГИ в смешанной популяции составляла от 2,9% до 7,8% [9, 10].

Наиболее частыми возбудителями ИГИ у иммунокомпрометированных детей являются грибы родов *Candida* и *Aspergillus* [11, 12], в то время, как представители *Mucorales*, *Fusarium* spp. и другие мицелиальные грибы встречаются значительно реже, однако представляют собой особую проблему при их лечении [13]. Согласно ряду эпидемиологических исследований, имеет место некоторый сдвиг в сторону гиалогифомицетов и *Mucorales* [3, 14, 15]. На протяжении десятилетнего периода среднегодовая заболеваемость кандидемией среди педиатрических пациентов с онкологическими заболеваниями и реципиентов ТГСК детского возраста составила 1,25 случая на 1000 выписок из стационара [15]. Несмотря на то, что *Candida albicans* может сохранять свои позиции в качестве наиболее частого возбудителя инвазивного кандидоза, в том числе и в детской онкологии, *nealbicans* виды очень часто становятся доминирующими патогенами, особенно *C. parapsilosis* [15, 16]. *Aspergillus fumigatus* является наиболее частой причиной развития инвазивного аспергиллеза (ИА) среди различных когорт иммунокомпрометированных пациентов, за которым следуют *A. flavus* и *A. terreus* [17, 18].

Общая летальность, связанная с ИГИ, варьирует от 10% до 70%, при этом более высокие показатели наблюдаются у лиц с диссеминированными формами ИГИ с поражением ЦНС, диссеминированными формами ИГИ и/или при рефрактерном течении основного заболевания, сопровождающегося стойкой нейтропенией [19, 20]. В проведенном во Франции исследовании у детей с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) совокупная выживаемость к 24 месяцам у пациентов с диагностированными ИГИ была 72% [21]. Наиболее высокие показатели летальности как у взрослых, так и детей отмечают при ИА, мукормикозе и фузариозе (от 20% до 50%). Эти показатели возрастают примерно до 80% у больных после аллогенной ТГСК [3, 22, 23]. Например, в исследовании Papa Z. и соавт. [24] у детей с онкогематологическими заболеваниями и реципиентов ТГСК летальность при мукормикозах достигала 40% и 80% соответственно.

Позаконазол является триазолом второго поколения с широким спектром активности, который подавляет синтез эргостерола в клеточной стенке грибов. Он активен в отношении целого ряда дрожжевых и мицелиальных патогенов, включая *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., а также ряда других мицелиальных и диморфных грибов, в том числе возбудителей эндемичных микозов [25, 26]. В опорных регистрационных исследованиях суспензию позаконазола применяли у пациентов с 13 лет (она разрешена для использования с этого возраста) [27-29]. В целом в настоящее время доступны три лекарственных формы позаконазола: две для перорального применения – суспензия для перорального приема (СПП) и таблетка с замедленным высвобождением (разрешена для использования с 18 лет), а также недавно зарегистрированная в РФ форма для внутривенного введения (также разрешена для применения с 18 лет) [31-33]. Хорошо известным фактом в отношении СПП позаконазола являются особенности ФК, в частности переменная абсорбция, на которую влияет ряд факторов, что, как следствие, может привести к созданию недостаточных концентраций и клинической неэффективности, однако данных касательно именно педиатрической популяции, особенно у детей младше 13 лет, не так много [29]. В США было проведено исследование по оценке потребления позаконазола в педиатрии среди госпитализированных детей разных возрастов в период с октября 2006 г. по сентябрь 2015 г. В общей сложности 878 ребенка (1949 госпитализаций) получили лечение позаконазолом, при этом ежегодный прирост потребления составил 22% в целом и 27% в год у детей в возрасте младше 13 лет; доля подростков (13-18 лет) при первой госпитализации составила 48,1%, среди всех случаев госпитализаций – 46,2% [34].

Несмотря на имеющиеся в арсенале эффективные АМ, за последние несколько лет достаточно чет-

ко обозначились наиболее актуальные проблемы, связанные:

1) с развитием вторичной резистентности, особенно среди грибов рода *Candida* и *Aspergillus* [35];

2) с риском возникновения целого ряда лекарственных взаимодействий с препаратами для иммуносупрессивной терапии и ХТ [36];

3) с высокой вариабельностью показателей ФК, особенно при использовании триазолов, что диктует необходимость проведения терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) [37-39];

4) с недостатком исследований в педиатрической популяции, в том числе по оценке целевых концентраций триазолов в различных возрастных группах для оптимизации режимов дозирования. Это в определенной степени касается и рассматриваемой формы позаконазола.

Целью данного обзора будет попытка объединения имеющейся информации по применению СПП позаконазола, включая его эффективность, безопасность, фармакокинетические параметры, у пациентов педиатрического профиля с онкогематологическими заболеваниями на основании результатов постмаркетинговых исследований. Несмотря на то, что основной фокус будет направлен на СПП препарата, мы приведем некоторые сравнительные данные в отношении новой таблетированной формы. Учитывая, что в России позаконазол разрешен для применения с 13 лет [33], мы остановимся на возрастной категории от 13 до 18 лет. Отметим, что разброс возрастных групп был достаточно широким в большинстве из проведенных исследований или серии случаев. Более того, очень часто результаты как по эффективности, так и по безопасности не были представлены по отдельным возрастным категориям пациентов в исследовании, в связи с чем в ряде случаев данные будут приведены для всей оцениваемой популяции в целом, как это было сделано в оригинальных работах.

Механизм действия и активность *in vitro*

Позаконазол (SCH-56592) был синтезирован компанией «Schering-Plough» в 1993 г., но появился в клинической практике только в 2005 г. в виде СПП, вслед за которой были зарегистрированы таблетка с замедленным высвобождением и раствор для парентерального введения. Механизм действия позаконазола реализуется за счет подавления синтеза эргостерола в мембране грибковой клетки (снижение активности P450 (CYP)-зависимого фермента ланостерол-14 α -деметилазы (CYP51), что приводит к накоплению метилированных предшественников стеролов и истощению эргостерола в клеточной мембране, ослабляя структуру и функцию клеточной мембраны грибковой клетки [40]. Препарат обладает широким спектром активности, который включает большинство оппортунистических дрожжевых и мицелиальных патогенов, включая грибы родов *Candida* и

Aspergillus spp., а также возбудители редких микозов – *Mucorales*, *Fusarium* spp. [25, 41]. Позаконазол обладает высокой *in vitro* активностью в отношении возбудителей криптококкоза – *Cryptococcus neoformans* и *C. gattii* [42]. Эта активность была подтверждена и в рамках доклинических исследований на животных моделях, что в последующем было показано в ряде клинических работ, в том числе при инвазивном кандидозе [43, 44], ИА [45, 46], криптококкозе [47, 48], гистоплазмозе [49], кокцидиоидомикозе [50], фузариозе [51] и мукомикозе [52].

При сравнительных исследованиях *in vitro* в отношении 7000 штаммов грибов рода *Candida* и *Cryptococcus*, а также 1702 изолятов мицелиальных патогенов выявили, что минимальные подавляющие концентрации (МПК)₅₀ и МПК₉₀ позаконазола в отношении дрожжей сравнимы или ниже таковых итраконазола, флуконазола, амфотерицина В, за исключением вориконазола, но в отношении всех штаммов мицелиальных грибов эти показатели были ниже значений итраконазола, флуконазола, амфотерицина В и вориконазола. Позаконазол был более активен против штаммов *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp. и *Mucor* spp., 94% штаммов которых ингибировались при уровне МПК₉₀ менее 1 мг/л, при этом частота выделения резистентных к позаконазолу изолятов *Candida* (кроме *C. glabrata*) с МПК >2 мг/л была примерно в 2 раза ниже таковой для вориконазол-резистентных изолятов с МПК >2 мг/л [25]. Более высокая активность в сравнении с другими триазолами может быть объяснена большим сродством (афинностью) молекулы позаконазола к мишени действия.

В последние годы большое значение придают проблеме формирования устойчивости, однако мы умышленно не будем останавливаться на текущих проблемах вторичной (приобретенной) резистентности, так как и в зарубежных, и в отечественных исследованиях [53-56] отмечена низкая вероятность ее формирования. Однако необходимо напомнить о проблеме перекрестной устойчивости, которая характерна для триазолов, особенно это касается пациентов, которые получали ранее те или иные триазолы с целью терапии или профилактики [57]. К ним, прежде всего, относятся больные онкогематологического профиля, и именно среди данной популяции контроль видового состава и показателей чувствительности как минимум к «ранним» азолам (флуконазолу) в дальнейшем может быть залогом эффективности профилактики и терапии.

Фармакокинетика

У взрослых пациентов была хорошо изучена ФК суспензии и продемонстрирована ее значимая вариабельность. Для СПП позаконазола характерен дозозависимый и насыщаемый профиль абсорбции (увеличение дозы выше 800 мг в сутки не приводит к боль-

шей плазменной концентрации [37]). Основной проблемой ФК СПП является переменный и зачастую очень низкий уровень всасывания препарата, процент которого может зависеть от целого ряда факторов, включая прием лекарственных средств, снижающих рН в просвете желудка (антациды, ингибиторы протонной помпы, H₂-блокаторы), метоклопрамида, диарею, рвоту, реакцию «трансплантат против хозяина» и пр. [58, 59]. У таблетированной формы, в связи со значимыми различиями в процессе всасывания препарата, системное воздействие менее зависимо от данных факторов, избежать влияния которых и было целью разработки этой лекарственной формы позаконазола. При приеме таблетки нет выраженной зависимости от жирной пищи – системный эффект возрастает только на 50% в отличие от СПП, при которой прием жирной пищи увеличивает системные показатели на 400% [59].

В ряде исследований продемонстрирована корреляция между плазменной концентрацией позаконазола и эффективностью терапии [60, 61], в связи с чем строго рекомендовано проведение ТЛМ для оптимизации уровней позаконазола относительно общепринятых пограничных значений, преимущественно через неделю от начала терапии СПП по достижении равновесного состояния [62]. Однако для пациентов педиатрического профиля есть только небольшой объем данных относительно опыта применения ТЛМ. По данным Krishna G. и соавт. [63], параметры ФК позаконазола у подростков сравнимы с таковыми у взрослых пациентов: после применения дозы 800 мг в сутки СПП плазменные уровни позаконазола были сравнимы между педиатрической и взрослой подгруппами – 776 нг/мл vs. 817 нг/мл соответственно. Достаточно сложно достичь целевых концентраций позаконазола у детей, особенно в возрасте <13 лет, а непредсказуемая биодоступность до сих пор вызывает вопросы о правильном дозировании препарата [64], при этом было проведено достаточное число исследований подбора доз, но до сих пор есть расхождения в точках зрения специалистов о правильности дозирования СПП в данной возрастной группе. Например, в исследовании Döring M. и соавт. [65] было показано, что доза равная 4 мг/кг 3 раза в сут. приводит к более высоким концентрациям в плазме, нежели чем доза равная 5 мг/кг 2 раза в сут. (383 нг/мл vs. 134 нг/мл, p<0,001).

В работе Bernardo V. и соавт. [66] изучены дозы позаконазола на основании массы тела пациента, в частности, у детей с массой тела менее 34 кг обеспечивала более высокую плазменную концентрацию, чем фиксированная доза 200 мг 4 раза в день, которая является одобренным режимом дозирования FDA для детей с массой тела >34 кг или >13 лет. На основании полученных значений концентраций позаконазола в плазме были подтверждены значимая переменность

показателей между отдельными пациентами и необходимость проведения ТЛМ.

В одноцентровом ретроспективном исследовании, проведенном Heinz W. и соавт. [67], оценивали применение СПП в дозе 4 мг/кг 3 раза в сутки с целью профилактики у детей после ТГСК. Был получен 161 показатель концентрации позаконазола в плазме у 27 пациентов (возраст: четыре ребенка ≤6 лет, двенадцать – между 7 и 11 годами и одиннадцать – между 12 и 17 годами) после проведенной ТГСК. Была предпринята попытка оценить влияние совместного приема пищи с высоким содержанием жира, а также наличия кишечной формы РТПХ на протяжении периода, равного 122 дням (диапазон – 36-214), в течение которого не было отмечено случаев ИГИ. Примечательно, что совместный прием пищи с высоким содержанием жира не оказывал значимого влияния на концентрацию позаконазола (p=0,26), тогда как уровни позаконазола в плазме на фоне течения кишечной формы РТПХ были значимо снижены (p=0,0003).

Vanstraelen K. и соавт. [29] провели проспективное одноцентровое исследование, в которое были включены 14 детей в возрасте 13 лет и младше с гемобластозами. Несмотря на то, что это не рассматриваемая в рамках статьи возрастная популяция, в данной работе позаконазол дозировался не на основании массы тела пациента, а в зависимости от площади поверхности тела – 120 мг/м² 3 раза в сут., что коррелировало с дозой у взрослых больных, равной 200 мг 3 раза в сут. Было получено 112 образцов для оценки. Медиана дозы позаконазола составила 117,9 (112,2-120,4) мг/м² 3 раза в сут., что сопровождалось достижением концентраций позаконазола на уровне 850±560 нг/мл. За период наблюдения не выявили ни одного случая ИГИ, что позволило авторам сделать вывод об адекватном выборе дозы 120 мг/м² 3 раза в сут. для профилактики. Установлено, что прием омепразола не оказывал влияния на концентрации препарата (p=0,45).

Döring M. и соавт. [68] использовали позаконазол в дозе 4 мг/кг/сут. с целью профилактики у 33 детей в возрасте до 18 лет с нейтропенией. Во время наблюдения (102 дня, диапазон – 36-228 дней) было определено 172 показателя концентрации позаконазола с медианой уровня 438 нг/мл (диапазон – 111-2011), при этом авторы не отметили влияния возраста пациентов на достигаемые величины.

В многоцентровом исследовании Vicenzi E. и соавт. [38] приняли участие 97 больных разного возраста (диапазон – 0,2-18,6 лет, медиана – 10,7), среди которых у большинства (86%) имели место гемобластозы. 84 человека применяли позаконазол с целью профилактики, 13 – для терапии ИГИ. В обеих когортах был получен как минимум один (и до трех) результат определения концентрации препарата в дни 7±5, 15±3 и 30±10. Медиана суточной дозы варьировала от 10 до 12 мг/кг/сут. в группе профилактики и

от 12,5 до 16,5 мг/кг/сут. – в группе терапии. Медиана показателя концентрации позаконазола в группе профилактики была 900 нг/мл при первом определении и 800 нг/мл – при втором и третьем исследованиях. В свою очередь медиана показателя концентрации позаконазола в группе терапии составила 1500 нг/мл при всех трех измерениях. Кроме того, показано, что возраст, пол, предшествующая ТГСК и доза ≤ 12 или > 12 мг/кг/сут. не оказывали значимого влияния на концентрации позаконазола в крови, однако сопутствующая терапия ИПП была значимо связана со снижением уровней препарата ($p=0,04$).

Mathew S. и соавт. [69] обследовали 32 иммунокомпрометированных пациента в возрасте от 3 до 18 лет, которые получали позаконазол с целью профилактики (15/32) или лечения (17/32). Средняя начальная доза для всех детей составила 17,5 мг/кг. 16 из 32 (50%) больных смогли достичь целевой концентрации препарата (700 нг/мл) с медианой начальной дозы 22,8 мг/кг/сут. (диапазон – 9,2-44). Остальные 16 человек не смогли достичь необходимого целевого уровня с медианой начальной дозы 15,8 мг/кг/сут. (диапазон – 9,3-50). Целевая концентрация была достигнута у 55% пациентов в возрасте < 13 лет, которые применяли препарат в дозе на основании массы тела, и у 40% – в возрасте ≥ 13 лет, получавших фиксированную дозу препарата.

Отметим, что именно появление таблетированной формы позволяет в значимой степени избежать проблемы с достижением концентрации позаконазола в плазме, что нашло отражение в исследовании Pham A. и др. [70]. Авторы сравнили концентрации позаконазола в плазме при применении СПП и таблетки у лиц с гемобластомами (≥ 18 лет), достаточно четко показав, что у пациентов, получавших таблетку, со значимо большей вероятностью достигались концентрации позаконазола $\geq 0,7$ мг/л, чем у применявших СПП (ОШ – 7,97 [95 ДИ; 3,75-16,93]; $p < 0,0001$). У 86 больных, использовавших таблетированную форму, и у 176 человек, принимавших СПП, средние уровни плазменной концентрации составили 1,32 мг/л и 0,81 мг/л ($p < 0,0001$) соответственно. При приеме таблетки позаконазола значимо чаще достигались уровни $\geq 0,7$ мг/л (ОШ – 7,97 [95 ДИ; 3,75-16,93]; $p < 0,0001$). В работе Мауго М. и соавт. [71] таблетированная форма позаконазола была оценена у 28 пациентов педиатрического профиля (возраст – от 5 до 18 лет) с медианой массы тела 50 кг (диапазон – 22-83 кг). При профилактическом применении со средней суточной дозой 5,5 мг/кг/сут. базальный уровень позаконазола $\geq 0,7$ мкг/мл был отмечен у 80% детей к концу первой недели, у 62,5% – к концу второй и у 87,5% – к концу четвертой недели. При использовании для терапии дозы 4 мг/кг/сут. базальный уровень препарата ≥ 1 мкг/мл был установлен у 100% больных к концу первой недели лечения, у 80% – к концу второй и у 33,4% – к концу четвертой недели. Эти показатели

еще раз подчеркивают необходимость внедрения новой лекарственной формы позаконазола среди различных возрастных групп пациентов. Tragiannidis A. и соавт. [72] ретроспективно проанализировали равновесные базальные концентрации позаконазола после приема таблетированной формы с целью профилактики с дозированием на основании опубликованной популяционной фармакокинетической модели в зависимости от массы тела. В исследование было включено 34 пациента (21 – мужского пола, медиана возраста – 12 лет (5-17 лет), медиана массы тела – 43,5 кг (16-84 кг)), получавших лечение в связи с онкогематологическими заболеваниями ($n=23$) или иммуносупрессивную терапию полиартрита ($n=1$), или находившихся после аллогенной ТГСК ($n=11$). Позаконазол в виде таблетированной формы применяли с медианой равной 70 дням (9-391 дней). Медиана первой равновесной базальной концентрации в плазме составила 1607 нг/мл (501-8485 нг/мл), при этом у 32/34 больных (94%) базальные концентрации превышали пограничное целевое значение ≥ 700 нг/мл. Была отмечена хорошая переносимость в отсутствии случаев отмены препарата или прорывных ИГИ.

Не будем останавливаться на особенностях распределения позаконазола в тканях, данные в отношении чего могут быть найдены в ряде опубликованных работ [73, 74], напомним лишь одну из ключевых особенностей – способность создавать и сохранять высокие концентрации в альвеолярных клетках, превышающие таковые в плазме примерно в 32 раза [75], что потенциально может играть важную роль при профилактике ИГИ с поражением легких.

Терапевтический лекарственный мониторинг

Еще раз уточним, что, принимая во внимание вариабельность и сложную предсказуемость достижения концентраций позаконазола при применении СПП, ТЛМ в настоящее время является рекомендуемой процедурой у пациентов, получающих СПП с целью профилактики или лечения. Показатели целевых концентраций как при профилактическом применении препарата, так и при терапии, определены и включены во все основные регламентирующие документы. В настоящее время мы оперируем основным пограничным показателем плазменной концентрации равным $\geq 0,7$ мг/л – для профилактики и ≥ 1 мг/л – для лечения ИГИ. Некоторые авторы высказывают предположение, что для достижения терапевтической эффективности концентрация не должна быть ниже 1,25 мг/л, особенно если речь идет о терапии тяжелых рефрактерных инфекций, а также в случае, если выделенные изоляты демонстрируют повышенные значения МПК для позаконазола [37, 76].

Авторы большинства международных практических рекомендаций в отношении как взрослых, так и пациентов педиатрической популяции [3, 77, 78] сходятся во мнении о необходимости обязательного про-

ведения ТЛМ как минимум при использовании СПП. Это касается определения именно пограничной терапевтической концентрации в плазме, при наличии которой значимо возрастает вероятность достижения эффекта. Однако обратим внимание, что в отличие, например, от вориконазола у нас нет четких рекомендаций по определению пограничных токсических концентраций позаконазола в плазме, так как, учитывая более благоприятный профиль переносимости препарата, эти значения не определены.

Клиническое применение

Профилактика ИГИ

Профилактика ИГИ у гематологических пациентов группы высокого риска является ключевой нишей применения позаконазола, эффективность которого продемонстрирована в двух основных опорных клинических исследованиях III фазы СПП позаконазола для профилактики ИГИ у лиц с гемобластомами/ТГСК группы высокого риска.

В многоцентровом, рандомизированном, двойном-слепом исследовании Ullmann A. и соавт. [27] провели сравнение эффективности позаконазола и флуконазола для предупреждения развития ИГИ. В исследование было включено 600 реципиентов ТГСК в возрасте от 13 лет и старше, получавших иммуносупрессивную терапию в связи с течением РТПХ. Продолжительность лечения составила 16 недель: одна когорта пациентов получала позаконазол в дозе 200 мг 3 раза в сутки с капсулами плацебо 1 раз в сутки; вторая группа – флуконазол в дозе 400 мг 1 раз в сутки в виде инкапсулированных таблеток и плаце-

бо в виде СПП 3 раза в сутки. Позаконазол оказался сравним по эффективности («noninferior») с флуконазолом в предупреждении ИГИ (5,3% и 9%), но превосходил флуконазол в отношении снижения частоты случаев аспергиллеза (2,3% и 7%). Частота нежелательных явлений (НЯ) (36% и 38%) и случаев прекращения терапии по причине НЯ (34% и 38%) были сравнимы между группами терапии. Cornely O. и соавт. [28] в своей работе сравнили эффективность позаконазола с флуконазолом и итраконазолом для профилактики ИГИ у больных в возрасте от 13 лет и старше, находившихся на ХТ в связи с гемобластомами с предполагаемой длительной нейтропенией. Было рандомизировано 602 пациента, которые получали позаконазол 200 мг 3 раза в сут. в виде СПП и флуконазол (400 мг 1 раз в сут.) или итраконазол (200 мг 2 раза в сут.) продолжительностью до 12 недель. Позаконазол показал превосходство в предупреждении ИГИ: частота ИГИ была 2% и 8% соответственно; среднее время до наступления эпизода ИГИ было больше в группе позаконазола – 41 и 25 дней соответственно. В группе позаконазола наблюдали более низкие показатели летальности на фоне терапии – 16% и 22% соответственно. Профили безопасности препаратов были сравнимы.

Безусловно, в большей степени нас интересует последующий опыт применения СПП в подростковой популяции. В таблице 1 тезисно приведены результаты основных из них.

Таблица 1

Данные некоторых исследований применения позаконазола для профилактики и терапии рефрактерных ИГИ в педиатрии

Автор, год	Страна	Тип исследования	Описание исследования	Число пациентов (позаконазол)	Средний возраст в годах (диапазон)	Фоновое состояние	Доза позаконазола	Период наблюдения	Результаты
ПРОФИЛАКТИКА									
Döring M., et al., 2012 [65]	Германия	Ретроспективное одноцентровое	Сравнение режимов дозирования и эффективности при профилактике	60 (60)	6,0 (НД)	У всех проведена ТГСК в связи с гемобластомами	5 мг/кг 2 р/сут. vs 4 мг/кг 3 р/сут.	Максимум 200 дней после трансплантации	Не было случаев ИГИ
Döring M., et al., 2014 [79]	Германия	Проспективное одноцентровое	Сравнение итраконазола, вориконазола и позаконазола для профилактики	150 (50)	НД (0,6-17,7)	У всех проведена ТГСК в связи с гемобластомами или незлокачественными заболеваниями	4 мг/кг 3 р/сут.	До 2 недель после начала антифунгальной профилактики	Только 2 возможных ИГИ на итраконазоле и 3 на вориконазоле
Döring M., et al., 2015 [80]	Германия	Ретроспективное одноцентровое	Сравнение флуконазола, итраконазола и позаконазола для профилактики	93 (30)	12,0 (0,9-17,7)	Пациенты с нейтропенией на фоне гемобластозов	4 мг/кг 3 р/сут.	Медиана 107 (диапазон 28-236) дней для группы позаконазола	1 подтвержденная ИГИ в каждой из групп. 1 возможная ИГИ на флуконазоле и 2 на итраконазоле
Döring M., et al.,	Германия	Ретроспективное	Оценка эффективности профи-	33 (33)	8,0 (1,5-17,6)	Пациенты с нейтропенией на	4 мг/кг 3 р/сут.	Медиана 102 (диапазон –	1 подтвержденная ИГИ (уровень позакон-

2017 [68]		многоцентровое	лактики во время нейтропении применительно к пограничному уровню (700 нг/мл)			фоне гемобластозов и незлокачественными заболеваниями		36-228) дней	назола ниже пограничного уровня)
Mathew S., et al., 2017 [69]	США	Ретроспективное одноцентровое	Оценка эффективности профилактики лактики во время нейтропении применительно к пограничному уровню (700 нг/мл)	15 (15)	НД (3,0-18,0)	Пациенты с гемобластозами и незлокачественными заболеваниями.	16,5 мг/кг/сут.	Плазменная концентрация позаконазола измерялась через 5 дней после терапии	1 доказанная ИГИ (уровень позаконазола ниже пограничного уровня)
ТЕРАПИЯ									
Lehrnbecher T., et al., 2010 [60]	Европа	Ретроспективное многоцентровое	Оценка эффективности терапии «спасения»	15	10,0 (3,6-17,5)	Пациенты с гемобластозами и незлокачественными заболеваниями. ТГСК у 3 из 15 пациентов.	21 мг/кг/сут.	Совокупная выживаемость к 3 месяцам	Полный или частичный ответ у 9/15 (60%) к 90 дням
Bernardo V., et al., 2013 [66]	США	Ретроспективное одноцентровое	Оценка эффективности используемого режима терапии	33	11,5 (0,5-23,2)	В основном, гемобластозы (у 82%). Нет данных в отношении ТГСК	18-24 мг/кг/сут. в 4 дозы (<34 кг); 200 мг 4 р/сут. (>34 кг или >13 лет)	НД	У 4/33 (12%) прогрессирование ИГИ. Уровень позаконазола не связан с прогрессированием (p>0,05)
Vicenzi E., et al., 2018 [38]	Италия	Ретроспективное многоцентровое	Оценка эффективности терапии	13	11,7 (6,0-18,6)	Пациенты с гемобластозами и незлокачественными заболеваниями. ТГСК у 1 из 13 пациентов.	15 мг/кг/сут.	Медиана -2,9 (диапазон - 1,0-4,4) лет	Полный или частичный ответ у 10/13 (77%) к 90 дням

Остановимся более подробно на некоторых из данных работ.

В одноцентровом проспективном исследовании [79], включившем 150 последовательных пациентов в возрасте от 0,6 месяцев до 17,7 лет, была оценена эффективность позаконазола (n=50) для антифунгальной профилактики после ТГСК в сравнении с итраконазолом (n=50) и вориконазолом (n=50). Первичной конечной точкой была частота прорывных ИГИ. В течение периода наблюдения (до 220 дней после ТГСК) не отмечено ни одного случая подтвержденной или вероятной ИГИ, однако было 5 возможных случаев ИГИ – 2 (4%) в группе итраконазола и 3 (6%) – в группе вориконазола. Авторы пришли к выводу о сопоставимой эффективности сравниваемых препаратов.

В другом ретроспективном одноцентровом исследовании приняли участие 93 больных в возрасте 0,9-17,7 лет (медиана – 12,0) с тяжелой нейтропенией (<500/мкл) на фоне ХТ и/или гемобластозов, у которых оценивали эффективность профилактики флуконазолом (n=31, 5 мг/кг/сут.), итраконазолом (n=32, 5 мг/кг 2 раза в сут.) и позаконазолом (n=30, 4 мг/кг 3

раза в сут.) [80]. Частота случаев ИГИ была представлена следующими показателями: 1 случай подтвержденного ИА в каждой из групп и 3 случая возможных ИГИ (1 – в группе флуконазола, 2 – в группе итраконазола, 0 – в группе позаконазола), что предполагает сравнимую эффективность препаратов в данном конкретном центре.

В многоцентровом ретроспективном исследовании были проанализированы 33 пациента в возрасте от 1,5 до 17,6 лет, которые получали СПП позаконазола в дозе 4 мг/кг 3 раза в сут. с целью профилактики в периоде нейтропении (<500/мкл) [68]. Только у 1 (3%) человека с медианой концентрации позаконазола в плазме равной 306 нг/мл был зарегистрирован случай развития ИГИ, вызванной *A. fumigatus*. Авторы работы еще раз подтвердили необходимость поддержания концентрации позаконазола на уровне ≥ 700 нг/мл для достижения эффективности профилактики. Аналогичным образом Mathew S. и соавт. [69] провели ретроспективное одноцентровое исследование для оценки применения позаконазола у 32 больных в возрасте от 3 до 18 лет. 15 детей (47%) получали позаконазол в дозе 16,5 мг/кг/сут. (диапазон – 9,3-30,6) с

целью профилактики, при этом только у одного ребенка с концентрацией позаконазола 310 нг/мл имел место подтвержденный случай ИГИ.

Наиболее крупным исследованием по применению позаконазола в педиатрической популяции пациентов является ретроспективная работа Vicenzi E. и соавт. [38], в которую было включено 97 иммунокомпрометированных больных в возрасте 0,2-18,6 лет с гемобластозами. 84 (87%) человека получали первичную (n=75) или вторичную (n=9) профилактику позаконазолом, при этом суточные дозы варьировали от 10 до 12 мг/кг, 34 (40,5%) – была проведена ТГСК. Пациенты наблюдались в течение 1,7 лет. Было отмечено 4 (5%) эпизода прорывных ИГИ (1 вероятная, 3 возможных), все из которых имели место у больных с тяжелой нейтропенией (<500/мкл). В 3 из 4 (75%) случаев показатели концентрации позаконазола перед постановкой диагноза ИГИ были значительно ниже пограничного значения 700 нг/мл. Однако у 40% пациентов уровни позаконазола были также ниже пограничного значения, но случаев прорывных ИГИ у них не выявлено. Объяснением этому может быть эффективность субоптимальных концентраций позаконазола, так как будучи высоколипофильной молекулой он способен накапливаться в тканях, особенно в клеточных мембранах. Помимо этого, молекулы позаконазола способны активно захватываться гидрофобинами – высокогидрофобными протеинами, которые находятся снаружи конидий грибов рода *Aspergillus* [81].

Приведем также данные исследований, проведенных в Российской Федерации (РФ). В одноцентровое ретроспективное исследование [82], выполненное с 2012 по 2018 г. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, было включено 16 детей (9 мальчиков, 7 девочек) с мукормикозом. У всех больных был установлен диагноз «острый лейкоз» (ОЛ). Диагноз мукормикоза устанавливали на основании клинических, микробиологических или гистологических методов: у 15 пациентов при жизни, у 1 – посмертно. Медиана возраста детей на момент развития мукормикоза – 7,7 лет. Средняя частота развития мукормикоза у больных ОЛ составила 1,15%, при этом в 2018 г. отмечали достоверное увеличение частоты до 4% (p=0,039) у всех детей и до 9,75% (p=0,004) – у пациентов с ОМЛ. Основными факторами риска развития мукормикоза были длительная (медиана – 30 дней) нейтропения (<0,5x10⁹/л) и лимфопения (<0,2x10⁹/л) после проведения ХТ и ТГСК. Медиана времени от начала проведения ХТ/ТГСК до диагностики мукормикоза составила 29 дней (от 13 до 398 дней). У 6 человек мукормикоз развился на фоне приема вориконазола. В 87,5% случаев (n=14) диагноз мукормикоза устанавливали на основании микроскопического исследования гистологических

препаратов. Частота микробиологической идентификации – 50%. Наиболее часто идентифицировали *Lichtheimia (Absidia) corymbifera* (n=5). У 7 (43%) пациентов диагностирован легочный, у 6 (36%) – риноорбитальный и у 3 (21%) – гастроинтестинальный мукормикоз. Для целенаправленной терапии 15 больных получали амфотерицин В (липидный комплекс/липосомальный), 14 (93%) – в комбинации с позаконазолом и/или эхинокандинами с последующей монотерапией позаконазолом после стабилизации состояния и разрешения нейтропении. Хирургическое вмешательство было проведено у 12 (75%) детей; летальность в данной группе составила 33% против 100% в группе без оперативного лечения (p=0,039). Общая выживаемость больных мукормикозом составила 41%±15%, 6-недельная – 69%±12%.

В ретроспективном исследовании, проведенном в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой [83], были оценены 30 случаев ИГИ, обусловленных редкими возбудителями. 11 пациентов были в возрасте от 2 до 17 лет. Профилактику ИГИ у детей выполняли вориконазолом (27,3%), каспофунгином (18,2%), позаконазолом (18,2%), флуконазолом (18,2%), в 18,1% случаев профилактику не проводили. Позаконазол также входил в стартовую терапию мукормикоза в комбинации с липидными формами амфотерицина В. Редкая ИГИ развилась после противоопухолевой ХТ у 3 больных, из которых в последующем 1 ребенку была выполнена аутологичная ТГСК и 1 – аллогенная ТГСК. У 1 пациента детского возраста развилась редкая ИГИ после аутологичной ТГСК и у 7 – после аллогенной ТГСК. Таким образом, частота ИГИ, обусловленных редкими возбудителями, у детей при аллогенной ТГСК составила 1,5% (n=7/461), а при аутологичной ТГСК – 0,4% (n=1/232). В целом основными возбудителями редких ИГИ были мукоромицеты (54,5%), реже выявляли *Fuzarium* spp. (18,2%), *Trichosporon asahii* (9,1%), *Scedosporium apiospermum* (9,1%), сочетание *Fusarium* spp. и *Paecilomyces* spp. (9,1%). В 36% случаев развитию редких ИГИ в детской популяции сопутствовал или предшествовал ИА.

Общим выводом по результатам всех приведенных исследований может быть эффективность использования позаконазола для предупреждения ИГИ у детей и подростков с нарушениями иммунитета. Несмотря на отдельные и вполне ожидаемые изъяны в дизайне некоторых исследований (ретроспективный характер, исторический контроль и др.), мы можем утверждать, что профилактика позаконазолом в целом не уступала по эффективности итраконазолу, вориконазолу или флуконазолу [79, 80], а поддержание необходимой концентрации препарата в плазме является основой оптимизации профилактического подхода.

Терапия различных форм ИГИ, включая рефрактерные

В нескольких ретроспективных исследованиях позаконазол применяли для терапии рефрактерных ИГИ у детей (табл. 1). В многоцентровом ретроспективном исследовании Lehnbecher T. и соавт. [60] было 15 пациентов в возрасте от 3,6 до 17,5 лет, которые получали позаконазол в качестве терапии «спасения» ИГИ (9 подтвержденных, 6 вероятных). Препарат назначали в среднем в течение 32 дней (диапазон – 4-262), а медиана дозы составила 21 мг/кг/сут. (диапазон – 4,8-33,3). Полный или частичный ответ на терапию отмечен у 9 из 15 (60%) человек. Bernardo V. и соавт. [66] в 2013 г. провели одноцентровое исследование, в которое включили 33 больных в возрасте от 0,5 до 23,2 лет, которые получали позаконазол для лечения ИГИ. Режим дозирования – 18-24 мг/кг/сут. в 4 приема у детей с массой тела менее 34 кг и 200 мг 4 раза в сут. – у лиц в возрасте >13 лет или с массой тела более 34 кг. 21 (33%) пациент достиг целевой концентрации (700 нг/мл) при средней дозе 20 мг/кг/сут. 7 из 12 (58,3%) человек, которые не смогли достичь целевого уровня, были старше 13 лет. 19 больных получали позаконазол в качестве эмпирической терапии с 1 случаем прогрессирования заболевания. У других 14 человек имели место подтвержденные случаи ИГИ, у 3 из них наблюдали прогрессирование. В данном исследовании не продемонстрирована взаимосвязь между концентрацией позаконазола и исходами инфекций ($p>0,05$), однако показана ассоциация между используемой дозой и достижением целевой концентрации. В работе Vicenzi E. и соавт. [38] 13 пациентов в возрасте от 6 до 18,6 лет с онкологическими заболеваниями или гемобластозами получали позаконазол для терапии ИГИ. У 1 больного проведена ТГСК перед началом лечения позаконазолом, у 9 из 13 (69%) – была тяжелая нейтропения. Медиана периода наблюдения – 2,9 лет. Результатом через 90 дней была полная ремиссия ИГИ в 2 случаях, частичная – в 8, стабильный ответ – в 1, ухудшение – в 1 и смерть (из-за фонового заболевания) – в 1 случае. Установленное пограничное значение для терапевтического применения позаконазола [37] (1000 нг/мл) было достигнуто у 77% после первого определения концентрации (после 7 ± 5 дней) при диапазоне доз 5-30 мг/кг/сут.

В несравнительном исследовании Huang X. и соавт. [84], в котором приняли участие пациенты в возрасте от 16 до 75 лет с фоновыми онкогематологическими заболеваниями, было показано, что позаконазол в виде СПП в дозе 800 мг в сутки в несколько приемов является эффективной терапией «спасения» при ИГИ. Среди 59 больных с ИГИ, которые не отвечали на терапию амфотерицином В, итраконазолом, вориконазолом, флуконазолом или эхинокандинами либо имели их плохую переносимость, лечение позаконазолом в дозе 400 мг 2 раза в сутки в течение 12

недель привело к совокупному клиническому ответу (полный и частичный) на уровне 64,4%. Ретроспективные данные также свидетельствуют об эффективности позаконазола в качестве терапии «спасения» у пациентов с ИГИ, вызванными другими возбудителями, включая кокцидиоидомикоз, фузариоз и мукормикоз, в том числе среди различных возрастных групп, включая педиатрическую популяцию [85-87].

Совсем недавно были опубликованы ретроспективные материалы в отношении сывороточных концентраций при применении СПП или таблетированной формы позаконазола у детей в возрасте 18 лет и младше с гемобластозами или онкологическими заболеваниями. Представлены данные от 65 пациентов, у которых было проведено 353 измерений уровня позаконазола в плазме: при применении СПП 51,6% концентраций были расценены как терапевтические, вместе с тем при приеме таблетки позаконазола этот показатель составил 62,5% ($p=0,035$). В случае, если больные получали лечение с целью снижения секреции желудка, достижение необходимой концентрации в группе СПП было менее вероятным, чем при приеме таблетированной формы ($p<0,0001$). Профиль НЯ был сопоставим между группами [88].

В исследовании Patel D. и соавт. [89] приняло участие 14 детей в возрасте от 3 до 17 лет с муковисцидозом, у которых имела место инфекция *Aspergillus* spp. и которые получили в общей сложности 23 курса терапии позаконазолом (13 – СПП и 10 – таблетка). Терапевтический уровень позаконазола в плазме (>1 мг/л) был достигнут у всех больных, применявших таблетированную форму, и у 60%, получавших СПП. Лечение позаконазолом сопровождалось хорошей переносимостью. В общей когорте пациентов было отмечено значимое улучшение показателей ОФВ₁ (% от должных значений) ($p=0,015$).

Профиль безопасности и лекарственные взаимодействия

У взрослых больных позаконазол в сравнении с другими азолами сопровождается меньшим числом лекарственных взаимодействий и в целом обладает хорошим долгосрочным профилем безопасности, при этом не было отмечено дозозависимого характера наблюдаемых явлений. Наиболее частыми НЯ, аналогичными таковым у других триазолов, являются проявления со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, абдоминальные боли, диарея). Далее по частоте следуют гепатотоксические проявления, еще реже – удлинение интервала QT и судорожный синдром [30, 37]. Позаконазол является сильным ингибитором CYP3A4, при этом отсутствует подавление активности других ферментов. Таким образом, мы можем ожидать меньшее число лекарственных взаимодействий [30]. Наиболее значимые лекарственные взаимодействия с отдельными иммуносупрессантами включают такролимус, эверолимус, си-

ролимус и циклоспорин, при совместном применении с которыми следует соблюдать осторожность, и что может потребовать индивидуализированного подхода и проведения ТЛМ. Как уже было отмечено, при применении СПП с подавляющими секрецию препаратами возникает риск не достижения необходимых концентраций в плазме [59]. В подавляющем числе исследований позаконазола в педиатрической популяции также оценивали его безопасность и переносимость. В работе Döring M. и соавт. [65] сравнивали два режима дозирования (4 мг/кг 3 раза в сут. vs 5 мг/кг 2 раза в сут.) среди 60 пациентов педиатрической популяции. Оба режима терапии имели хорошую переносимость без серьезных НЯ – у 8% больных были зарегистрированы легкие по степени тяжести НЯ (I или II степени, согласно Common Criteria for Adverse Events [90]). Они включали зуд, тошноту, рвоту, повышение уровней аланинаминотрансферазы (АЛТ) и/или аспартатаминотрансферазы (АСТ), а также прямого или общего билирубина. Наблюдали повышение уровней циклоsporина А на 57%, что корректировалось снижением дозы циклоsporина. У 4 детей терапия позаконазолом была прекращена по причине НЯ. В исследовании Bernardo V. и соавт. [66] у 7 из 33 (21%) пациентов имели место НЯ при лечении позаконазолом, которые в основном включали гепатотоксические проявления, но которые были обратимыми, не требующими отмены терапии. В работе Döring M. и соавт. [79] НЯ были зарегистрированы у 14% (n=7) больных, получавших вориконазол, у 12% (n=6) – итраконазол и у 8% (n=4) – позаконазол. В группе позаконазола 3 человека прекратили прием препарата. Значимое асимптоматическое повышение уровней АСТ и/или АЛТ отмечали во всех трех когортах. Не наблюдали значимого повышения уровня циклоsporина. В исследование Döring M. и соавт. [68] было включено 33 пациента педиатрического профиля с нейтропенией: не выявили ни одного случая отмены лечения позаконазолом, а также клинически значимого повышения лабораторных показателей. По данным Vicenzi E. и соавт. [38], частота НЯ составила 6%, при этом из 97 больных у 3 имела место гепатотоксичность (II или III степени), у 2 – отмечены проявления со стороны желудочно-кишечного тракта и у 1 – зарегистрирована синусовая брадикардия. Все указанные НЯ были скорректированы временной отменой терапии позаконазолом. Подчеркнем, что не установлено НЯ у пациентов, которые достигли концентрации позаконазола в плазме ≥ 2000 нг/мл. Также напомним о потенциальной перекрестной токсичности позаконазола и винкристина [91, 92]: наиболее частыми симптомами являются проявления со стороны ЖКТ (спазмы, запоры, кишечная непроходимость, панкреатит) и нейротоксичность (периферическая нейропатия, судороги и синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона). Эти НЯ связаны с конкурентным взаимо-

действием винкристина и позаконазола в отношении ферментного комплекса CYP3A4.

Позаконазол в практических рекомендациях

На основании проведенных исследований, позаконазол входит в целый ряд международных практических рекомендаций. Это касается и пациентов рассматриваемой возрастной группы, хотя в подавляющем большинстве случаев, как и в отношении проведенных исследований, в рекомендациях мы редко найдем четкую градацию по силе рекомендации и уровню доказательности данных в зависимости от конкретного возраста больного. Отметим, что авторы большинства документов констатируют, что у пациентов, которым требуется терапия позаконазолом, при возможности следует применять именно таблетированную форму препарата, которая сопровождается более предсказуемыми и высокими показателями концентрации позаконазола в плазме. В этой же связи не все авторы приходят к однозначному заключению о том, что при назначении таблетки позаконазола больному потребуется обязательное проведение ТЛМ.

Как и у взрослых, главным показанием для применения СПП в педиатрической популяции является профилактика ИГИ у пациентов с гемобластомами и/или ТГСК группы высокого риска. Это основано на двух опорных регистрационных исследованиях Ullmann A. [27] и Cornely O. [28], в которые были включены больные с 13-летнего возраста, и, конечно, на большом опыте пострегистрационного применения препарата. Кроме того, мы не можем обойти стороной показания для позаконазола в качестве препарата второго ряда или для терапии «спасения» при ИА и мукормикозах. В таблице 2 мы выборочно привели информацию по позиционированию позаконазола для профилактики и терапии ИГИ в педиатрии в рамках основных международных практических рекомендаций [3, 77, 78, 93-95].

Таблица 2.

Позиционирование позаконазола для профилактики и терапии ИГИ у онкогематологических пациентов педиатрического профиля в текущих версиях практических рекомендаций

Четвертая Европейская конференция по инфекциям у пациентов с лейкемией (ЕСIL-4): рекомендации по диагностике, профилактике и терапии инвазивных грибковых инфекций у пациентов педиатрического профиля с онкологическими заболеваниями или аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток [3]	
Профилактика	
Аллогенная ТГСК без РТПХ (≥ 13 лет) + ТЛМ	НО
Аллогенная ТГСК с РТПХ (≥ 13 лет) + ТЛМ	В-I
Лейкоз <i>de-novo</i> или рецидив (≥ 13 лет) + ТЛМ	В-I
Терапия	
Инвазивный аспергиллез, вторая линия (≥ 13 лет) + ТЛМ	НО
Мукормикоз, первая линия (≥ 13 лет) + ТЛМ	НО
Мукормикоз, вторая линия (≥ 13 лет) + ТЛМ	В-II
Сцедоспориоз и фузариоз (≥ 13 лет) + ТЛМ	НО
Диагностика и терапия инфекций, вызванных грибами рода	

<i>Aspergillus</i> : основные положения рекомендаций ESCMID-ECMM-ERS [77]	
<u>Профилактика ИА</u> Аллогенная ТГСК, до приживления трансплантата; аллогенная ТГСК, после приживления трансплантата, РТПХ и выраженная иммуносупрессия; пациенты высокого риска с лейкозом <i>de novo</i> или рецидивом, синдромы нарушения функции костного мозга с длительной и глубокой нейтропенией Хроническая гранулематозная болезнь	A-II A-III
Рекомендации ESCMID-ECMM: диагностика и терапия инвазивного аспергиллеза у новорожденных и детей [78]	
<u>Профилактика ИА</u> Аллогенная ТГСК, до приживления трансплантата; аллогенная ТГСК, после приживления трансплантата, РТПХ и выраженная иммуносупрессия; пациенты высокого риска с лейкозом <i>de novo</i> или рецидивом, синдромы нарушения функции костного мозга с длительной и глубокой нейтропенией Хроническая гранулематозная болезнь	A-II A-III
<u>Терапия</u> Терапия спасения при ИА (ТГСК, гемобластозы и синдромы нарушения функции костного мозга)	B-II
Обновленные практические рекомендации Испанского общества по химиотерапии по антифунгальной профилактике у иммунокомпрометированных детей [93]	
<u>Аллогенная ТГСК без РТПХ</u> АФП после приживления трансплантата и до прекращения иммуносупрессивной терапии и восстановления функции иммунной системы (≥13 лет) + ТЛМ <u>Аллогенная ТГСК без РТПХ (острая II-IV или распространенная хроническая) с выраженной иммуносупрессией</u>	НО
АФП в отношении мицелиальных и дрожжевых инфекций на протяжении периода иммуносупрессии (≥13 лет) + ТЛМ <u>Лейкоз <i>de novo</i> или рецидив</u>	B-I B-I
Практические рекомендации по системной по антифунгальной профилактике у детей с онкологическими заболеваниями или трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток Американского общества клинической онкологии [94]	
При выборе препарата с активностью против мицелиальных патогенов следует назначить эхинокандин или азол: позаконазол может быть назначен пациентам в возрасте 13 лет и старше	Сильная рекомендация; умеренное качество данных*
Глобальные рекомендации по диагностике и терапии мукормикозов: инициатива Европейской конфедерации медицинской микологии в сотрудничестве с Образовательным и исследовательским консорциумом** [95]	
Терапия первой линии (СПП)	C-II
Терапия спасения (СПП)	C-II

Примечания: * – сила и уровень доказательности имеют отношение к рекомендации в целом, но не отдельно к позаконазолу. ** – в данных рекомендациях не была отдельно выделена педиатрическая популяция. АФП – антифунгальная профилактика; НО – не определено. За более подробной информацией в отношении выбора препаратов и категорий доказательности данных для

определенных категорий пациентов, пожалуйста, обратитесь к соответствующим полнотекстовым версиям рекомендаций.

Еще раз обратим внимание на то, что все перечисленные рекомендации указывают на предпочтение в применении таблетированной формы позаконазола, а в случае назначения СПП единогласно предлагают ТЛМ для контроля и коррекции концентрации позаконазола в плазме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИГИ остаются актуальной проблемой в онкогематологии среди всех возрастных групп пациентов, сопровождаясь высокими показателями заболеваемости и летальности. Наиболее актуальной представляется педиатрическая популяция больных, включая лиц подросткового возраста, учитывая особенности фармакокинетики препаратов, а также разрешенных показаний в зависимости от возраста, что является ограничением для использования ряда АМ, в том числе позаконазола. Возрастная группа от 13 до 18 лет уже приближена к взрослым пациентам, однако в отношении которой количество доказательных данных применительно ко всем показаниям остается ограниченным по объему, что требует более активного проведения дальнейших исследований. В настоящее время, несмотря на появление новых лекарственных форм препарата, СПП позаконазола сохраняет свою роль, прежде всего, в профилактике ИГИ у онкогематологических пациентов группы высокого риска. Обоснованием этого могут быть не только опорные регистрационные исследования СПП позаконазола, но и обширный опыт пострегистрационного применения, в том числе и в РФ. Это свидетельствует о том, что позаконазол играет важную роль в ведении больных гемобластозами, включая педиатрическую популяцию пациентов, прежде всего, подросткового возраста, принимая во внимание разрешенный на сегодняшний день возраст для применения позаконазола. В таблице 3 перечислены показания и дозировки как СПП, так и таблетированной формы позаконазола. Обратим внимание на тот факт, что данные лекарственные формы не являются взаимозаменяемыми в плане рекомендованных доз.

Таблица 3.

Зарегистрированные показания и дозы СПП и таблетированной формы позаконазола [33]

	Пероральная суспензия	Таблетированная форма
Рефрактерная ИГИ/ непереносимость терапии первой линии	200 мг 4 р/сут., 400 мг 2 р/сут. вместе с пищей	300 мг 2 р/сут. нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут.
Орофарингеальный кандидоз	200 мг нагрузочная доза в первый день, далее 100 мг 1 р/сут. вместе с пищей	–

Профилактика ИГИ	200 мг 3 р/сут. вместе с пищей	300 мг 2 р/сут. нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут.
------------------	--------------------------------	-----------------------------------------------------------------------

Учитывая особенности ФК СПП, а именно вариабельную и низкую в большинстве случаев биодоступность, терапию с применением СПП необходимо проводить при поддержке ТЛМ. Принимая во внимание отсутствие возможности в большинстве стационаров определения концентраций препарата, следует соблюдать правила приема СПП (см. инструкцию по применению), учитывать потенциальные лекарствен-

ные взаимодействия, способные повлиять на метаболизм позаконазола, и осуществлять пристальный контроль над состоянием пациента для отслеживания признаков потенциальной неэффективности терапии, что, прежде всего, включает в себя диагностические мероприятия в отношении прорывных ИГИ, частота которых напрямую зависит от концентрации препарата в плазме.

Конфликт интересов: статья подготовлена при поддержке компании «МСД Фармасьютикалс».

ЛИТЕРАТУРА

1. Marr K.A., Carter R.A., Boeckh M., et al. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood*. 2002; 100: 4358-4366. doi: 10.1182/blood-2002-05-1496
2. Walmsley S., Devi S., King S., et al. Invasive *Aspergillus* infections in a pediatric hospital: a ten-year review. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1993; 12: 673-682. doi: 10.1097/00006454-199308000-00009
3. Groll A.H., Castagnola E., Cesaro S., et al. Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis, prevention, and treatment of invasive fungal diseases in paediatric patients with cancer or allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation. *Lancet Oncol.* 2014; 15 (8): e327-40. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70017-8
4. Dornbusch H.J., Manzoni P., Roilides E., et al. Invasive fungal infections in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2009; 28(8): 734-737. doi: 10.1097/INF.0b013e3181b076b1
5. Lehrnbecher T., Groll A.H. Invasive fungal infections in the pediatric population. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2011; 9: 275-278. doi: 10.1586/eri.11.1
6. Dornbusch H.J., Groll A., Walsh T.J. Diagnosis of invasive fungal infections in immunocompromised children. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15: 613-624. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03336.x
7. Pana Z.D., Vikelouda K., Roilides E. Diagnosis of invasive fungal diseases in pediatric patients. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2016; 14: 1203-1213. doi: 10.1080/14787210.2016.1242413
8. Lehrnbecher T., Ethier M.C., Zaoutis T., et al. International variations in infection supportive care practices for paediatric patients with acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2009; 147 (1): 125-128. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07844.x
9. Rosen G.P., Nielsen K., Glenn S., et al. Invasive fungal infections in pediatric oncology patients: 11-year experience at a single institution. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2005; 27: 135-140. doi: 10.1097/01.mph.0000155861.38641.ca
10. Mor M., Gilad G., Kornreich L., et al. Invasive fungal infections in pediatric oncology. *Pediatr. Blood Cancer.* 2011; 56 (7): 1092-1097. doi: 10.1002/pbc.23005
11. Dvorak C.C., Fisher B.T., Sung L., et al. Antifungal prophylaxis in pediatric hematology/oncology: new choices and new data. *Pediatr. Blood Cancer.* 2012; 59 (1): 21-26. doi: 10.1002/pbc.23415
12. Tragiannidis A., Dokos C., Lehrnbecher T., Groll A.H. Antifungal chemoprophylaxis in children and adolescents with haematological malignancies and following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: review of the literature and options for clinical practice. *Drugs.* 2012; 72 (5): 685-704. doi: 10.2165/11599810-000000000-00000
13. Lass-Flörl C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses.* 2009; 52 (3): 197-205. doi: 10.1111/j.1439-0507.2009.01691.x
14. Steinbach W.J. Epidemiology of invasive fungal infections in neonates and children. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16:1321-1327. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03288.x
15. Tragiannidis A., Fegeler W., Rellensmann G., et al. Candidaemia in a European paediatric university hospital: a 10-year observational study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18: 27-30. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03720.x
16. Steinbach W.J., Roilides E., Berman D., et al. Results from a prospective, international, epidemiologic study of invasive candidiasis in children and neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012; 31: 1252-1257. doi: 10.1097/INF.0b013e3182737427
17. Fisher B.T., Ross R.K., Localio A.R., et al. Decreasing rates of invasive candidiasis in pediatric hospitals across the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58: 74-77. doi: 10.1093/cid/cit679
18. Georgiadou S.P., Pongas G., Fitzgerald N.E., et al. Invasive mold infections in pediatric cancer patients reflect heterogeneity in etiology, presentation, and outcome: a 10-year, single-institution, retrospective study. *J. Pediatric. Infect. Dis. Soc.* 2012; 1: 125-135. doi: 10.1093/jpids/pis042

19. *Castagnola E., Rossi M.R., Cesaro S., et al.* Incidence of bacteremias and invasive mycoses in children with acute non-lymphoblastic leukemia: results from a multi-center Italian study. *Pediatr. Blood Cancer.* 2010; 55: 1103-1107. doi: 10.1002/pbc.22750
20. *Kobayashi R., Kaneda M., Sato T., et al.* The clinical feature of invasive fungal infection in pediatric patients with hematologic and malignant diseases: a 10-year analysis at a single institution at Japan. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2008; 30: 886-890. doi: 10.1097/MPH.0b013e3181864a80
21. *Ducassou S., Rivaud D., Auvrignon A., et al.* Invasive fungal infections in pediatric acute myelogenous leukemia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015; 34(11): 1262-1264. doi: 10.1097/INF.0000000000000875.
22. *Burgos A., Zaoutis T.E., Dvorak C.C., et al.* Pediatric invasive aspergillosis: a multicenter retrospective analysis of 139 contemporary cases. *Pediatrics.* 2008; 121(5): e1286-94. doi: 10.1542/peds.2007-2117
23. *Georgiadou S.P., Lewis R.E., Best L., et al.* The impact of prior invasive mold infections in leukemia patients who undergo allo-SCT in the era of triazole-based secondary prophylaxis. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48: 141-143. doi: 10.1038/bmt.2012.89
24. *Pana Z.D., Seidel D., Skiada A., et al.* Invasive mucormycosis in children: an epidemiologic study in European and non-European countries based on two registries. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16: 667. doi: 10.1186/s12879-016-2005-1
25. *Sabatelli F., Patel R., Mann P., et al.* In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50: 2009-2015. doi: 10.1128/AAC.00163-06
26. *Herbrecht R.* Posaconazole: a potent, extended-spectrum triazole antifungal for the treatment of serious fungal infections. *Int. J. Clin. Pract.* 2004; 58: 612-624. doi: 10.1111/j.1368-5031.2004.00167.x.
27. *Ullmann A., Lipton J., Vesole D., et al.* Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356: 335-347. doi: 10.1056/NEJMoa061098
28. *Cornely O., Maertens J., Winston D., et al.* Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N. Eng. J. Med.* 2007; 356: 348-359. doi: 10.1056/NEJMoa061094
29. *Vanstraelen K., Colita A., Bica A.M., et al.* Pharmacokinetics of posaconazole oral suspension in children dosed according to body surface area. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2016; 35 (2): 183-188. doi: 10.1097/INF.0000000000000963
30. *Katragkou A., Tsikopoulou F., Roilides E., Zaoutis T.E.* Posaconazole: when and how? The clinician's view. *Mycoses.* 2012; 55 (2): 110-122. doi: 10.1111/j.1439-0507.2011.02061.x
31. *EMA.* EPAR summary for the public. Noxafil (posaconazole). Available at: www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/noxafil-epar-product-information_en.pdf. Accessed September 8, 2020.
32. *NOXAFIL. HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION.* Available at: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/022003s018s020,0205053s002s004,0205596s001s003lbl.pdf. Accessed September 8, 2020.
33. *Государственный реестр лекарственных средств.* Позаконазол. Доступно по адресу: <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx>. Ссылка активна на 08.09.2020 г. [State Register of Medicines. Posaconazole. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx>. The link is active on 08.09.2020 (In Russ)].
34. *Lavigne S., Fisher B.T., Ellis D., et al.* Posaconazole administration in hospitalized children in the United States. *J. Pediatric. Infect. Dis. Soc.* 2019; 8 (5): 481-484. doi: 10.1093/jpids/piy119
35. *Arendrup M.C.* Update on antifungal resistance in *Aspergillus* and *Candida*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20: 42-48. doi: 10.1111/1469-0691.12513
36. *Lempers V.J., Martial L.C., Schreuder M.F., et al.* Drug-interactions of azole antifungals with selected immunosuppressants in transplant patients: strategies for optimal management in clinical practice. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2015; 24: 38-44. doi: 10.1016/j.coph.2015.07.002
37. *Ashbee H.R., Barnes R.A., Johnson E.M., et al.* Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: guidelines from the British Society for Medical Mycology J. *Antimicrob. Chemother.* 2014; 69(5): 1162-1176. doi: 10.1093/jac/dkt508
38. *Vicenzi E.B., Calore E., Decembrino N., et al.* Posaconazole oral dose and plasma levels in pediatric hematology-oncology patients. *Eur. J. Haematol.* 2018; 100(3): 315-322. doi: 10.1111/ejh.13017
39. *Jancel T., Shaw P.A., Hallahan C.W., et al.* Therapeutic drug monitoring of posaconazole oral suspension in paediatric patients younger than 13 years of age: a retrospective analysis and literature review. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2017; 42 (1): 75-79. doi: 10.1111/jcpt.12483
40. *Koltin Y., Hitchcock C.A.* The search for new triazole antifungal agents. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1997; 1: 176-182. doi: 10.1016/s1367-5931(97)80007-5
41. *Nagappan V., Deresinski S.* Posaconazole: a broad-spectrum triazole antifungal agent. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45: 1610-1617. doi: 10.1086/523576

42. *Galgiani J., Lewis M.* In vitro studies of activities of the antifungal triazoles SCH 56592 and itraconazole against *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, and other pathogenic yeasts. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 180-183. doi: 10.1128/AAC.41.1.180
43. *Cacciapuoti A., Loebenberg D., Corcoran E., et al.* In vitro and in vivo activities of SCH 56592 (posaconazole), a new triazole antifungal agent, against *Aspergillus* and *Candida*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44: 2017-2022. doi: 10.1128/aac.44.8.2017-2022.2000
44. *Vazquez J.A., Skiest D.J., Nieto L., et al.* A multicenter randomized trial evaluating posaconazole versus fluconazole for the treatment of oropharyngeal candidiasis in subjects with HIV/AIDS. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: 1179-1186. doi: 10.1086/50145717
45. *Graybill J.R., Bocanegra R., Najvar L.K., et al.* SCH56592 treatment of murine invasive aspergillosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 1998; 42: 539-542. doi: 10.1093/jac/42.4.539.
46. *Petraitiene R., Petraitis V., Groll A.H., et al.* Antifungal activity and pharmacokinetics of posaconazole (SCH 56592) in treatment and prevention of experimental invasive pulmonary aspergillosis: correlation with galactomannan antigenemia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 857-869. doi: 10.1128/AAC.45.3.857-869.2001
47. *Alexander B.D., Perfect J.R., Daly J.S., et al.* Posaconazole as salvage therapy in patients with invasive fungal infections after solid organ transplant. *Transplantation.* 2008; 86: 791-796. doi: 10.1097/TP.0b013e3181837585
48. *Barchiesi F., Schimizzi A.M., Caselli F., et al.* Activity of the new antifungal triazole, posaconazole, against *Cryptococcus neoformans*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48: 769-773. doi: 10.1093/jac/48.6.769
49. *Connolly P., Wheat J., Schnizlein-Bick C., et al.* Comparison of a new triazole antifungal agent, Schering 56592, with itraconazole and amphotericin B for treatment of histoplasmosis in immunocompetent mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43: 322-328. doi: 10.1128/AAC.43.2.322
50. *Lutz J.E., Clemons K.V., Aristizabal B.H., Stevens D.A.* Activity of the triazole SCH 56592 against disseminated murine coccidioidomycosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1558-1561. doi: 10.1128/AAC.41.7.1558
51. *Lozano-Chiu M., Arikian S., Paetznick V.L., et al.* Treatment of murine fusariosis with SCH 56592. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43: 589-591. doi: 10.1128/AAC.43.3.589
52. *Brugiere O., Dauriat G., Mal H., et al.* Pulmonary mucormycosis (zygomycosis) in a lung transplant recipient: recovery after posaconazole therapy. *Transplantation.* 2005; 80: 1361-1362. doi: 10.1097/01.tp.0000168343.47569.1c
53. *Pfaller M.A., Messer S.A., Woosley L.N., et al.* Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiological cutoff values for characterization of geographic and temporal trends of antifungal resistance. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (8): 2571-2581. doi: 10.1128/JCM.00308-13
54. *Castanheira M., Deshpande L.M., Davis A.P., et al.* Monitoring antifungal resistance in a global collection of invasive yeasts and molds: application of CLSI epidemiological cutoff values and whole-genome sequencing analysis for detection of azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61 (10): e00906-17. doi: 10.1128/AAC.00906-17
55. *Klyasova G., Malchikova A., Maschan M., et al.* In vitro activity of echinocandins and azoles against *Candida* spp. isolated from hematological and non-hematological patients in 11 centers of Russia. *Proceedings of the 8th Trends in Medical Mycology, Belgrade, Serbia, October 6-9, 2017.* *Mycoses.* 2017; 60 (Suppl. 2): 65. doi: 10.1111/myc.12667
56. *Mann P.A., McNicholas P.M., Chau A.S., et al.* Impact of antifungal prophylaxis on colonization and azole susceptibility of *Candida* species. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (12): 5026-5034. doi: 10.1128/AAC.01031-09
57. *Wang Y., Yang Q., Chen L., et al.* Cross-resistance between voriconazole and fluconazole for non-*albicans* *Candida* infection: a case-case-control study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017; 36 (11): 2117-2126. doi: 10.1007/s10096-017-3034-4
58. *Ezzet F., Wexler D., Courtney R., et al.* Oral bioavailability of posaconazole in fasted healthy subjects: comparison between three regimens and basis for clinical dosage recommendations. *Clin. Pharmacokinet.* 2005; 44: 211-220. doi: 10.2165/00003088-200544020-00006
59. *Krishna G., Moton A., Ma L., et al.* Pharmacokinetics and absorption of posaconazole oral suspension under various gastric conditions in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53: 958-966. doi: 10.1128/AAC.01034-08
60. *Lehrnbecher T., Attarbaschi A., Duerken M., et al.* Posaconazole salvage treatment in paediatric patients: a multi-centre survey. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29 (8): 1043-1045. doi: 10.1007/s10096-010-0957-4
61. *Walsh T.J., Raad I., Patterson T.F., et al.* Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44 (1): 2-12. doi: 10.1086/508774
62. *Chau M.M., Kong D.C., van Hal S.J., et al.* Consensus guidelines for optimising antifungal drug delivery and monitoring to avoid toxicity and improve outcomes in patients with haematological malignancy, 2014. *Intern. Med. J.* 2014; 44 (12b): 1364-1388. doi: 10.1111/imj.12600

63. Krishna G., Sansone-Parsons A., Martinho M., et al. Posaconazole plasma concentrations in juvenile patients with invasive fungal infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51 (3): 812-818. doi: 10.1128/AAC.00454-06
64. Gwee A., Cranswick N., Curtis N. Posaconazole: promising but problematic in practice in pediatric patients. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015; 34 (6): 604-606. doi: 10.1097/INF.0000000000000635
65. Döring M., Müller C., Johann P.D., et al. Analysis of posaconazole as oral antifungal prophylaxis in pediatric patients under 12 years of age following allogeneic stem cell transplantation. *BMC Infect. Dis.* 2012; 12: 263. doi: 10.1186/1471-2334-12-263
66. Bernardo V.A., Cross S.J., Crews K., et al. Posaconazole therapeutic drug monitoring in pediatric patients and young adults with cancer. *Ann. Pharmacother.* 2013; 47 (7-8): 976-983. doi: 10.1345/aph.1R775
67. Heinz W.J., Cabanillas Stanchi K., Klinker H., et al. Posaconazole plasma concentration in pediatric patients receiving antifungal prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Med. Mycol.* 2016; 54 (2): 128-137. doi: 10.1093/mmy/myv087
68. Döring M., Cabanillas Stanchi K.M., Klinker H., et al. Posaconazole plasma concentrations in pediatric patients receiving antifungal prophylaxis during neutropenia. *Med. Mycol.* 2017; 55 (4): 375-384. doi: 10.1093/mmy/myw091
69. Mathew S., Kussin M.L., Liu D., et al. Retrospective analysis of posaconazole suspension dosing strategies in a pediatric oncology population: single-center experience. *J. Pediatric. Infect. Dis. Soc.* 2017; 6 (3): e149-e151. doi: 10.1093/jpids/pix058
70. Pham A., Bubalo J., Lewis J. 2nd. Comparison of posaconazole serum concentrations from haematological cancer patients on posaconazole tablet and oral suspension for treatment and prevention of invasive fungal infections. *Mycoses.* 2016; 59 (4): 226-233. doi: 10.1111/myc.12452
71. Mauro M., Colombini A., Perruccio K., et al. Posaconazole delayed-release tablets in paediatric haematology-oncology. *Mycoses.* 2020; 63 (6): 604-609. doi: 10.1111/myc.13084
72. Tragiannidis A., Herbrüggen H., Ahlmann M., et al. Plasma exposures following posaconazole delayed-release tablets in immunocompromised children and adolescents. *J. Antimicrob. Chemother.* 2019; 74 (12): 3573-3578. doi: 10.1093/jac/dkz359
73. Felton T., Troke P.F., Hope W.W. Tissue penetration of antifungal agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 27 (1): 68-88. doi: 10.1128/CMR.00046-13
74. Stover K.R., Cleary J.D. Antifungal penetration and distribution into organs and tissue. *Curr. Fungal. Infect. Rep.* 2020; 14: 279-288. doi: 10.1007/s12281-020-00390-7
75. Conte J.E. Jr., Golden J.A., Krishna G., et al. Intrapulmonary pharmacokinetics and pharmacodynamics of posaconazole at steady state in healthy subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (2): 703-707. doi: 10.1128/aac.00663-08
76. Chen L., Wang Y., Zhang T., et al. Utility of posaconazole therapeutic drug monitoring and assessment of plasma concentration threshold for effective prophylaxis of invasive fungal infections: a meta-analysis with trial sequential analysis. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18: 155. doi: 10.1186/s12879-018-3055-3
77. Ullmann A., Aguado J.M., Arikian-Akdagli S., et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin. Microbiol. Infect.* 2018; 24 (Suppl. 1): e1-e38. doi: 10.1016/j.cmi.2018.01.002
78. Warris A., Lehrnbecher T., Roilides E., et al. ESCMID-ECMM guideline: diagnosis and management of invasive aspergillosis in neonates and children. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25 (9): 1096-1113. doi: 10.1016/j.cmi.2019.05.019
79. Döring M., Blume O., Haufe S., et al. Comparison of itraconazole, voriconazole, and posaconazole as oral antifungal prophylaxis in pediatric patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2014; 33 (4): 629-638. doi: 10.1007/s10096-013-1998-2
80. Döring M., Eikemeier M., Cabanillas Stanchi K.M., et al. Antifungal prophylaxis with posaconazole vs. fluconazole or itraconazole in pediatric patients with neutropenia. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2015; 34 (6): 1189-1200. doi: 10.1007/s10096-015-2340-y
81. Campoli P., Perlin D., Kristof A., et al. Pharmacokinetics of posaconazole within epithelial cells and fungi: insights into potential mechanisms of action during treatment and prophylaxis. *J. Infect. Dis.* 2013; 208: 1717-1728. doi: 10.1093/infdis/jit358
82. Солопова Г.Г., Мякова Н.В., Шелихова Л.Н. и др. Мукормикоз у онкогематологических пациентов детского возраста: результаты одноцентрового исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21 (1): 39-45. doi: 10.36488/смач.2019.1.39-45. [Solopova G.G., Myakova N.V., Shelikhova L.N. et al. Mucormycosis in children with hematological malignancies: results of a single-center study. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy.* 2019; 21 (1): 39-45. doi: 10.36488/смач.2019.1.39-45 (In Russ)].
83. Рогачева Ю.А., Попова М.О., Маркова И.В. и др. Инвазивные микозы, обусловленные редкими возбудителями, у детей со злокачественными опухолями и незлокачественными заболеваниями кроветворной и лимфатической ткани на фоне трансплантации костного мозга и противоопухолевой химиотерапии. *Педиатрия.* 2019; 98

- (1): 28-35. doi: 10.24110/0031-403X-2019-98-1-28-35. [Rogacheva Yu.A., Popova M.O., Markova I.V., et al. Invasive mycoses caused by rare pathogens in children with malignant tumors and non-malignant diseases of hematopoietic and lymphatic tissue after bone marrow transplantation and antineoplastic chemotherapy. *Pediatrics*. 2019; 98 (1): 28-35. doi: 10.24110/0031-403X-2019-98-1-28-35 (In Russ)].
84. *Huang X., Wang F., Chen Y., et al.* A multicenter, open-label study of posaconazole oral suspension in the treatment of invasive fungal infections in patients refractory to or intolerant of first-line therapy. *Future Microbiol.* 2012; 7: 201-209. doi: 10.2217/fmb.11.158
85. *Raad I., Hachem R., Herbrecht R., et al.* Posaconazole as salvage treatment for invasive fusariosis in patients with underlying hematologic malignancy and other conditions. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: 1398-1403. doi: 10.1086/503425
86. *Vehreschild J., Birtel A., Vehreschild M., et al.* Mucormycosis treated with posaconazole: review of 96 case reports. *Crit. Rev. Microbiol.* 2013; 39: 310-324. doi: 10.3109/1040841X.2012.711741
87. *Rüping M.J., Heinz W.J., Kindo A.J., et al.* Forty-one recent cases of invasive zygomycosis from a global clinical registry. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65 (2): 296-302. doi: 10.1093/jac/dkp430
88. *Wass E.N., Hernandez E.A., Sierra C.* Comparison of the efficacy of posaconazole delayed release tablets and suspension in pediatric hematology/oncology patients. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* 2020; 25 (1): 47-52. doi: 10.5863/1551-6776-25.1.47
89. *Patel D., Popple S., Claydon A., et al.* Posaconazole therapy in children with cystic fibrosis and *Aspergillus*-related lung disease. *Med. Mycol.* 2020; 58 (1): 11-21. doi: 10.1093/mmy/myz015
90. *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0.* (2009). Available at: https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf. Accessed September 8, 2020.
91. *Eiden C., Palenzuela G., Hillaire-Buys D., et al.* Posaconazole-increased vincristine neurotoxicity in a child: a case report. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2009; 31: 292-295. doi: 10.1097/MPH.0b013e31819b9d01
92. *Hamdy D.A., El-Geed H., El-Salem S., Zaidan M.* Posaconazole-vincristine coadministration triggers seizure in a young female adult: a case report. *Case Rep. Hematol.* 2012; 2012: 343742. doi: 10.1155/2012/343742
93. *Ramos J.T., Romero C.A., Belda S., et al.* Fungal Infection Study Group of Spanish Society of Paediatric Infectious Disease (SEIP); Translational Research Network in Pediatric Infectious Diseases (RITIP). Clinical practice update of antifungal prophylaxis in immunocompromised children. *Rev. Esp. Quimioter.* 2019; 32 (5): 410-425. PMID: 31507152
94. *Lehrnbecher T., Fisher B.T., Phillips B., et al.* Clinical practice guideline for systemic antifungal prophylaxis in pediatric patients with cancer and hematopoietic stem-cell transplantation recipients. *J. Clin. Oncol.* 2020; JCO2000158. doi: 10.1200/JCO.20.00158
95. *Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19 (12): e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3

Поступила в редакцию журнала 15.11.2021

Рецензент: Климко Н.Н.

АНТРОПОНОЗНАЯ ТРИХОФИТИЯ: ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ ЭТИОЛО- ГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ДИФФЕ- РЕНЦИАЛЬНОМ ДИАГНОЗЕ. КЛИ- НИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ И ОБЗОР ЛИ- ТЕРАТУРЫ

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)*,
²Леина Л.М. (доцент), ³Петунова Я.Г. (дерма-
товенеролог), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.),
¹Пчелин И.М. (н.с.)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-
Западный государственный медицинский университет им.
И.И. Мечникова; ²Санкт-Петербургский государственный
педиатрический медицинский университет; ³Городской
кожно-венерологический диспансер, Санкт-Петербург,
Россия

В последние годы меняется эпидемиологическая си-
туация в отношении трихофитии, в особенности это
касается антропонозной трихофитии. Тенденции в эпи-
демиологическом процессе, наблюдающиеся в мире и в
некоторых городах в России, отражены в данной публи-
кации.

Несмотря на длительное изучение трихофитии –
заболевания из группы поверхностных микозов, вызывае-
мого дерматомицетами рода *Trichophyton*, и наличие
адекватных диагностических тестов, в том числе ши-
роко распространенных и доступных в экономическом
отношении классических методов, диагностические
ошибки в отношении данного заболевания нередки. В
статье приведены собственные наблюдения, в которых
представлены многочисленные диагностические и тера-
певтические ошибки при ведении пациентов с антропо-
нозной трихофитией, а также обзор современной лите-
ратуры.

Ключевые слова: антропонозная трихофития, *Tri-
chophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum*

ANTHROPONOUS TRICHOPHYTO- SIS: VIEW OF THE ETIOLOGY, EPI- DEMOLOGY, DIFFERENTIAL DI- AGNOSIS. CLINICAL CASES AND LITERATURE REVIEW

¹Medvedeva T.V. (dermatovenereologist),
²Leina L.M. (associate professor), ³Petunova
Y.G. (dermatovenereologist), ¹Chilina G.A.
(head of the laboratory), ¹Pchelin I.M. (scientific
researcher)

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

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-
Western State Medical University named after I.I. Mechnikov;
²St.Petersburg State Pediatric Medical University, ³City Skin
and Venereological Dispensary St. Petersburg, Russia

*In recent years, the epidemiological situation regarding
trichophytosis has been changing; especially this concerns
the anthroponotic trichophytosis. Trends in the epidemiologi-
cal process observed in the world and in some cities in Rus-
sia are reflected in this publication.*

*Despite the long-term study of trichophytosis, a disease
from the group of superficial mycoses caused by dermatomy-
cetes of the genus *Trichophyton*, and the availability of ade-
quate diagnostic tests, including widespread and economical-
ly accessible classical methods, diagnostic errors regarding
this disease are not uncommon. The article contains own
observations, which present numerous diagnostic and thera-
peutic errors in the management of patients with anthropono-
tic trichophytosis, as well as a review of modern literature.*

Key words: anthroponotic trichophytosis, *Trichophyton
tonsurans*, *Trichophyton violaceum*

Трихофития – заболевание из группы поверх-
ностных микозов, вызываемое дерматомицетами
рода *Trichophyton*, распространенное практически
повсеместно. Среди патогенных групп дермато-
мицетов не наблюдается постоянства в частоте
встречаемости в различных регионах. Изменение
соотношения между возбудителями отдельных по-
верхностных микозов отчетливо можно проследить
на протяжении XX века: «превращение» гриба
Trichophyton rubrum (в настоящее время – домини-
рующий возбудитель онихомикозов) в гриба «кос-
мополита»; резкое снижение случаев заболевания
трихофитией, вызванных как антропофильными, так
и зоофильными патогенами, в 60-ые годы и одно-
временное возрастание заболеваемости микроспо-
рией (основной патоген – *Microsporum canis*). С
учетом анализа 4190 публикаций, проведенного в
работе Gupta A.K. с соавт., наиболее часто выявляе-
мым патогенным грибом, вызывающим микоз во-
лосистой части головы, на Африканском континен-
те является *Trichophyton violaceum*, в Европе и Азии
– *M. canis*, в Северной Америке – *Trichophyton
tonsurans*, в Южной Америке – *M. canis* [1]. В нача-
ле XXI века в отношении этиологических факторов,
обуславливающих микозы волосистой части голо-
вы, были выделены такие понятия, как *Trichophyton*-
преобладающий и *Microsporum*-преобладающий
регионы [2]. Таким образом, вектор направленности
в распространении тех или иных инфекций посто-
янно меняется, поэтому нашей задачей является ре-
гулярное мониторинговое наблюдение данной ситуации и про-
ведение соответствующих профилактических мер
по предупреждению распространения патогенов,
вызывающих поверхностные микозы.

В России на сегодняшний день количество случаев поверхностных микозов, обусловленных грибами рода *Microsporum*, значительно превышает заболеваемость микозами, связанными с патогенами рода *Trichophyton*. В качестве иллюстрации можно привести следующие статистические данные: в 2019 г. в России было выявлено 70869 случаев микроsporии (интенсивный показатель составил 48,3 случая), тогда как трихофитии – 2329 случаев (1,59). Традиционно, у детей в возрасте от 0 до 14 лет поверхностные микозы (трихофитию, микроспорию) наблюдали существенно чаще, чем у взрослых: в 2019 г. в детской популяции в России был отмечен 55 901 случай микроспории (интенсивный показатель составил 215,5), а трихофития диагностирована у 1459 ребенка (интенсивный показатель – 5,6) [3]. В Санкт-Петербурге в 2020 г. выявлен 1491 случай микроспории (интенсивный показатель – 27,62), трихофитии – 54 (интенсивный показатель – 1,00). Таким образом, на сегодняшний день Россия относится к *Microsporum*-преобладающим регионам (по определению Kelly В.Р., 2020). Антропофильные дерматомицеты *T. tonsurans* и *T. violaceum*, поражающие и гладкую кожу, и ногтевые пластинки, являются часто встречающимися возбудителями микозов волосистой части головы в целом ряде регионов, наряду с широко распространенным зоофильным патогеном *M. canis* [4].

С определенной долей условности дерматомицеты рода *Trichophyton* можно разделить на зоофильные и антропофильные. Возбудителями зоонозной трихофитии являются такие патогенные грибы, как *T. mentagrophytes*, *T. benhamiae* («новый» возбудитель, определенный методом ДНК-секвенирования, первое описание в России – в 2016 г.), переносчиками которых выступают преимущественно мелкие грызуны, и *T. verrucosum* (переносчики – крупный и мелкий рогатый скот). К антропофильным возбудителям относятся виды *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. rubrum* и *T. schoenleinii*. Патоген *T. schoenleinii* является первопричиной заболевания с очень четко очерченной клинической картиной – фавуса, практически не встречающегося в настоящее время на территории России (зарегистрированы только спорадические случаи) [5]. Гриб *T. rubrum* значительно реже является возбудителем микозов волосистой части головы и гладкой кожи (в сравнении с *T. tonsurans* и *T. violaceum*), но доминирует как возбудитель онихомикозов. Антропофильных возбудителей *T. tonsurans* и *T. violaceum*, помимо сходных путей передачи инфекции (от человека к человеку; через предметы, бывшие в обиходе больного человека), объединяет схожесть в проявлениях заболевания.

Данная публикация посвящена двум возбудителям поверхностных микозов – *T. tonsurans* и *T. violaceum*.

Основную часть болеющих трихофитией в России составляют дети. Так, например, в 2015 г. заболеваемость данным микозом в Российской Федерации на 100 тысяч населения составила 1,88 человек (в целом), у детей – 6 человек [3]. По данным И.В. Хамагановой с соавторами, в г. Москве за период с 2009 по 2013 гг. было зарегистрировано 342 случая трихофитии, из них доля детей составила 65% [6]. Эта же закономерность прослеживается и при анализе распространенности трихофитии в г. Санкт-Петербурге: встречаемость данной инфекции среди взрослых в 2015 г. составила 0,20 на 100 тысяч населения, а среди детей в возрасте от 0 до 14 лет – 3,53 на 100 тысяч человек. Особую проблему для Санкт-Петербурга представляет значительная распространенность трихофитии среди подростков (возраст – от 15 до 18 лет): в 2016 г. она составила 9,2 на 100 тысяч населения, в 2017 г. – 10,12, заболеваемость несколько снизилась в 2018 г. – 5,25, в 2019 г. – 7,57. Высокая частота встречаемости данного микоза в указанной возрастной группе отчасти может быть обусловлена тем, что значительную часть заболевших составили мальчики, занимающиеся в спортивных секциях (борьба). Введен даже специальный термин, обозначающий поражение гладкой кожи в данном случае, – *inea gladiatorum*. В работе С.Б. Антоновой был проанализирован этиологический спектр возбудителей трихофитии в г. Екатеринбурге за период с 2014 по 2016 гг., где в качестве основного патогена выделен *T. tonsurans* (72% случаев). В публикации отмечено, что значительная часть пациентов с трихофитией посещала детские спортивные секции, в основном представленные контактными видами спорта. Значительную часть заболевших составили дети из семей мигрантов (Узбекистан, Таджикистан, Киргизия) – 72% [7].

В последние годы целый ряд отечественных авторов отмечает постепенное увеличение случаев выявляемой трихофитии. Так, в работе Поздняковой О.Н. с соавторами был проведен анализ заболеваемости различными микозами (микоз стоп, онихомикоз, трихофития, микроспория) в г. Новосибирске за период с 2009 по 2018 гг. Установлено, что прирост первичной заболеваемости трихофитией вывел данную патологию на 2-ое место (по сравнению с другими рассматриваемыми микозами). Число случаев трихофитии за указанный период возросло в 2,5 раза. В 2018 г. в данном регионе было выявлено 2 случая трихофитии у детей до года, что является достаточно редкой ситуацией [8]. К сожалению, в России долгое время не проводились масштабные эпидемиологические исследования в отношении трихофитии, которые позволили бы определить распространенность различных видов возбудителей в регионах страны. В отечественной литературе имеется анализ этиологической структуры трихофитии в отдельно взятых городах [6-8]. При оценке

культуральных исследований, проведенных в научном отделе НИИ медицинской микологии (г. Санкт-Петербург) за период с 2015 по 2019 гг., в этиологической структуре трихофитии преобладали зоофильные возбудители. Всего получено 19 культур, в том числе у большинства пациентов (14 человек) был выявлен патоген *T. mentagrophytes*, у 3 – *T. verrucosum*, в 2 случаях получена культура *T. benhamiae* – «нового» возбудителя, определяемого методом ДНК-секвенирования. В 14 случаях выделены возбудители антропонозной трихофитии: у 13 больных – *T. tonsurans*, у 1 – *T. violaceum*.

Патоген *T. tonsurans* – наиболее часто регистрируемый возбудитель микозов волосистой части головы в Великобритании [1, 9]. Считается, что трихофитией, вызванной данным возбудителем, чаще страдают определенные этнические группы – выходцы из стран Африки и Карибского бассейна [9]. Существенным фактором, способствующим распространению данной инфекции, является занятие контактными видами спорта, в первую очередь различными видами борьбы. В Японии наблюдают рост заболеваемости микозами, вызванными *T. tonsurans*, среди лиц, занимающихся различными видами единоборств (например, дзюдо, борьбой сумо), а также среди членов их семей [10]. Инфекция, обусловленная данным патогеном, относится к числу наиболее плохо контролируемых. Это связано с длительным инкубационным периодом (около 6 недель до появления первых клинических симптомов), а также с особенностями возбудителя *T. tonsurans* персистировать в окружающей среде после успешного лечения пациентов, потенциально способствуя развитию реинфекции [9].

Характерной особенностью трихофитии, вызванной антропофильными возбудителями, является «стертость» клинической картины. Наряду с такими явными клиническими признаками (в случае поражения волосистой части головы), как алопеция, эритема, наличие пустул, симптома «черных точек», зуда, лимфаденопатии (увеличения затылочных и шейных лимфатических узлов), наблюдаются практически бессимптомные случаи заболевания [11].

Гриб *T. tonsurans* впервые описан D. Gruby; в 1845 г. Н. Malmsten дал современное наименование данному патогену. При проведении культурального исследования колонии *T. tonsurans* переменчивы, от порошистых до зернистых, или замшевых; окраска варьирует от белой до желто-коричневой и коричневой; обратная сторона пигментирована от желто-коричневого до красного цвета. При микроскопическом исследовании культур: микроконидии присутствуют в значительном количестве, их форма варьирует от каплевидной до булавовидной, или формы «надутого шарика». Часто присутствуют многочисленные терминальные или интеркалярные хламидо-

споры. Макроконидии переменчивые, встречаются редко (Рис. 1, 2).

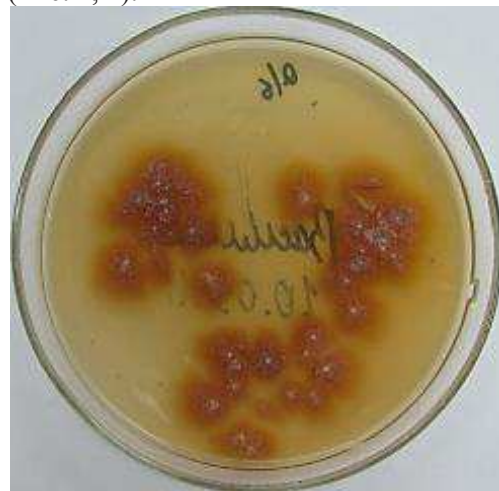


Рис. 1. Внешний вид культуры *T. tonsurans*.



Рис. 2. Микроскопическое исследование *T. tonsurans*, ув. х400.

Наиболее частыми локализациями патологического процесса при трихофитии, вызванной *T. tonsurans*, являются волосистая часть головы и гладкая кожа. Поражение ногтевых пластинок данным патогеном относится к числу редко встречающихся (во всяком случае, в европейских странах). Интерес вызывает сообщение японских исследователей (в Японии описаны лишь единичные случаи онихомикоза, ассоциированного с *T. tonsurans*), наблюдавших онихомикоз кисти у 17-летнего юноши, страдавшего атопическим дерматитом и применявшего по этому поводу топические кортикостероиды высокой потенции, а также посещавшего секцию дзюдо (в которой отмечены случаи заболевания трихофитией). Пациент был обследован дерматоскопическим методом (выявлены классические признаки онихомикоза), использованы традиционные микологические тесты; метод ДНК-секвенирования позволил идентифицировать возбудителя как *T. tonsurans* [12].

Диагностика трихофитии складывается из оценки клинической картины и проведения микологических тестов, количество которых существенно возросло в последние годы благодаря внедрению методов молекулярной биологии. Безусловно, приоритетными в силу доступности, дешевизны и осво-

енности на протяжении более чем столетия являются классические микологические тесты: микроскопия кожных чешуек и волос (КОН-тест) и культуральные исследования (чаще всего – посев на среду Сабуро). В различных странах могут отличаться способы забора патологического материала (кожных чешуек, волос). Так, в России традиционно для этих целей используют медицинский скальпель, в Японии – специальную щеточку [10, 12], в ряде европейских стран – специальные свабы [13, 14].

Несмотря на длительное изучение трихофитии и наличие адекватных диагностических тестов (в том числе широко распространенных и доступных в экономическом отношении классических методов), диагностические ошибки в отношении данного заболевания нередки.

Приводим собственное наблюдение, в котором отражены многочисленные диагностические и терапевтические ошибки при ведении пациента с антропонозной трихофитией.

Случай 1. Мальчик, 16 лет. Занимался в секции вольной борьбы. Предъявлял жалобы на наличие очагов облысения, покраснения на волосистой части головы, периодически – кожный зуд. Болен с ноября 2015 г. В НИИ медицинской микологии обратился спустя 8 месяцев от начала заболевания. До этого неоднократно консультировался дерматологами различных медицинских учреждений, где устанавливали такие диагнозы как «себорейный дерматит», «пиодермия волосистой части головы». Микологические исследования не проводили. Рекомендованное лечение включало различные топические кортикостероиды, системные и местные антибактериальные средства. В одной из клиник была проведена биопсия кожи волосистой части головы с последующим гистологическим исследованием и установлен диагноз «очаговая алопеция», в качестве терапии предложено инъекционное введение кортикостероида в очаг поражения. В результате проведенных манипуляций возникло обострение кожного процесса, появились множественные гнойнички (Рис.3).



Рис. 3. Поражение волосистой части головы у юноши 16-ти лет (возбудитель – *T. tonsurans*).

При обращении в НИИ медицинской микологии были проведены классические микологические тесты: при микроскопии кожных чешуек и волос обнаружены цепочки спор и мицелий гриба, при посеве – культура *T. tonsurans* (Рис. 4, 5). Установлен диагноз: инфильтративно-нагноительная трихофития волосистой части головы, вызванная *T. tonsurans*. Удалось добиться полного клинико-лабораторного излечения с помощью приема тербинафина по 250 мг в сутки в течение 1,5 месяцев.



Рис. 4. Культура *T. tonsurans*, выделенных от юноши 16-ти лет.

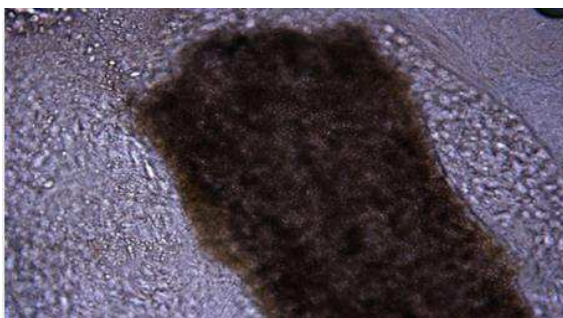


Рис. 5. Микроскопическое исследование патологического материала *T. tonsurans*, выделенных от юноши 16-ти лет, x400.

К факторам, способствующим развитию микозов волосистой части головы, вызванных антропофильными дерматомицетами, относятся: многодетность семей, низкий социально-экономический статус, скученность проживания [1]. Последний фактор может играть решающую роль при распространении не только микозов волосистой части головы, обусловленных антропофильными возбудителями, но и при поражении гладкой кожи.

Случай 2. Юноша, 21 год, обратился с жалобами на наличие высыпаний на передней поверхности шеи и груди в течение трех месяцев. С временным эффектом применял мазь «Тридерм», затем «Акридерм ГК». Площадь очага поражения постепенно увеличивалась. Курсант военного училища, проживающий в казарме. Сообщил, что среди курсантов несколько человек жаловались на появление кож-

ных высыпаний. При осмотре: очаг поражения неправильной формы, занимающий практически всю переднюю поверхность шеи с переходом на кожу груди; границы очага поражения четкие, с валиком, представленным гиперемированными папулезными высыпаниями. При проведении микологического исследования от 01.2021 г. обнаружен мицелий гриба, получен рост *T. tonsurans*. Установлен диагноз: поверхностная трихофития гладкой кожи, вызванная *T. tonsurans*. Рекомендованы прием тербинафина по 250 мг в сутки и наружная антифунгальная терапия (Рис. 6).



Рис. 6. Поражение гладкой кожи у 21-летнего пациента (возбудитель – *T. tonsurans*).

В связи с невысокой частотой встречаемости антропонозной трихофитии в России врачи не всегда осведомлены о диагностических алгоритмах в отношении данной патологии. Приводим наше наблюдение.

Случай 3. Девочка, 6 лет, обращение на кафедру дерматовенерологии СПбГПМУ в конце сентября 2019 г. по поводу высыпаний на лице. Первые проявления заболевания возникли в середине августа, когда ребенок отдыхал на юге. Со слов родителей, тогда появились шелушащиеся пятна розового цвета на щеках. Обратились к аллергологу, установлен диагноз «аллергический дерматит», назначен топический кортикостероид («Акридерм»). Лечение – без эффекта, назначен трехкомпонентный местный препарат «Тридерм», после чего уменьшилось шелушение, но очаги стали распространяться на область висков и на лоб. С подозрением на системную красную волчанку ребенок направлен к ревматологу, а тот, в свою очередь, исключив предполагаемый диагноз, рекомендовал консультацию дерматолога. При осмотре на коже лица, в области щек, лба, век и на подбородке наблюдали множественные очаги, представленные отечными сливающимися папулами ярко-розового цвета, склонными к слиянию, с несколько утрированной краевой зоной. Для уточнения диагноза было предложено прекратить наружную кортикостероидную терапию

в течение недели. При повторном осмотре очаги существенно видоизменились: на лбу и щеках появились крупные очаги с четкими границами и возвышающейся валикообразной краевой зоной. Заподозрено микотическое поражение кожи, рекомендовано обследование в НИИ медицинской микологии, где при проведении стандартных микологических тестов обнаружен мицелий гриба, при культуральном исследовании – рост *T. tonsurans* (Рис. 7).



Рис. 7. Поражение лица у девочки 6-ти лет (возбудитель – *T. tonsurans*).

В последние десятилетия широко внедряются в диагностику антропонозной трихофитии следующие новые технологии: метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) различных модификаций, метод секвенирования ДНК по локусу ITS, метод матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF); при поражении волосистой части головы – трихоскопия [15].

Точная молекулярная диагностика трихофитии, обусловленной *T. tonsurans*, затруднена высоким сходством *T. tonsurans* и *T. equinum* и, в меньшей степени, *T. mentagrophytes*, на генетическом уровне [16]. С одной стороны, доказано, что *T. tonsurans* и *T. equinum* являются независимыми видами. С другой стороны, некоторые штаммы могут обладать смешанным набором диагностических признаков. Поэтому наиболее точным методом подтверждения видовой принадлежности *T. tonsurans* является ПЦР по локусу типа спаривания [17]. Также, пригодным исследовательским методом определения видовой принадлежности остается секвенирование ДНК по региону ITS [18-20].

В целом видовая идентификация грибов рода *Trichophyton* имеет значение для эпидемиологии и теоретических исследований в области медицинской микологии, но не для назначения терапии. Поэтому большинство коммерческих и экспериментальных тест-систем, предназначенных для лабораторной диагностики трихофитии [21-25], не позволяют дифференцировать *T. tonsurans* от остальных представителей рода. В то же время видовая идентификация возбудителя чрезвычайно важна при выстраивании эпидемиологической цепочки и своевременного проведения профилактических мероприятий.

Мы предлагаем следующую классификацию клинических форм антропонозной трихофитии: 1) в зависимости от глубины поражения кожи можно выделить поверхностную трихофитию (гладкой кожи и волосистой части головы) и глубокую трихофитию (синонимичную с инфильтративно-нагноительной формой и коррелирующую в определенной мере с длительностью заболевания); 2) в зависимости от длительности течения кожного процесса – хроническую трихофитию гладкой кожи или волосистой части головы (продолжительность течения заболевания может составлять несколько лет); 3) в зависимости от характера проявления заболевания – манифестные формы (в частности, керион Цельса) либо стертые формы, чрезвычайно присущие антропонозной трихофитии. По отношению к последним можно использовать термин атипичные формы. Также целесообразно выделить редко встречающиеся клинические формы, например, поражение ногтевых пластинок, вызванное *T. tonsurans*.

Хотя «стертые» клинические формы более характерны для антропонозной трихофитии, варианты, протекающие с яркой клинической картиной, также могут встречаться. Поражение кожи волосистой части головы, известное под названием керион Цельса, вызывает значительные сложности при проведении дифференциальной диагностики. Нередко такие пациенты обращаются к хирургам, диагностируется «абсцесс» или «пиодермия» и, в зависимости от объема поражения, рекомендуются антибактериальные средства или хирургическое вмешательство с последующим приемом антибиотиков. В результате упускается время для начала эффективного лечения и, как правило, процесс становится более распространенным. Среди публикаций, посвященных инфекции, вызванной *T. tonsurans*, сообщения, связанные с керионом Цельса, немногочисленны [26, 27]. Клинически керион Цельса представляет собой возвышающийся над поверхностью кожи узел, болезненный при пальпации, при надавливании на который могут выделяться гнойное и геморрагическое содержимое. Как правило, сопровождается заднешейным лимфаденитом. Керион

Цельса характеризуется как реакция гиперчувствительности Т-клеточного иммунитета против грибов-дерматомицетов [26]. С точки зрения Goto Y. с соавторами, развитие кериона Цельса в ряде случаев обусловлено некорректным применением топических кортикостероидов [28]. В настоящее время накоплены данные о роли таких антимикробных пептидов как β-дефензин 2 (НВД-2), кателицидин LL-37 и S 100A7/псориазин, которые играют решающую роль в формировании эпидермального иммунитета, в особенности против дерматомицетов [28]. Нарушение содержания перечисленных выше антимикробных пептидов может повлечь за собой увеличение содержания такого цитокина, как IL-17A, которое, в свою очередь, приводит к деструкции волосяных фолликулов и возрастанию воспалительной реакции [28].

T. violaceum, начиная с 60-х годов XX века, стал значимым эпидемиологическим фактором для таких регионов, как Африка, Азия, Ближний Восток [4]. Ряд авторов [29] отнесли патоген *T. violaceum* к «микозам мигрантов», поскольку, будучи эндемичным для Африки и ряда частей Азии, в Европе он регистрируется редко. По данным Wiegand C. и соавторов, *T. violaceum* является основным патогеном, вызывающим микоз волосистой части головы в Уганде [30]. Имеются отдельные публикации, в которых отмечено увеличение выделения такого патогена, как *T. violaceum*. Так, в немецком исследовании [31] показано возрастание частоты выявления *T. violaceum* и *T. soudanense*: за период 1990-2002 гг. они были выделены в 3,2% случаев микотической инфекции, а 2002- 2014 гг. – в 7,2%. В работе Farina C. и др. (Италия) также установлено увеличение обнаружения данного патогена [32]. Некоторое возможное возрастание выделения *T. violaceum* в будущем можно связать с миграционным процессом и туризмом. *T. violaceum* наиболее часто поражает волосистую часть головы, реже – гладкую кожу и ногтевые пластинки [29].

Колонии *T. violaceum* медленно растущие, кожистые, имеют морщинистый вид, интенсивно вырастают в питательную среду; от бесцветных до абрикосово-красных или фиолетовых; обратная сторона бесцветная или фиолетовая. Фиолетовая окраска обусловила название данного патогена. При микроскопическом исследовании культуры: гифы ветвистые, часто распадаются на четкообразные клетки; могут образовывать хламидоспоры; макроконидии встречаются очень редко; микроконидии могут иметь яйцевидную форму (Рис. 8, 9).

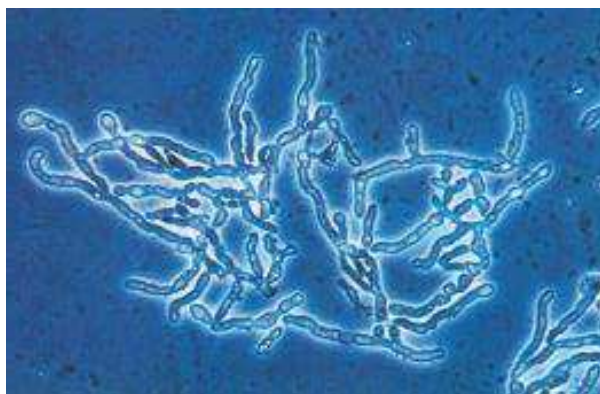


Рис. 8. Микроскопическое исследование культуры *T. violaceum*, ув. х540. (Frey D., et al. A color atlas of pathogenic fungi, 1985).



Рис. 9. Микроскопическое исследование патологического материала *T. violaceum*, ув.х400.

В США учеными, проживающими в различных штатах страны, были проведены работы, оценивающие частоту встречаемости такого патогена, как *T. violaceum* у лиц с различными дерматофитиями.

В публикации К. V. Grigoryan с соавторами проанализирована частота выделения *T. violaceum* среди пациентов клиники Мейо (Рочестер, Миннесота, США) за период с 1997 по 2014 гг. Обследован 81 больной (в возрасте менее 18 лет), у 70 из которых был выделен *T. violaceum* (86,4%). При анализе этнической принадлежности пациентов было установлено, что большая часть из них относилась к выходцам из Африканского континента, в подавляющем большинстве случаев – из Сомали (52 человека) [33].

При изучении дополнительных литературных данных выявлена тенденция к постепенному возрастанию удельного веса данного патогена в этиологической структуре микозов кожи и ее придатков. Так, за период с 1982 по 1984 гг., по данным Sinski J.T. с соавторами [34], *T. violaceum* был выявлен в 0,06% всех случаев микозов (исследование проводилось в 49 городах). В обзоре из Балтимора (Мериленд) и Колумбуса (Огайо) с 2000 по 2006 гг. *T. violaceum* в совокупности с *T. soudanense* выделялись в 1,07% случаев, а с 2001 по 2006 гг. – уже в 5,8% [35, 36].

Поражение кожи и ее придатков грибом *T. violaceum* может носить чрезвычайно длительный характер, а жалобы быть нетипичными, что затруд-

няет правильную постановку диагноза. Приводим наше наблюдение.

Случай 4. Пациентка Е., 78 лет (1923 г.р.), обратилась в клинику НИИ медицинской микологии в декабре 2002 г. с жалобами на усиленное выпадение волос, шелушение волосистой части головы. В КВД по месту жительства при трехкратном анализе в двух первых исследованиях грибы не были обнаружены, в третьем – выявлен мицелий гриба, в связи с чем женщина направлена на консультацию в НИИ ММ. При осмотре: волосы на волосистой части головы значительно разрежены, имеется выраженное шелушение, отдельные «черные точки» на месте обломанных волос. Под лампой Вуда свечение отсутствует. На коже верхней части спины, на плечах, голених имеются умеренно гиперемированные шелушащиеся пятна. Все ногтевые пластинки на кистях и стопах с умеренным подногтевым гиперкератозом, серо-грязного цвета. На кистях ногтевые пластинки с признаками атрофии, подчищены. Со слов пациентки, изменения ногтевых пластинок отмечала в течение нескольких десятилетий. Сопутствующие заболевания: Ишемическая болезнь сердца, Атеросклероз аорты, коронарных артерий. Атеросклеротический кардиосклероз. Гипертоническая болезнь 2 ст. Хронический калькулезный холецистит. Варикозная болезнь вен нижних конечностей.

При проведении микологических тестов (исследовали кожные чешуйки с очагов гладкой кожи, ногтевые чешуйки и волосы) обнаружен септированный мицелий, скопление артроспор; при посеве материала из всех перечисленных локализаций получен рост *T. violaceum*

Установлен диагноз: распространенная хроническая трихофития с поражением волосистой части головы, гладкой кожи и ногтевых пластинок, вызванная *T. violaceum*.

Дифференциальный диагноз антропонозной трихофитии проводится с пиодермией гладкой кожи и волосистой части головы (в случае кериона Цельса – с абсцессом волосистой части головы); себорейным дерматитом; очаговой алопецией; псориазом; вульгарным сикозом; микотическими поражениями кожи и волосистой части головы, вызванными другими патогенами (*Microsporum* spp., *T. rubrum*); в случае изолированного поражения гладкой кожи – с розовым лишаем Жибера [37]. Краеугольным камнем в постановке диагноза является проведение классических микологических тестов в совокупности с оценкой клинической картины.

Вопросы лечения антропонозной трихофитии не относятся к задачам данной публикации. Стандартом приема является использование системных и топических антифунгальных препаратов, чаще – их сочетание. Вовлечение в патологический процесс придатков кожи (волосы, ногти) – абсо-

люютное показание для назначения системной терапии. В качестве основного препарата общего действия назначается гризеофульвин. Начиная с 2-х летнего возраста, может быть использован тербинафин. Обращаем внимание, что не во всех европейских странах тербинафин применяется в детской практике для лечения трихофитии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение последних десятилетий отмечается неуклонная тенденция к возрастанию доли антропонозных возбудителей в развитии таких микотических заболеваний, как поражение волосистой части головы и гладкой кожи в целом ряде европейских

стран и США. Распространенность данных патогенов (*T. violaceum*, *T. tonsurans*) в ряде стран Африки и Ближнего Востока сохраняется на достаточно высоком уровне. Миграционные процессы из стран вышеупомянутых регионов благоприятствуют увеличению доли антропонозных возбудителей в этиологической структуре микозов в странах Европы.

Недостаточная осведомленность врачей о распространении антропонозной трихофитии и отсутствие в связи с этим адекватных диагностических подходов способствуют поздней диагностике и сложностям в лечении. Наиболее часто допускаемой ошибкой является широкое применение топических кортикостероидов до верификации диагноза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gupta A.K., Mays R.R., Versteeg S.G., et al. Tinea capitis in children: a systematic review of management. J Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2018; 32 (12): 2264-2274. doi: 10.1111/jdv.15088
2. Kelly B.P. Superficial fungal infections. Pediatr. Rev. 2012; 33 (4): e22-37. doi: 10.1542/pir.33-4-e22
3. Ресурсы и деятельность медицинских организаций дерматовенерологического профиля. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными болезнями и болезнями кожи. МЗ РФ. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный НИИ организации и информатизации здравоохранения» МЗ РФ ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» МЗ РФ (Статистические материалы). М., 2019. [Resources and activities of medical organizations of dermatovenereological profile. Incidence of sexually transmitted infections, infectious skin diseases and skin diseases. The Ministry of health of the Russian Federation, the Department of monitoring, analysis and strategic development of health FGBI "Central Scientific-research Institute of Organization and Informatization of Health" Ministry of health of the Russian Federation FGBU "State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology" the Ministry of health of the Russian Federation (Statistical content). Moscow, 2019 (In Russ)].
4. Zhan P., Liu W. The Changing face of dermatophytic infections worldwide. Mycopathologia. 2017; 182 (1-2): 77-86. doi.org/10.1007/s11046-016-0082-8
5. Гаджимурадов М.Н. Случаи фавуса на юге России. Успехи мед. микологии. 2015; 14: 17-20. [Gadzhimuradov M.N. Favus cases in southern Russia. Advances in medical mycology/ 2015; 14: 17-20 (In Russ)].
6. Хамаганова И.В., Новожилова О.Л., Беличков А.Н. Эпидемиология трихофитии в Москве. Клин. дерматология и венерология. 2017: 4-9. [Khamaganova I.V., Novozhilova O.L., Belichkov A.N. Epidemiology of trichophytosis in Moscow. Clinic Dermatology and Venereology. 2017: 4-9 (In Russ)].
7. Антонова С.Б. Современные клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости дерматомикозами у детей. Оптимизация диагностических, медико-профилактических технологий: Дисс... на соиск. уч.ст. к.м.н. Екатеринбург, 2019. 118 с. [Antonova S.B. Modern clinical and epidemiological features of the incidence of dermatomycosis in children. Optimization of diagnostic, medical and preventive technologies. Diss. for a job. uch.st. Ph.D. Yekaterinburg, 2019. 118 p. (In Russ)].
8. Позднякова О.Н., Чебыкин Д.В., Бычков С.Г. Современные особенности эпидемиологии зооантропофильных дерматомикозов, микозов стоп и кистей, онихомикозов в г. Новосибирске. J. of Siberian Medical Sciences 2. 2019: 71-78. [Pozdnyakova O.N., Chebykin D.V., Bychkov S.G. Modern epidemiological features of zooanthropophilic dermatomycoses, mycoses of the feet and the hands, onychomycoses in Novosibirsk. J. of Siberian Medical Sciences 2. 2019: 71-78 (In Russ)].
9. Gray R.M., Champagne C., Waghorn D., et al. Management of a *Trichophyton tonsurans* outbreak in a day-care center. Pediatr Dermatol. 2015; 32 (1): 91-6. doi: 10.1111/pde.12421
10. Hiruma J., Ogawa Y., Hiruma M. *Trichophyton tonsurans* infection in Japan: epidemiology, clinical features, diagnosis and infection control. J. Dermatol. 2015; 42 (3): 245-9. doi: 10.1111/1346-8138.12678
11. White J.M., Higgins E.M., Fuller L.C. Screening for asymptomatic carriage of *Trichophyton tonsurans* in household contacts of patients with tinea capitis: results of 209 patients from South London. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2007; 21 (8): 1061-4. doi: 10.1111/j.1468-3083.2007.02173
12. Sato T., Kitahara H., Honda H., et al. Onychomycosis of the Middle Finger of a Japanese Judo Athlete due to *Trichophyton tonsurans*. Med. Mycol J. 2019; 60 (1): 1-4. doi: 10.3314/mmj.18-00012
13. Trovato L., Oliveri S., Domina M., et al. Molecular diagnosis of kerion celsi caused by *Trichophyton tonsurans* in a Italian child. Med. Mycol. Case Rep. 2019; 24: 72-74. doi: 10.1016/j.mmcr.2019.04.010

14. *Vingataramin Y., Akhoundi M., Bruel C., et al.* Epidemiological and molecular characterization of a *Trichophyton tonsurans* epidemic in schools of a city in the northern suburbs of Paris, France. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25 (4): 529-530. doi: 10.1016/j.cmi.2018.11.026
15. *Petrucelli M.F., Abreu M.H., Cantelli B.A.M., et al.* Epidemiology and diagnostic perspectives of dermatophytoses. *J. Fungi (Basel)*. 2020; 6 (4): 310. doi: 10.3390/jof6040310
16. *Pchelin I.M., Azarov D.V., Churina M.A., et al.* Species boundaries in the *Trichophyton mentagrophytes* / *T. interdigitale* species complex. *Med. Mycol.* 2019; 57 (6): 781-789. doi: 10.1093/mmy/myy115
17. *Kandemir H., Dukik K., Hagen F., et al.* Polyphasic discrimination of *Trichophyton tonsurans* and *T. equinum* from humans and horses. *Mycopathologia*. 2020; 185 (1): 113-122. doi: 10.1007/s11046-019-00344-9
18. *de Hoog G.S., Dukik K., Monod M., et al.* Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182 (1-2): 5-31. doi: 10.1007/s11046-016-0073-9
19. *Summerbell R.C., Moore M.K., Starink-Willemse M., Van Iperen A.* ITS barcodes for *Trichophyton tonsurans* and *T. equinum*. *Med. Mycol.* 2007; 45 (3): 193-200. doi: 10.1080/13693780601087614
20. *Shamsizadeh F., Pchelin I.M., Makimura K., et al.* DNA topoisomerase 2 gene polymorphism in dermatophytes. *Mycoses*. 2020; 63 (7): 694-703. doi: 10.1111/myc.13086
21. *Сергеев В.Ю.* Молекулярная диагностика онихомикозов: опыт внедрения отечественной ПЦР-системы обнаружения возбудителей дерматофитии ногтей. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2007 (3): 17-24. [Sergeev V.Y. Molecular diagnosis of onychomycosis: clinical experience with Russian PCR system for direct detection of tinea unguium agents. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2007; 3: 17-24 (In Russ)].
22. *Gräser Y., Czaika V., Ohst T.* Diagnostic PCR of dermatophytes-an overview. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2012; 10 (10): 721-6. doi: 10.1111/j.1610-0387.2012.07964.x
23. *Jensen R.H., Arendrup M.C.* Molecular diagnosis of dermatophyte infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2012; 25 (2): 126-34. doi: 10.1097/QCO.0b013e32834f5f6e
24. *Kupsch C., Ohst T., Pankewitz F., et al.* The agony of choice in dermatophyte diagnostics-performance of different molecular tests and culture in the detection of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016; 22 (8): 735.e11-7. doi: 10.1016/j.cmi.2016.05.015
25. *Hayette M.P., Seidel L., Adjetey C., et al.* Clinical evaluation of the DermaGenius® Nail real-time PCR assay for the detection of dermatophytes and *Candida albicans* in nails. *Med. Mycol.* 2019; 57 (3): 277-283. doi: 10.1093/mmy/myy020
26. *Lapergola G., Breda L., Chiesa P.L., et al.* Kerion celsi caused by *Trichophyton tonsurans* in a child. *Lancet. Infect. Dis.* 2018; 18 (7): 812. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30105-1
27. *Lee W.J., Sim H.B., Jang Y.H., et al.* Skin infection due to *Trichophyton tonsurans* still occurs in people in Korea but not as outbreaks. *J. Korean Med. Sci.* 2016; 31 (2): 296-300. doi: 10.3346/jkms.2016.31.2.296
28. *Goto Y., Suzuki T., Suzuki Y., et al.* *Trichophyton tonsurans*-induced kerion celsi with decreased defensin expression and paradoxically increased interleukin-17A production. *J. Dermatol.* 2019; 46 (9): 794-797. doi: 10.1111/1346-8138.15008
29. *Havlickova B., Czaika V.A., Friedrich M.* Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008; 51 (4): 2-15. Erratum in: *Mycoses*. 2009; 52 (1): 95. doi: 10.1111/j.1439-0507.2008.01606.x
30. *Wiegand C., Bauer A., Brasch J., et al.* Are the classic diagnostic methods in mycology still state of the art? *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2016; 14 (5): 490-4. doi: 10.1111/ddg.12980
31. *Zeigler W., Lempert S., Goebeler M., et al.* Tinea capitis : temporal shift in pathogens and epidemiology. *J. Dtsch. Ges.* 2013; 14: 816-825. doi.org/10.1111/ddg.12885
32. *Farina C., Fazii P., Imberti G., et al.* *Trichophyton violaceum* and *T. soudanense*: re-emerging pathogens in Italy, 2005-2013. *New Microbiol.* 2015; 38 (3): 409-15. PMID: 26147152
33. *Grigoryan K.V., Tollefson M.M., Olson M.A., Newman C.C.* Pediatric tinea capitis caused by *Trichophyton violaceum* and *Trichophyton soudanense* in Rochester, Minnesota, United States. *Int. J. Dermatol.* 2019; 58 (8): 912-915. doi: 10.1111/ijd.14352
34. *Sinski J.T., Kelley L.M.* A survey of dermatophytes isolated from human patients in the United States from 1982 to 1984. *Mycopathologia*. 1987; 98 (1): 35-40. doi: 10.1007/BF00431015
35. *Magill S.S., Manfredi L., Swiderski A., et al.* Isolation of *Trichophyton violaceum* and *Trichophyton soudanense* in Baltimore, Maryland. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (2): 461-5. doi: 10.1128/JCM.02033-06
36. *Coloe J.R., Diab M., Moennich J., et al.* Tinea capitis among children in the Columbus area, Ohio, USA. *Mycoses*. 2010; 53 (2): 158-62. doi: 10.1111/j.1439-0507.2008.01665.x
37. *Клинические рекомендации МЗ Российской Федерации. Трихофития*. 2016. [Clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation. *Trichophytosis*. 2016 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 20.09.2021

Рецензент: И.П. Милявская

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОГО КАНДИДОЗА У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

¹Данилова Е.Ю. (ассистент врача), ²Шабашова Н.В. (профессор кафедры)*, ³Фролова Е.В. (зав. лаб.), ³Учеваткина А.Е. (с.н.с.), ³Филиппова Л.В. (с.н.с.)

¹«Новая медицина» (частная практика), Нью-Йорк, США; Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии; ³НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

Проведена серия наблюдений, исследований состояния и особенностей местного иммунитета у больных гемобластозами, в частности, осложненными орофарингеальным кандидозом. В результате проспективного, динамического, обсервационного исследования за 525 больными гемобластозами в течение 5 лет установлены частота осложнения, значение обсемененности грибами рода *Candida* в зависимости от вида основного заболевания, химиотерапии и применения антибиотикотерапии. У 137 из них, в том числе у 51 пациента с установленным диагнозом орофарингеального кандидоза (ОФК), изучены цитокины воспалительного ответа в ротовой жидкости. Выявлено, что высокая контаминация *Candida* spp. (более 500 КОЕ/мл) ротовой полости больных гемобластозами совпадала с увеличением локального синтеза IL-6, IL-8, MCP-1, β -дефензина 2 (DEFb2), секреторного лейкоцитарного протеазного ингибитора (SLPI) и снижением IL-17. Это изменение уровней цитокинов, обнаруженное в ротовой жидкости больных гемобластозами, свидетельствует о возможности избыточного компенсаторного привлечения и активации клеток раннего и инициативного воспаления, в частности нейтрофилов и эпителиальных клеток. При разных видах гемобластозов был снижен местный синтез IFN- γ , основного организатора качественной защиты против грибов, что является показателем неадекватности этой защиты. У пациентов с развитием орофарингеального кандидоза снижение уровня IL-17 соответствовало меньшей способности клеток слизистой оболочки к синтезу MCP-1, хемоаттрактанта, прежде всего, для макрофагальных клеток, что еще более способствовало привлечению нейтрофилов и повреждающему действию их ферментов на ткани ротовой полости у части больных, а также приводило к усилению патогенных свойств грибов и развитию кандидоза.

Ключевые слова: орофарингеальный кандидоз, местный иммунитет, грибы рода *Candida*, гемобластозы

IMMUNOPATHOGENESIS OF OROPHARYNGEAL CANDIDIASIS IN PATIENTS WITH HEMOBLASTOSIS

¹Danilova J.Y. (physician assistant), ²Shabashova N.V. (professor of the department), ³Frolova E.V. (head of the laboratory), ³Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), ³Filippova L.V. (senior scientific researcher)

¹Novel medicine PC (private practice), New York, USA; North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²Department of Clinical Mycology, Allergy and Immunology; ³Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia

A series of observations, studies of the state and features of local immunity in patients with hemoblastoses, in particular, complicated by oropharyngeal candidiasis, was carried out. As a result of a prospective, dynamic, observational study of 525 patients with hemoblastosis for 5 years, the frequency of complications, the significance of contamination with Candida spp. according to the type of the main disease, chemotherapy and the use of antibiotic therapy were established. Inflammatory response cytokines were studied in 137 of them, including 51 patients with an established diagnosis of oropharyngeal candidiasis in the oral fluid. It was found that high contamination of Candida spp. (more than 500 MG/ml) in the oral cavity of patients with hemoblastosis coincided with increased local synthesis of IL-6, IL-8, MCP-1, β -defensin 2 (DEFb2), secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and a decrease in IL-17. This change in cytokine levels found in the oral fluid of patients with hemoblastosis indicates the possibility of excessive compensatory attraction and activation of cells of early and initiative inflammation, in particular, neutrophils and epithelial cells. In different types of hemoblastosis, the local synthesis of IFN- γ , the main organizer of high-quality protection against fungi, was reduced, which indicates the inadequacy of this protection. In patients with the development of oropharyngeal candidiasis, a decrease in the level of IL-17 corresponded to a lower ability of mucosal cells to synthesize MCP-1, a chemoattractant, primarily for macrophage cells, which further contributed to the attraction of neutrophils and the damaging effect of their enzymes on oral tissue in some patients, led to an increase in the pathogenic properties of fungi and the development of candidiasis.

Key words: oropharyngeal candidiasis, local immunity, *Candida* spp., hemoblastoses

ВВЕДЕНИЕ

Первым и ведущим физиологическим барьером на пути внешних воздействий является эпителиальный слой слизистой оболочки ротовой полости. Он обладает не только важными физико-химическими защитными факторами, но и способностью распознавать антигены, а также мощным эффекторным потенциалом в иммунных реакциях [1-6]. В местах постоянного поступления и присутствия разных микроорганизмов, в том числе грибов, в защитных реакциях участвуют растворимые факторы и клетки врожден-

* Контактное лицо: Шабашова Надежда Венедиктовна, e-mail: shabashova@bk.ru

ного иммунитета, чутко реагируя на экзогенные и эндогенные воздействия и вовлекая в ответ участников адаптивного иммунитета. По данным научной литературы [7-12], возрастает число осложнений, вызванных микромицетами рода *Candida*, у больных с факторами риска, в частности, страдающих гематологическими заболеваниями, несмотря на значительные успехи современной этиотропной терапии и расширение других профилактических мер. Чувствительность к патогенному действию этих грибов заметно варьирует. Это относится как к практически здоровым, так и иммунокомпрометированным людям: ВИЧ-инфицированным, реципиентам трансплантатов, пациентам, получающим иммуносупрессоры. В частности, у больных гемобластомами применение новых высокоэффективных медицинских технологий, высокодозной цитостатической химиотерапии, сопровождение этого лечения антибактериальными препаратами дополнительно ухудшают местный и системный иммунитет, дефекты которого характерны для этих пациентов, что повышает вероятность развития орофарингеального кандидоза (ОФК) [3, 5-7, 11-16]. ОФК, в свою очередь, ухудшает самочувствие, осложняет питание больного и сопровождается необходимостью изменения схем лечения основного заболевания [4, 7-9, 14]. По данным зарубежных авторов, общая распространенность кандидоза полости рта составляет 9,6% среди гематологических и онкологических пациентов, получавших химио- и/или лучевую терапию. Показано, что наиболее часто это осложнение развивалось на фоне комбинированной химиолучевой терапии (22,0%) или при использовании более чем двух цитотоксических агентов (16,9%) [2]. Таким образом, болеют ОФК далеко не все пациенты с гемобластомами и другими онкозаболеваниями. Одной из возможных причин разной восприимчивости к грибам рода *Candida*, даже у этих больных, могут быть индивидуальные различия автономной локальной защиты, зависящие от генетических факторов. В современной литературе практически отсутствуют сведения об изменениях локального гомеостаза у пациентов с гемобластомами, организации иммунологической защиты против грибов и молекулярных механизмах, лежащих в основе превращения этих комменсалов в патогены. Понимание функционирования локального иммунного ответа к грибам может стать источником для выработки новых подходов к терапии и профилактике грибковых осложнений, а также важным условием успешного лечения онкогематологических пациентов.

Цель исследования: определить состояние и особенности местного иммунитета у больных гемобластомами при развитии орофарингеального кандидоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач нами был проведен катamnестический анализ 690 больных гемобластомами, наблюдавшихся на отделении гематологии №2 Ленинградской областной клинической больницы с 2002 по 2011 годы. Среди них 62 (9%) пациентам был поставлен диагноз ОФК. В последующие 6 лет (с 2011 по 2016 гг.) был проведен собственный проспективный анализ, включающий наблюдение за 525 онкогематологическими больными 1-го и 2-го отделений гематологии этой же больницы для выявления клинических признаков ОФК. Среди части пациентов, у которых были взяты образцы ротовой жидкости (РЖ), выделены 2 группы. Первая группа включала 51 человека с выявленным ОФК (9% от всех больных); возраст – от 21 до 78 лет, медиана возраста – 54 (34÷62), мужчин – 25 (49%), женщин – 26 (51%). Вторую группу составили 86 пациентов в возрасте от 21 до 82 лет, медиана возраста – 60 (50÷66), мужчин – 41 (47%), женщин – 45 (52%), у которых осложнение в виде ОФК не обнаружено. Группа сравнения была представлена 33 здоровыми людьми с санированной ротовой полостью; возраст – от 24 до 31 года, медиана возраста – 28 (26÷29), мужчин – 10 (30%), женщин – 23 (69%).

Диагноз ОФК устанавливали на основании комплексной оценки факторов риска, клинических признаков в сочетании с выявлением *Candida spp.* при микроскопии (псевдомицелий или почкующиеся клетки) и/или посевах материала из пораженных участков слизистых оболочек (мазков со слизистых оболочек ротовой полости и языка, ротовой жидкости) согласно Российским национальным рекомендациям (2015 г.) [7]. Препараты мазков биосубстратов окрашивали по Граму, просматривали окрашенный препарат в микроскопе при увеличении 100х и 400х, отмечая наличие почкующихся дрожжевых клеток, псевдомицелия *Candida spp.* Стандартное количество нативной ротовой жидкости высевали на чашки Петри со специальной средой (агаризованная среда Сабуро, содержащая гентамицина сульфат, 40 мг/мл), затем инкубировали в течение 48 часов при +37 °С. Ежедневно просматривая, отмечали наличие роста грибов в посевах. Через 24 часа подсчитывали количество колониеобразующих единиц (КОЕ). В ротовой жидкости выделяли и определяли культуру грибов *Candida spp.* с видовой идентификацией, которую осуществляли по морфологическим и физиологическим свойствам в соответствии с определителями грибов [7]. Кандидацидное действие РЖ выявляли на проточном лазерном цитометре при двойном окрашивании грибов флюорохромом ФИТЦ. Видовая идентификация выполнена в НИЛ «Микологического мониторинга и биологии грибов» (н.с. Выборнова И.В.). В случаях, когда идентификация вида *Candida* классическим способом была затруднена, применяли метод MALDI-TOF (матрично-активированная лазер-

ная десорбционно/ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия), основанный на определении масс-спектра грибов с помощью прибора «Autoflex Speed» (Bruker, Германия). Анализ полученных масс-спектров выполняли путем сравнения с масс-спектрами базы данных MALDI Biotyper. Кроме того, оценивали микробную нагрузку: высокой микробной нагрузкой считали содержание КОЕ свыше 500/1мл.

Иммунологическое исследование ротовой жидкости проводили на начальном этапе при установлении диагноза гематологического заболевания, динамику показателей оценивали через 3-4 месяца после прохождения курсов полихимиотерапии. Для этого ротовую жидкость собирали в утренние часы натощак (до чистки зубов) с помощью специальных стандартных систем для забора «Salivette sarstedt» (Германия); пребывание тампона в ротовой полости составляло 3 минуты. В собранных биосубстратах методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли уровни цитокинов IFN- γ , IL-17, IL-8, IL-6, TNF- α , IL-10, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), β -дефензина 2 (DEFb2), секреторного лейкоцитарного протеазного ингибитора (SLPI) («Цитокин», Россия; «Вектор-Бест», Россия; «Cloud-Clone Corp.», США; «R&D», США). Кандидацидное действие РЖ выявляли на проточном лазерном цитометре при двойном окрашивании грибов флюорохромом ФИТЦ. Результаты обрабатывали статистически (STATISTICA for Windows, версия 10.0). Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе частоты ОФК наблюдали отсутствие достоверных различий в группах больных разными гематологическими заболеваниями. Однако ОФК развивался преимущественно у пациентов с опухолями лимфоидной ткани: при лимфомах (25-49%), реже – при остром миелоидном лейкозе (11-21%), плазмоклеточной миеломе (11-21%). Другие виды гемобластозов редко осложнялись ОФК (4-8%), но и в группе сравнения (без ОФК) также преобладали больные лимфомами (49-56%).

В 88% случаев ОФК развивался после применения цитостатической полихимиотерапии (ПХТ), лишь 6 пациентов поступили в стационар с признаками грибковой инфекции до начала лечения. Больные гемобластозами, осложненными ОФК, получали цитостатическую ПХТ по различным протоколам (Нурег-СVAD+R, R-СНОР, ВЕАСОРР, НАД, 7+3, VDC и пр.). Ранее развитие ОФК отмечали на фоне 1 курса ПХТ в 29% случаев, после 2-го и более курсов ПХТ – в 59% случаев [19, 20], что совпадает с данными литературы.

Кроме ПХТ, оценивали такие факторы риска, как сахарный диабет, возраст старше 65 лет, применение антибактериальной, глюкокортикоидной терапии, а также наличие более 3-х факторов риска одновре-

менно. Установлено, что в обеих группах с одинаковой частотой применяли иммуносупрессоры (в группе с ОФК (45 чел. – 88%), в группе без ОФК (76 – 88%)), глюкокортикоиды (в группе с ОФК (38 – 74%), в группе без ОФК (65 – 75%)). Однако при использовании антибактериальной терапии вероятность развития ОФК достоверно повышалась (в группе с ОФК (34 – 66%), в группе без ОФК (32 – 37%)) [OR=3,37 [1,63-6,99], 95% ДИ].

В 88% случаев ОФК у гематологических больных клинически протекал в острой псевдомембранозной форме, вне зависимости от вида ПХТ: у 100% пациентов отмечены сплошные или изолированные участки белых налетов диаметром 1-3 мм, локализованные в основном на языке и на слизистой оболочке щек, мягкие, но плотно спаянные с подлежащей тканью. Пораженные места при контакте были безболезненными. У больных острым миелоидным лейкозом и острым лимфоидным лейкозом, по сравнению с пациентами, имеющими другие формы гематологических заболеваний, чаще наблюдали среднетяжелое и упорное течение псевдомембранозной формы ОФК. У гематологических больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД проявления кандидоза были и ранее, однако после начала ПХТ приобрели хроническое течение (6% от всех случаев ОФК) и обнаруживались в виде минимальных налетов в перерывах между курсами ПХТ. У одного пациента с лимфогранулематозом налеты имели тотальный характер и тяжелое течение с вовлечением твердого неба, миндалин и десен. У 30% больных клинические проявления ОФК сопровождались субъективными ощущениями жжения и дискомфорта в ротовой полости, затруднением глотания и принятия пищи, у 70% – ОФК не сопровождался субъективными ощущениями.

При прямой микроскопии соскобов с языка, отделяемого слизистой оболочки щек, миндалин, десен языка наличие нитей псевдомицелия и почкующихся дрожжевых клеток отмечали у 100% пациентов с ОФК. При посеве биосубстратов *Candida* spp. были выделены в 100% случаев у больных с ОФК (1 группа) и в 76% – у лиц без этого осложнения (2 группа). При подсчете количества колониеобразующих единиц (КОЕ) установлено, что высокая микробная нагрузка (КОЕ свыше 500/1мл) достигала 69% и 46%, соответственно, в 1 и 2 группах. Следовательно, у всех больных гемобластозами, независимо от вида заболевания, развития или отсутствия ОФК, выявлен избыточный рост грибов рода *Candida* по сравнению со здоровыми ($p < 0,05$): в группе соматически здоровых людей микробная нагрузка не превышала КОЕ 100/1мл [17].

При использовании разных методов идентификации возбудителя (классический культуральный метод и молекулярные методы диагностики: MALDI-TOF и ДНК-секвенирование) получены сходные ре-

зультаты. Наиболее частым возбудителем в обеих группах были *C. albicans* (90% и 64%), в единичных случаях выделяли редкие виды: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* (10% и 12% соответственно). У всех больных гемобластозами кандидацидная активность РЖ мало отличалась от здоровых людей [17].

Установлено, что в РЖ у гематологических пациентов с осложнением и без него по сравнению со здоровыми были увеличены уровни цитокинов IL-6 (107 (0÷640) и (0÷97) vs 3,6 (0÷11) pg/ml), IL-8 (199 (24÷456) и 140 (6÷436) vs 123 (24÷454) pg/ml), MCP-1 (105 (29÷583) и 144 (0÷389) vs 43 (23÷76) pg/ml) ($p < 0,05$). Однако при развитии ОФК у гематологических больных, кроме увеличения уровней IL-6 (107 (0÷640) vs 11 (0÷97) pg/ml), IL-8 (199 (24÷456) vs 140 (6÷436) pg/ml), достоверно возрастали уровни DEFb2 (102 (18÷196) vs 47 (23÷65) pg/ml) и SLPI (3252 (601÷7986) vs 2554 (399÷7560) ng/ml), ($p < 0,05$). (Рис. 1, 2)

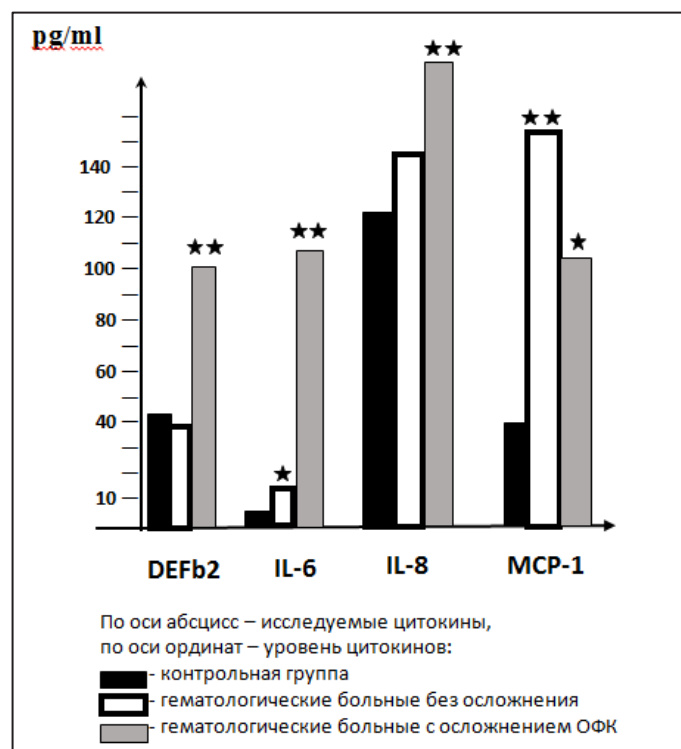


Рис. 1. Уровни цитокинов воспаления в ротовой жидкости. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом (25%÷75%); * – достоверность различий показателей с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – достоверность различий показателей между группами ($p < 0,05$).

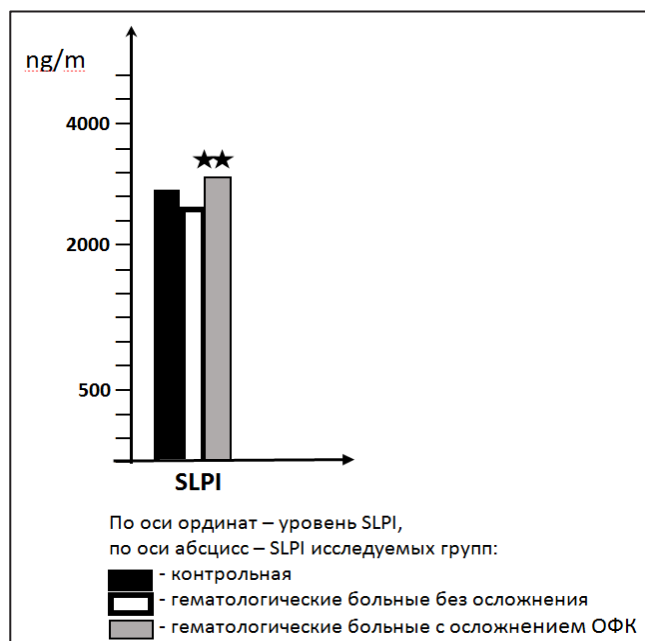


Рис. 2. Уровень SLPI ротовой жидкости. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом (25%÷75%); * – достоверность различий показателей с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – достоверность различий показателей между группами ($p < 0,05$).

Таким образом, установлено, что при развитии ОФК существенно возрастает продукция всех цитокинов, свидетельствующих о развитии выраженного местного воспаления, на которое мало влияла ПХТ, а увеличенный уровень DEFb2 ($p < 0,05$) указывает на активацию эпителиальных клеток – участников немедленного ответа [2, 4, 6, 18-20]. Однако продукция хемоаттрактанта MCP-1, привлекающего клетки моноцитарно-макрофагального ряда в очаг воспаления, достоверно увеличиваясь у всех больных гемобластозами по сравнению со здоровыми, наибольших значений достигала только у пациентов без осложнения: 144 (0÷389) и 105 (29÷583) vs 43 (23÷76) pg/ml, ($p < 0,05$). По-видимому, привлечение этих клеток за счет активной выработки хемоаттрактанта MCP-1 обеспечивало защиту от пролиферации грибов и усиления их патогенных свойств. Увеличенный уровень DEFb2 ($p < 0,05$) указывает на активацию эпителиальных клеток – участников немедленного ответа. Отметим, что уровни DEFb2 и SLPI в РЖ пациентов без осложнения практически не отличались от показателей здоровых, что свидетельствует об инертности синтеза этих цитокинов в условиях повышенной обсемененности слизистой оболочки грибами у больных.

Не обнаружено существенных колебаний цитокинов IFN- γ , TNF- α , IL-10 в ротовой жидкости в исследуемых группах, однако уровни IFN- γ (32 (0÷91) и 39 (0÷99) vs 42 (2÷94) pg/ml) и IL-10 (21 (12÷40) и 26 (0÷92) vs 28 (6÷69) pg/ml) были ниже, чем у здоровых людей (Рис. 3).

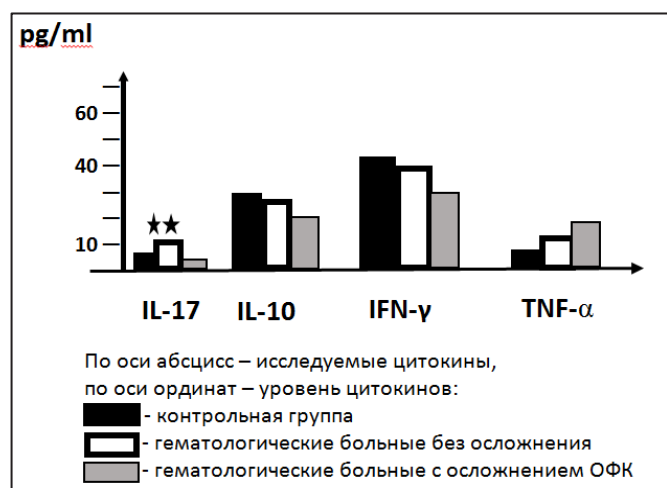


Рис. 3. Уровни регуляторных цитокинов в ротовой жидкости. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом (25%÷75%); * – достоверность различий показателей с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – достоверность различий показателей между группами ($p < 0,05$).

Установлено, что у гематологических больных при развитии ОФК уровни цитокина IL-17 оказались ниже, чем у лиц без осложнения и у здоровых людей (2,6 (1÷6) и 4,4 (0÷12) vs 3,4 (1÷7) pg/ml, ($p < 0,05$)). Таким образом, сниженный уровень MCP-1 (по сравнению с неосложненным течением основного заболевания) совпадал со снижением синтеза IL-17 – одного из важнейших цитокинов для противогрибковой защиты [4-6, 19].

корреляционный анализ выявил взаимосвязь между исследуемыми цитокинами, хотя ее степень была разной (Рис. 4-6) и зависела от наличия или отсутствия осложнения основного заболевания ОФК.

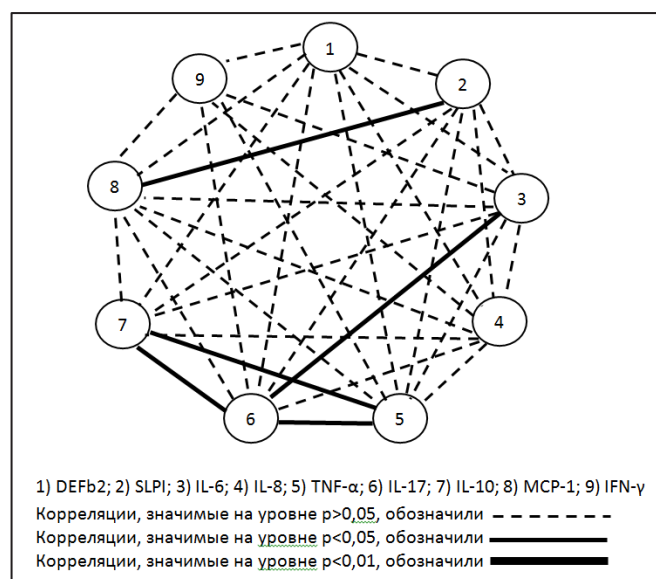


Рис. 4. Корреляции между цитокинами контрольной группы.

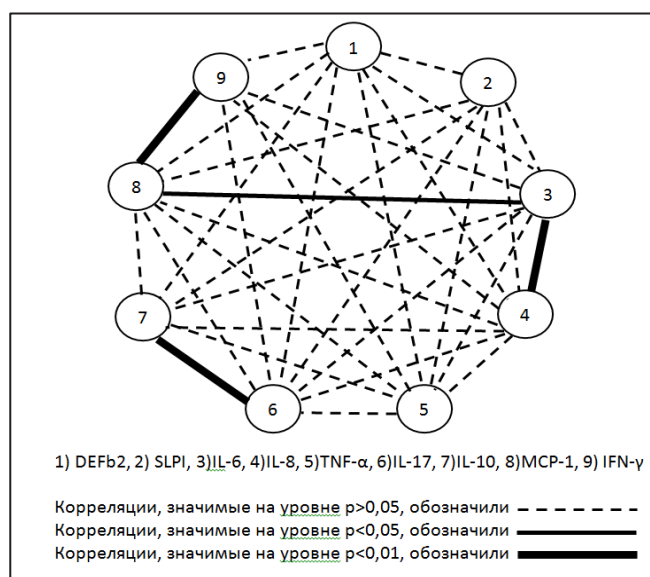


Рис. 5. Корреляции между цитокинами гематологических больных без осложнения.

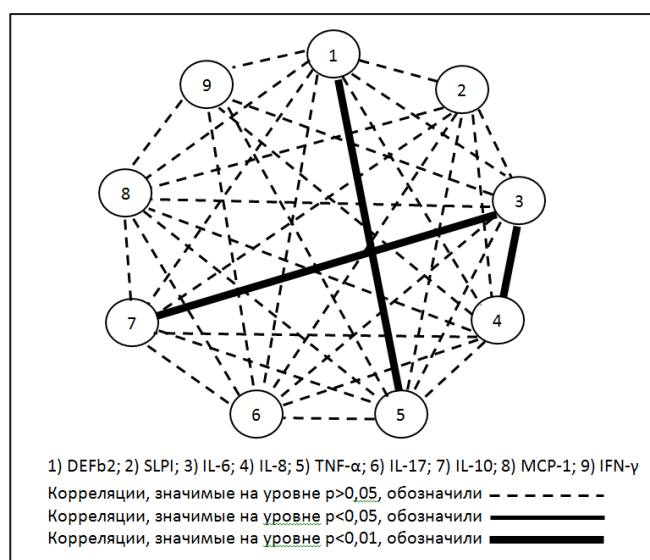


Рис. 6. Корреляции между цитокинами гематологических больных с осложнением.

Приведенные схемы демонстрируют пропорциональность и адекватность продукции в ротовую жидкость различных про- и противовоспалительных цитокинов людей с санированной ротовой полостью. У всех гематологических больных наиболее тесно взаимосвязана экспрессия провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 (Рис. 5, 6). У пациентов без осложнения можно выделить положительную взаимосвязь между IL-6 и MCP-1, MCP-1 и IFN- γ , IL-17 и IL-10 (Рис.5). Это может быть показателем адекватной иммунологической реакции без яркого воспаления и повреждения тканей ротовой полости, что препятствует активации патогенности грибов и появлению псевдомембранозного ОФК. У лиц с осложнением отмечается положительная корреляция между DEFb2 и TNF- α , IL-6 и IL-10. (Рис. 6). Это факторы раннего инициативного воспаления, которое не в состоянии препятствовать адекватно пролиферации грибов в условиях недостаточной активности поступления

других участников воспаления, способных фагоцитировать и разрушать грибы в дрожжевой форме. Об этом могут свидетельствовать сниженные, по сравнению с больными без ОФК, уровни MCP-1 и IL-17.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы, число осложнений, вызванных микросциетами, такими как *Candida* spp., возрастает у больных с факторами риска, в частности, при гемобластозах [5, 8, 10, 11, 13, 15]. Тем не менее, что доля таких осложнений у этих пациентов остается в пределах 10%, и они представлены в основном локальными инфекциями. Предполагая, что в их развитии имеет значение состояние местной защиты [3, 4-6, 16, 20], в настоящем исследовании была поставлена цель: определить состояние и особенности местного иммунитета у гематологических больных при развитии оротофарингеального кандидоза.

Первоначально нами было установлено, что частота ОФК при разных гемобластозах соответствовала данным, опубликованным в работах [3, 5, 10, 11, 15, 17] и не превышала 9,6%. Поскольку авторы этих исследований часто ссылаются на особенности микробной экспансии и другие факторы риска, определяющие развитие указанного осложнения, то мы проанализировали собственные полученные данные и в этом аспекте опубликовали их ранее [17]. Оказалось, что по сравнению со здоровыми людьми у всех пациентов с данной патологией установлена избыточная колонизация ротовой полости грибами рода *Candida* независимо от вида заболевания, развития или отсутствия ОФК, что свидетельствует о нарушении микробиотоза и облегчении пролиферации грибов. Однако отсутствие разницы между больными с осложнением и без него показывает, что сами грибы и их количество в полости рта мало значат в патогенезе осложнения. Кроме того, при анализе различных протоколов (Hyper-CVAD+R, R-CHOP, BEACOPP, 7+3 и пр.) установлено, что развитие ОФК чаще всего наблюдали после ПХТ и ее повторного применения, и оно не зависело от вида ПХТ [17, 18]. Следовательно, имеет значение именно токсическое влияние любой ПХТ, по-видимому, на защитные клетки организма, значительная часть которых подвержена негативным действиям ПХТ, но к ней устойчивы грибы. Также они были устойчивы и даже активизировались при использовании антибактериальной терапии, так как при всей схожести ПХТ с добавлением к ней кортикостероидов в обеих группах применение антибиотиков достоверно увеличивало ($p < 0,05$) вероятность развития ОФК. Это нельзя считать неожиданным, поскольку даже у людей без онкогематологических заболеваний антибиотики могут стать причиной избыточной пролиферации грибов рода *Candida* [5, 7, 13, 18, 21].

Установлено, что среди наблюдавшихся пациентов с гемобластозами преобладали лица с опухолями

лимфоидной ткани (преимущественно лимфомы), вне зависимости от наличия осложнения. Возможно, избыточная колонизация их слизистой оболочки микросциетами обусловлена функциональной неполноценностью незрелых клеток этого ряда, которые в норме являются основными участниками адаптивных механизмов противогрибковой защиты [5, 10, 11, 13, 15, 16]. При этом не выявили существенного влияния вида ПХТ на частоту и развитие ОФК, хотя ОФК развивался преимущественно после поступления больных в стационар, применения цитостатической терапии и, особенно при ее продолжительном использовании и одновременном назначении антибиотиков. Это подтверждает критическую роль локальной микробиоты в предотвращении активации условно-патогенных грибов и развитии воспаления слизистой оболочки [1, 4, 6, 20, 22]. Спектр грибов был достаточно однообразным и сходным с таковым, полученным у здоровых лиц [17]. Исходя из предположения, что у больных гемобластозами на фоне цитостатической полихимиотерапии и применения антибактериальных препаратов существенным фактором риска развития ОФК может быть индивидуальная особенность мукозального иммунитета, были проведены исследования цитокинового профиля немедленного и раннего индуцибельного иммунного ответов [1, 3, 4-6, 19-22]. Считают, что их избыточность, как и воспаление, могут приводить к существенным повреждениям барьера слизистой оболочки, ее кандидацидных свойств и развитию локальной кандидиальной инфекции. Это и явилось основной целью данного исследования.

Установлено, что у всех гематологических больных, независимо от наличия или отсутствия осложнения и по сравнению со здоровыми, усилена продукция IL-6, играющего важную роль на раннем этапе иммунного ответа за счет влияния на выработку острофазных белков, IL-8 - хемоаттрактанта для нейтрофилов и MCP-1, привлекающего клетки моноцитарно-макрофагального ряда ($p < 0,05$). Это подтверждает выраженную активность клеток врожденного иммунитета в ответ на грибы, не предотвращающую, однако, их размножение и инвазивное действие, а, возможно, даже способствующую созданию благоприятной микросреды для распространения грибов. Об этом свидетельствуют наибольшие значения IL-6, IL-8, DEFb2 в группе с микозом, а также это подтверждается выявленными корреляционными взаимосвязями между цитокинами гематологических больных.

При ОФК достоверно отличались показатели DEFb2 и SLPI ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми лицами и гематологическими пациентами без осложнения, что указывает на активацию эпителиальных клеток (участников немедленного ответа) и значительные повреждения эпителиальных поверхностей протеолитическими ферментами в ходе воспаления. Отметим, что при отсутствии осложнения DEFb2 и

SLPI практически не отличались от уровня контрольной группы, отменяя необходимость ингибиторного действия SLPI на сериновые протеазы в защите эпителиальных поверхностей и собственно активацию эпителиоцитов [4, 20].

Обнаружено увеличение содержания МСР-1 в ротовой жидкости у всех обследованных гематологических больных, однако значительное увеличение его синтеза наблюдали у пациентов без осложнения. Вероятно, менее выраженная продукция этого важного хемоаттрактанта могла быть причиной недостаточного поступления в слизистую оболочку полости рта клеток моноцитарно-макрофагального ряда, действующих в качестве фагоцитов, а также важнейших регуляторов Т-клеточных ответов в противодействии *Candida* spp. Эти изменения совпадали с пониженным уровнем IL-17, который также обладает способностью привлекать эти клетки в очаг воспаления. Возможно, эти отличия снижали сопротивляемость слизистой оболочки ротовой полости против агрессии грибов.

Хотя не обнаружено существенных колебаний уровней цитокинов IFN- γ , TNF- α , IL-10 в РЖ исследуемых групп, однако отмеченный недостаток синтеза IFN- γ и IL-10 при развитии кандидоза можно трактовать как отсутствие адекватной реакции приобретенного иммунитета на клиническую ситуацию. В результате усиливается нагрузка на врожденные механизмы защиты, что приводит к чрезмерной, патологической активации местного раннего и инициативного иммунных ответов и развитию неконтролируемого у части больных воспаления. Такая ситуация обычно сопровождается выраженным локальным по-

вреждением барьерной ткани, что может способствовать усилению патогенных свойств грибов и развитию ОФК [5, 6, 16, 20]. Похожий патогенетический механизм повреждения барьерных тканей рассматривается как вполне реальный при генетических вариантах хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Избыточная колонизация ротовой полости грибами рода *Candida* выявлена у всех гематологических больных по сравнению со здоровыми, что свидетельствует о нарушении местной иммунореактивности, но не является причиной развития орофарингеального кандидоза. Это осложнение развивается преимущественно после поступления пациентов в стационар и применения разных видов цитостатической терапии. При одновременном назначении антибиотиков вероятность развития ОФК повышается. У больных гемобластомами выявленные изменения уровней цитокинов в ротовой жидкости являются показателем повышенной активности раннего и инициативного иммунных ответов, обуславливающих чрезмерное локальное воспаление с повреждением тканей. Этому может способствовать неадекватность противогрибковой защиты незрелых лимфоидных клеток на фоне полихимиотерапии. В целом выраженное локальное повреждение тканей при дефиците специфической защиты у части пациентов приводит к усилению патогенных свойств грибов и развитию орофарингеального кандидоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альтман Э.Д., Зурочка А.В., Теплова С.Н. Характеристика клеточного и гуморального звеньев иммунитета мукосаливарной зоны у лиц зрелого, пожилого и старческого возраста. Медицинская иммунология. 2011; 13 (2-3): 167-174. [Altman E.D., Zurochka A.V., Teplova S.N. Characteristics of cellular and serum components of mucosal immune compartment in mature, aged, and senescent persons. Medical Immunology (Russia). 2011; 13 (2-3):167-174 (In Russ.) doi.org/10.15789/1563-0625-2011-2-3-167-174]
2. Шабашова Н.В. Иммуитет и кандидоз полости рта. Вестник гематологии. 2010; VI (1): 22-24. [Shabashova N.V. Immunity and candidiasis of the oral cavity. Bulletin of Hematology. 2010; VI (1): 22-24 (In Russ)].
3. Шабашова Н.В. Особенности локального иммунного ответа и его дефекты при орофарингеальном кандидозе (обзор). Проблемы медицинской микологии. 2010; 12 (4): 3-9. [Shabashova N.V. Peculiarities of the local immune answer and its defects at oropharyngeal candidosis (review). Problems in Medical Mycology. 2010; 12 (4): 3-9 (In Russ)].
4. Naglik J.R., Moyes D.L., Wächter B. *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. Microbes and Infection. 2011; 13 (2-13): 963-976. doi.org/10.1016/j.micinf.2011.06.009
5. Pankhurst C.L. Candidiasis (oropharyngeal). BMJ Clin. Evid. 2013: 1304. PMID: 24209593
6. Salvatory O., Puri S., Tati S. Innate immunity and saliva in *Candida albicans* mediated oral diseases. Dent. Res. 2016; 95 (4): 365-71. doi.org/10.1177/0022034515625222
7. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. М., 2017: 271 с. [Klimko N.N. Mycoses: diagnosis and treatment. Manual for doctors. M., 2017: 271 s. (In Russ)].
8. 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; 16 (1): 3-8. [Klimko N.N., Kozlova Y.I., Khostelidi S.N., et al. The prevalence of serious and chronic fungal diseases in Russian Federation on LIFE program model. Problems in Medical Mycology. 2014; 16 (1): 3-8 (In Russ)].

9. *Fidel P.L.* *Candida*-Host Interactions in HIV Disease: implications for oropharyngeal candidiasis. *Advances in Dental Research*. 2011; 23 (1): 45-49. doi.org/10.1177/0022034511399284
10. *Kauffman C.A., Marr K.A., Thorner A.R.* Overview of *Candida* infections. (UpToDate) 2012.
11. *Lalla R.V., Latortue M.C., Hong C.H.* A systematic review of oral fungal infections in patients receiving cancer therapy. *Support Care Cancer*. 2010; 18 (8): 985-92. doi.org/10.1007/s00520-010-0892-z
12. *Li X., Lei L., Tan D.* Oropharyngeal *Candida* colonization in human immunodeficiency virus infected patients. *APMIS*. 2013; 121 (5): 375-402. doi.org/10.1111/apm.12006
13. *Смирнова О.В., Манчук В.Т.* Особенности клеток иммунной системы при остром лимфобластном лейкозе. *Медицинская иммунология*. 2013; 15 (6): 577-584. [Smirnova O.V., Manchuk V.T. Features of immune system cells in acute lymphoblastic leukemia. *Medical immunology*. 2013; 15 (6): 577-584 (In Russ)].
14. *Deng Z., Kiyuna A., Hasegawa M.* Oral candidiasis in patients receiving radiation therapy for head and neck cancer. *Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2010; 143 (2): 242-7. doi.org/10.1016/j.otohns.2010.02.003
15. *Gligorov J., Bastit L., Gervais H.* Prevalence and treatment management of oropharyngeal candidiasis in cancer patients: results of the French Candidoscope study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2011; 80 (2): 532-9. doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.02.006
16. *Wei X.Q., Rogers H., Lewis M.A., et al.* The role of the IL-12 cytokine family in directing T-cell responses in oral candidosis. *Clin. Dev. Immunol.* 2011; 697340. doi.org/10.1155/2011/697340
17. *Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В. и др.* *Candida* spp. в микробиоценозе полости рта у онкогематологических больных. *Проблемы медицинской микологии*. 2014; 16 (2): 60. [Danilova E.J., Shabashova N.V., Frolova E.V., et al. *Candida* species in microbiocenose mouth at oncohematological patients. *Problems in Medical Mycology*. 2014; 16 (2): 60 (In Russ)].
18. *Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В. и др.* Особенности местной защиты онкогематологических больных при орофарингеальном кандидозе. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2015; 3: 31-39. [Danilova E.Yu., Shabashova N.V., Frolova E.V., et al. Features of local immunity in hematological patients with oropharyngeal candidiasis. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2015; 3: 31-39 (In Russ)].
19. *Conti H.R., Baker O., Freeman A.F.* New mechanism of oral immunity to mucosal candidiasis in hyper-IgE syndrome. *Mucosal Immunol.* 2011; 4 (4): 448-455. doi.org/10.1038/mi.2011.5
20. *Weindl G., Wagener J., Schaller M.* Epithelial cells and innate antifungal defense. *J. Dent. Res.* 2010; 89 (7): 666-675. doi.org/10.1177/0022034510368784
21. *Шабашова Н.В., Кузьмина Д.А., Фролова Е.В. и др.* Нарушения местного иммунитета и иммунотерапия гепоном при хроническом воспалении слизистых оболочек разной локализации. *Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последиplomного образования*. 2010; 2 (4): 59-64. [Shabashova N.V., Kuzmina D.A., Frolova E.V., et al. Disorders of local immunity and gepon's immunotherapy at the chronic inflammation of mucosa different localization. *Bulletin of the St. Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education*. 2010; 2 (4): 59-64 (In Russ)].
22. *Laurent M., Gogly B., Tahmasebi F.* Oropharyngeal candidiasis in elderly patients. *Geriatr. Psychol. Neuropsychiatr. Vieil.* 2011; 9 (1): 21-8. doi.org/10.1684/pnv.2011.0259

Поступила в редакцию журнала 22.09.2021

Рецензент: Е.В. Пронина

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ *CANDIDA* SPP. В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ БОЛЬНЫХ ВИСЦЕРАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ

¹Шабалин В.Н. (г.н.с.), ²Шатохина И.С. (доцент кафедры), ²Шатохина С.Н. (зав. кафедрой)*

¹Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии; ²Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Микозы являются актуальной проблемой современной медицины. В настоящее время известно более 400 видов патогенных грибов. Среди них лидирующим агентом в развитии микозов выступают грибы рода *Candida*. Одна из наиболее тяжелых форм грибкового инфицирования организма – висцеральный кандидоз. В то же время широкий спектр имеющихся методов диагностики этого заболевания далеко не всегда даёт убедительный результат. Поэтому главным диагностическим ориентиром при этой патологии остаётся клиническая картина. В ходе поиска новых видов диагностики висцерального кандидоза нами был проведен морфологический анализ структур твёрдой фазы биологических жидкостей методом клиновидной дегидратации. Данный метод обеспечивает системную организацию веществ, растворённых в биологических жидкостях, с образованием специфических структур, служащих маркерами различных патологических состояний.

На носительство элементов *Candida* spp. обследован 2141 пациент различных возрастов: от новорожденных детей до представителей пожилого возраста. Материалом для исследования были различные биологические жидкости: сыворотка крови, моча, секрет предстательной железы, спинномозговая жидкость. Установлено, что метод клиновидной дегидратации в диагностике *Candida* spp. (по сравнению с культуральным посевом) обеспечивает более значимые результаты, так как позволяет визуально выявлять в биологических жидкостях элементы гриба (колонии, споры, псевдомицелий) или структуры самоорганизации продуктов его жизнедеятельности (кольцевые трещины, плёчатые образования), а также маркёры, указывающие на фазу активности или покоя возбудителей висцерального кандидоза (вегетирующие и «молчащие» споры, колонии).

Ключевые слова: висцеральный кандидоз, биологические жидкости, маркерные структуры *Candida* spp., метод клиновидной дегидратации

* Контактное лицо: Шатохина Светлана Николаевна, e-mail: sv_n@list.ru

MORPHOLOGICAL STRUCTURES OF *CANDIDA* SPP. IN BIOLOGICAL FLUIDS OF PATIENTS WITH VISCERAL CANDIDIASIS

¹Shabalin V.N. (chief scientific researcher), ²Shatokhina I.S. (associate professor of the department), ²Shatokhina S.N. (head of the department)

¹Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; ²Vladimirsky's Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

Mycoses are an urgent problem of modern medicine. Currently, more than 400 species of pathogenic fungi are known. Among them, the leading agent in the development of mycoses are fungi of the genus Candida. One of the most severe forms of fungal infection of the body is visceral candidiasis. At the same time, the wide range of available diagnostic methods for visceral candidiasis does not always give a convincing result. Therefore, the main diagnostic guideline for this pathology remains the clinical picture. In order to search for new types of diagnostics of visceral candidiasis, we carried out a morphological analysis of the structures of the solid phase of biological fluids by the cuneiform dehydration method. This method provides a systemic organization of substances dissolved in biological fluids with the formation of specific structures that serve as markers of various pathological conditions.

Carrier of elements of Candida spp. 2141 patients of various ages were examined: from newborns to elderly people. The material for the study was various biological fluids: blood serum, urine, prostate secretion, cerebrospinal fluid. It was found that the method of wedge-shaped dehydration in the diagnosis of Candida spp. (in comparison with culture) provides more significant results, since it allows to visually identify in biological fluids elements of the fungus (colonies, spores, pseudomycelium) or self-organizing structures of the products of its vital activity (ring cracks, membranous formations), as well as markers indicating the phase activity or rest of visceral candidiasis agents (vegetative and "silent" spores, colonies).

Key words: visceral candidiasis, biological fluids, marker structures of *Candida* spp., cuneiform dehydration method

ВВЕДЕНИЕ

Микозы являются актуальной проблемой современной медицины. В настоящее время известно более 400 видов патогенных грибов. Среди них лидирующим агентом в развитии микозов выступают грибы рода *Candida* [1]. Степень патогенности различных штаммов *Candida* широко варьирует от безвредных до высоко вирулентных [2]. Проблема микозов возрастает в связи с широким использованием антибиотиков, иммуносупрессоров, генно-инженерных биологических препаратов, а также синтетических базисных противовоспалительных средств [3]. Особую опасность *Candida* представляют в качестве внутрибольничной инфекции. Пребывание пациентов в онкологических отделениях, отделениях реанимации и

интенсивной терапии, в стационарах для коронавирусных больных приводит к высокому риску (10-46%) развития инвазивного кандидоза [4].

Одной из наиболее сложных форм грибкового инфицирования организма является висцеральный кандидоз (ВК). При ВК грибок проникает в кровотоки и лимфоток, распространяется по всему организму и поражает внутренние органы. ВК представляет собой патологическое состояние, при котором грибы рода *Candida* выявляются в стерильных в норме биосубстратах организма человека [5].

Патогенетические «инструменты» этих микроорганизмов представлены в виде псевдомицелия, бластоспор и хламидоспор [6]. Непосредственным фактором патогенности *Candida* считают способность гриба к адгезии на органах и клетках организма хозяина с последующим их повреждением посредством гидролитических энзимов [7, 8].

Один из важных аспектов проблемы ВК – отсутствие достаточно эффективных лабораторных методов выявления грибковой инвазии. Золотым стандартом диагностики ВК в настоящее время является исследование гемокультуры с последующей видовой идентификацией возбудителя [9]. Однако диагностическая чувствительность посевов крови при определении *Candida* spp. не превышает 50-75%, при этом результат можно получить через 5-7 суток. Предложены различные серологические методы диагностики ВК, но их стандартизация не проведена. Метод масс-спектрометрии доступен только в крупных центрах. Несмотря на сравнительно высокую информативность метода полимеразной цепной реакции при диагностике ВК, в клинической практике его используют редко из-за риска ложноположительных результатов, отсутствия стандартизации и высокой стоимости [10]. Поэтому пациентам с факторами риска и предполагаемыми клиническими признаками ВК часто приходится применять эмпирическую антимикотическую терапию без лабораторного подтверждения заболевания, так как необходимо учитывать, что эффективность ранней эмпирической терапии достоверно выше отсроченной [11, 12].

Таким образом, существующие методы лабораторной диагностики ВК не всегда дают убедительные результаты, и основным диагностическим ориентиром до сих пор остаётся клиническая картина. Следовательно, возникает необходимость поиска новых методов диагностики ВК, дающих более быстрый ответ и более точные результаты, являющиеся в то же время менее трудоемкими и малозатратными.

Цель исследования: определить возможности метода клиновидной дегидратации (КД) биологических жидкостей в диагностике висцерального кандидоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На выявление ВК обследован 2141 пациент разного возраста: от новорожденных до пожилых людей. Исследовали различные биологические жидкости (БЖ): сыворотку крови (СК) – у 584 больных, мочу – у 1478, секрет предстательной железы (СПЖ) – у 64, спинномозговую жидкость (СМЖ) – у 15. Выявление элементов гриба *Candida* spp. в БЖ осуществляли методом клиновидной дегидратации (разрешение к широкому клиническому применению ФС РФ № 155 от 15.06.2009 г.) [13]. Сущность метода состоит в следующем: капля БЖ в количестве 0,02 мл, нанесённая на плоскость, приобретает особую форму – клин (вид при сагиттальном разрезе по диаметру). Такая форма создает условия для системной самоорганизации веществ, растворённых в БЖ. В результате формируется сухая структурированная плёнка – фация (от лат. *facies* – лицо). В наших исследованиях для каждого образца БЖ, взятого у пациента, готовили по три фации. Результат считали положительным, если хотя бы в одной фации обнаруживали элементы *Candida* spp., которые могли быть представлены в фации БЖ или только одним видом, или совокупностью двух или трёх. Специфическое строение фации БЖ определяется структурой молекул растворённых в ней компонентов. Формирование фации БЖ происходит от 4 до 18 часов (в зависимости от вида БЖ) при дегидратации в стандартных условиях: температура – 23-25°, относительная влажность – 55-60%, строгая неподвижность высыхающей капли, отсутствие влияния внешних факторов (свет, движение окружающего воздуха). Микроскопию фаций БЖ осуществляли с помощью стереомикроскопа MZ12 (Leica) при увеличении от x10 до x100 и различном освещении (белый и поляризованный свет).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из общего числа обследованных (2141) в БЖ 459 пациентов методом КД были выявлены различные элементы маркерных структур *Candida* spp. (табл.).

Таблица
Результаты исследования биологических жидкостей пациентов на присутствие элементов *Candida* spp.

<i>Candida</i> spp.	Сыворотка крови 584/57*	Моча 1478/ 388	Секрет предстательной железы 64/12	Спинномозговая жидкость 15/2	Всего (исследовано /обнаружено) 2214/465
Псевдомицелий	53	189	0	0	248
Споры округлые «молчащие»	0	76	12	0	88
Споры округлые вегетирующие	2	34	0	0	36
Споры бобовидные	5	15	0	0	20

Кольцевые трещины	0	33	0	2	35
Колонии молчашие	0	26	0	0	26
Колонии вегетирующие	0	9	0	0	9
Плёнчатая структура	0	16	0	0	16

*число обследованных / число пациентов с элементами *Candida* spp. в БЖ.

При анализе выявленных маркерных структур в фациях различных БЖ были получены следующие результаты.

Маркерные структуры *Candida* spp. в фациях сыворотки крови

У 57 из 584 больных в СК было обнаружено 60 элементов *Candida* spp.: псевдомицелий – у 53 человек, споры округлые вегетирующие – у 2, споры бобовидные – у 5 (табл.).

При анализе присутствия элементов *Candida* spp. в СК у пациентов с различными видами патологии установлено, что среди 584 обследованных 263 человека страдали сахарным диабетом, у 35 из них в СК был обнаружен псевдомицелий *Candida* spp. На рисунке 1 представлен фрагмент фации сыворотки крови с псевдомицелием больного сахарным диабетом.

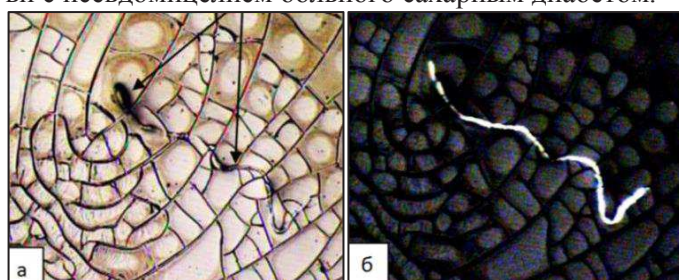


Рис. 1. Фрагмент фации сыворотки крови больного сахарным диабетом – спора с отходящей нитью псевдомицелия (стрелки): а – в обычном свете, б – в поляризованном свете, x40.

В состав группы больных сахарным диабетом входили 64 беременные женщины. Была исследована размороженная СК, взятая у всех пациенток на 36 неделе беременности. У 2 женщин в фациях СК при обычном освещении определялись вегетирующие споры гриба в виде желтовато-коричневых округлых образований (Рис. 2а). В поляризованном свете среди этих образований чётко различались вегетирующие споры и элемент псевдомицелия (Рис. 2б). При сопоставлении полученных нами данных с исходом беременности установлено, что только у этих двух женщин беременность закончилась внутриутробной гибелью плода.

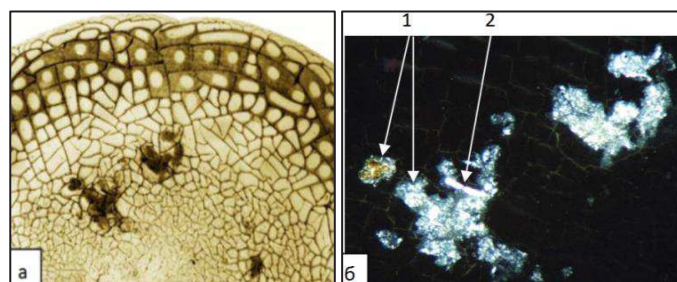


Рис. 2. Фрагменты фации сыворотки крови женщины (36 неделя беременности), страдающей сахарным диабетом. Скопления элементов гриба рода *Candida*: а – микроскопия в обычном свете, x45; б – в поляризованном свете, x100. Стрелки: 1 – вегетирующие споры, 2 – элемент псевдомицелия.

Полученные предварительные данные позволяют полагать, что метод КД целесообразно применять для исследования СК в качестве скринингового теста при обследовании больных сахарным диабетом с целью своевременного выявления кандидемии и принятия соответствующих терапевтических мер.

Среди 17 детей в возрасте 4-5 лет, перенесших в периоде новорожденности острый кандидоз органов мочевой системы, в СК 5 из них были обнаружены единичные бобовидные споры с небольшой выемкой в центре (Рис. 3а).

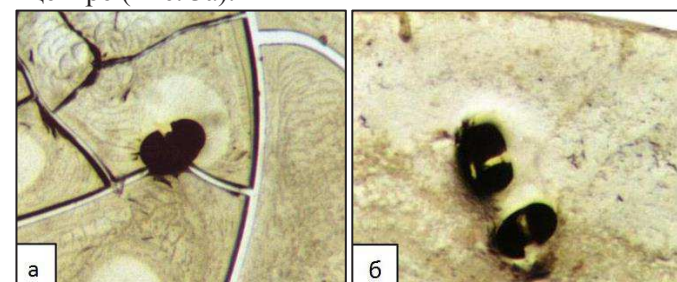


Рис. 3. Фрагменты фаций с бобовидными спорами: а – в сыворотке крови ребёнка 4 лет, б – в моче ребёнка 3 лет, перенёсших в период новорожденности острый кандидоз органов мочевой системы, x100.

Описания образований, представленных на рисунке 3, в доступной литературе мы не встретили.

Наиболее тяжелые проявления ВК мы наблюдали у больных инфекционным эндокардитом после хирургической пластики клапанов сердца. По данным отделения сердечно-сосудистой хирургии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, после пластики сердечных клапанов у пациентов с инфекционным эндокардитом отмечалась высокая летальность в послеоперационном периоде. Секционные результаты показали, что искусственные клапаны у этих лиц были почти полностью разрушены. Такое положение наблюдали в кардиохирургической практике различных медицинских учреждений [14]. В связи с этим мы выполнили исследование СК методом КД 26 больных инфекционным эндокардитом, поступивших в стационар для проведения пластики сердечных клапанов. Установлено, что у 17 из них в СК определялись маркеры кандидемии в виде псевдомицелия (Рис. 4).

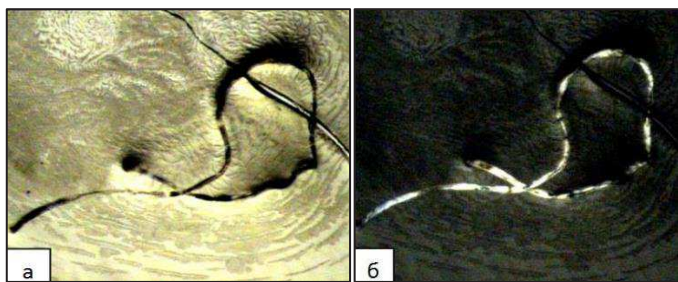


Рис. 4. Фрагмент фации сыворотки крови больного инфекционным эндокардитом: спора *Candida* spp. с отходящей нитью псевдомицелия: а – микроскопия в обычном свете, б – в поляризованном, $\times 100$.

Культуральные посевы на наличие *Candida* spp. во всех случаях давали отрицательные результаты. Эти данные явились основанием для разработки медикаментозной программы профилактики и интенсивного лечения кандидозной септицемии. Применение этой программы больным с наличием в СК элементов *Candida* spp. в до- и послеоперационном периоде снизило летальность в четыре раза, а количество осложнений – в семь раз.

Таким образом, метод КД позволяет быстро диагностировать кандидемию и дает возможность своевременно предупреждать развитие кандидозной септицемии.

Маркерные структуры *Candida* spp. в фациях мочи

Методом КД была исследована моча 1478 человек, из них: 1005 – с различной патологией органов мочевой системы (группа больных) и 473 – проходивших диспансерное обследование (группа здоровых лиц).

В группу больных входили 78 резко ослабленных новорожденных детей отделения интенсивной терапии. У 24 из них методом КД был выявлен структурный маркер острого кандидоза в виде кольцевых трещин, которые располагались в краевой зоне фации мочи (Рис. 5). У всех этих детей кандидоз был подтверждён культуральным посевом. Отметим, что методом КД маркер *Candida* spp. выявлялся через 4 часа после постановки теста, в то время как при культуральном посеве – на пятые сутки.

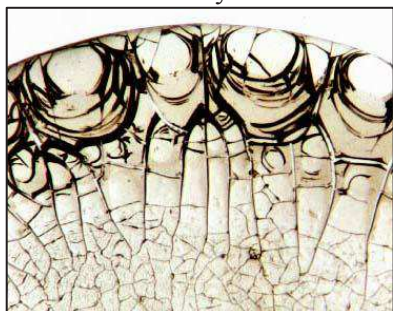


Рис. 5. Фрагмент фации мочи новорожденного ребенка из реанимационного отделения. Кольцевые трещины в краевой зоне – маркер острого кандидоза, $\times 40$.

Образование данного маркера связано с присутствием в БЖ кандидатоксина, литических ферментов

и других продуктов жизнедеятельности патогенной формы *Candida* spp., то есть кольцевые трещины в фациях БЖ пациента указывали на острую фазу ВК.

В процессе лечения 24 новорожденных с острым кандидозом в фациях мочи 21 ребенка были обнаружены «молчащие» споры *Candida* spp. в виде округлых образований, окрашенных в жёлтый цвет, с приподнятым коричневатым центром, а у 3 детей определялись «вегетирующие» споры. У всех новорожденных с вегетирующими спорами имел место летальный исход.

На рисунке 6 представлены два состояния данного вида спор.

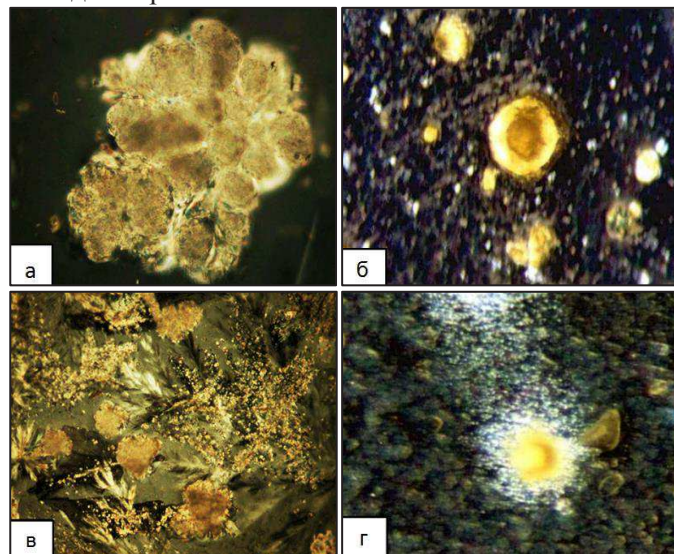


Рис. 6. Фрагменты фаций мочи новорожденных. Споры *Candida* spp.: а – конгломерат (без вегетации), б – отдельно лежащая спора (без вегетации); в – конгломерат вегетирующих спор, г – отдельно лежащая вегетирующая спора (выброс клеток гриба). Микроскопия в поляризованном свете, $\times 200$.

Таким образом, появление «молчащих» спор в процессе проводимого лечения детей с острым кандидозом указывает на положительный эффект, в то время как вегетирующие споры свидетельствуют о высокой агрессии гриба, что требует подбора адекватной высокоинтенсивной терапии.

Маркер острого кандидоза в виде кольцевых трещин был также выявлен в моче 9 из 45 взрослых пациентов, страдающих тяжелыми формами сахарного диабета.

В общей группе (1005 человек) методом КД в моче 23 больных выявлены «молчащие» колонии *Candida* spp. в виде округлых образований с краевым валиком (Рис. 7 а, б). Результаты культурального посева у всех больных были отрицательными. В моче 9 человек из общей группы были обнаружены вегетирующие колонии с разрывом защитного валика и выбросом из колонии большого количества клеток гриба (Рис. 7б). У этих пациентов культуральный посев на *Candida* spp. дал положительный результат. То есть разрыв валика колонии указывал на обострение

процесса, что подтверждалось также клинической картиной заболевания.

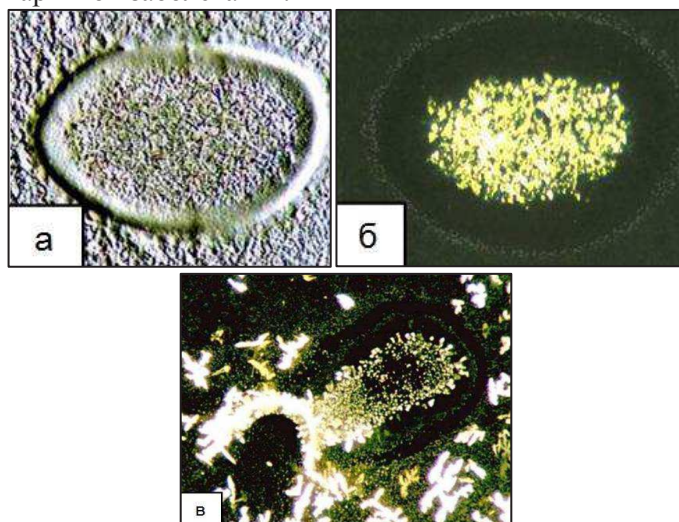


Рис. 7. Фрагменты фаций мочи больных хроническим кандидозом. Колонии *Candida* spp.: а, б – в стадии ремиссии, в – вегетирующая колония, б, в – микроскопия в поляризованном свете, x100.

Споры бобовидной формы (Рис. 3б) были найдены также в моче 9 детей, перенёсших в период новорожденности острый кандидоз, 5 взрослых пациентов с длительным течением хронического пиелонефрита и 1 больного с хронической почечной недостаточностью после пересадки почки с высоким риском её отторжения.

В моче 33 (из 1005) пациентов с заболеваниями органов мочевой системы методом КД выявлены элементы *Candida* spp. в виде спор и псевдомицелия (Рис. 8). В частности, в эту группу вошли 7 молодых супружеских пар, страдающих бесплодием.

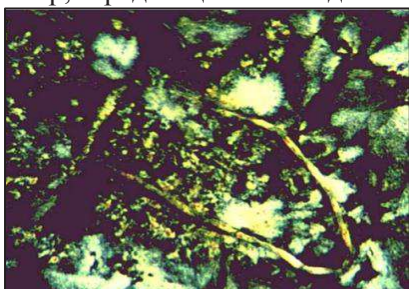


Рис. 8. Фрагмент фации мочи в поляризованном свете. Споры с псевдомицелием *Candida* spp., x100.

Фации мочи 16 пациентов с заболеваниями органов мочевой системы были представлены плёнчатой формой *Candida* spp. (Рис. 9). Такие фации из-за большого числа морщин имеют вид «жатой алюминиевой фольги» и обусловлены выводом в мочу токсичных продуктов жизнедеятельности *Candida* spp. У 5 больных плёнка полностью закрывала поверхность фации. В качестве примера на рисунке 9а представлен фрагмент фации мочи беременной женщины в возрасте 28 лет, страдающей хроническим пиелонефритом, у которой три беременности самопроизвольно прервались на ранних сроках (6-7 недель). У 4 де-

тей и у 7 взрослых пациентов фации мочи были частично покрыты плёнкой (Рис. 9 б, в). В фации мочи (Рис. 9 в), показанной в поляризованном свете, чётко видна нить псевдомицелия и скопления анизотропных клеток гриба.

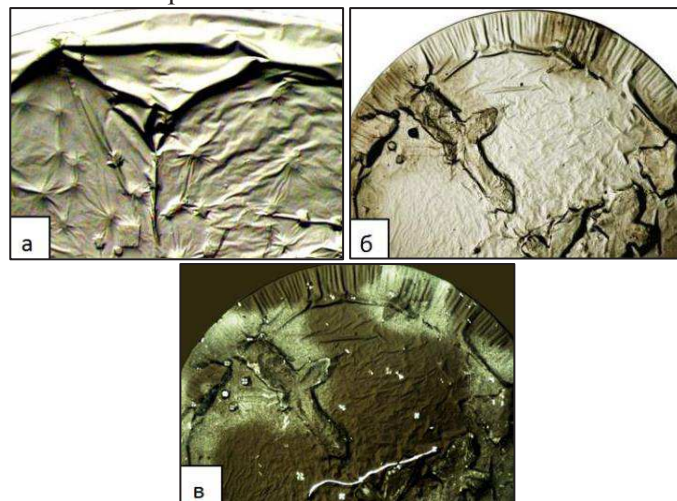


Рис. 9. Фрагменты фаций мочи. Плёнчатая форма гриба род *Candida* spp.: а – полное покрытие фации плёнкой; б, в – частичное покрытие фации плёнкой (б – микроскопия в обычном свете; в – в поляризованном), x40.

При диспансерном обследовании 473 человек в моче 46 из них были выявлены элементы *Candida* spp., представленные «молчащими» спорами (31) и псевдомицелием (15).

Таким образом, морфологическая картина фаций мочи быстро даёт объективную информацию о кандидозе органов мочевой системы. Данная информация представлена в визуально доступных специфических структурах грибковой инфекции *Candida* spp., в том числе ранее неизвестных.

Маркерные структуры *Candida* spp. в секрете предстательной железы

При исследовании СПЖ 64 пациентов с хроническим простатитом у 12 из них выявлены «молчащие» споры гриба (Рис. 11). Отметим, что при хроническом простатите происходит нарушение дренажа в ацинусах предстательной железы. Это отражается в фациях СПЖ значительным числом трёхлучевых трещин (маркёр застойных явлений).

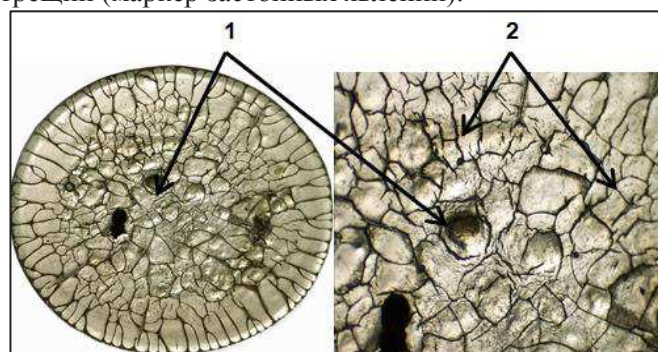


Рис. 11. Фация секрета предстательной железы и её фрагмент с «молчащими» спорами (стрелки 1) и сетью трёхлучевых трещин (застойные явления в простате) – стрелки 2; а – x12; б – x40.

Подчеркнем, что грибковые формы хронического простатита диагностируются крайне редко. Отсутствие должной диагностики часто является причиной неудовлетворительных результатов лечения. Применение метода КД в комплексной диагностике хронического простатита поможет определить адекватную программу лечения.

Маркерные структуры *Candida* spp. в фациях спинномозговой жидкости

СМЖ методом КД была исследована у 15 детей с острым менингитом. У 2 из них в возрасте 9 и 11 месяцев выявлен маркер острого кандидоза (Рис. 12) – кольцевые трещины в краевой зоне фации. Данный маркер был аналогичен структурам фаций мочи новорожденных с острым кандидозом органов мочевой системы (см. выше).

Заболевание у обоих детей закончилось летальным исходом. То есть кольцевые трещины в краевой зоне фации БЖ свидетельствуют об острой форме кандидоза, патогенетической причиной которой является активное токсинообразование.

Таким образом, морфологический анализ БЖ с помощью метода КД открывает принципиально новые возможности в диагностике грибковых заболеваний внутренних органов.

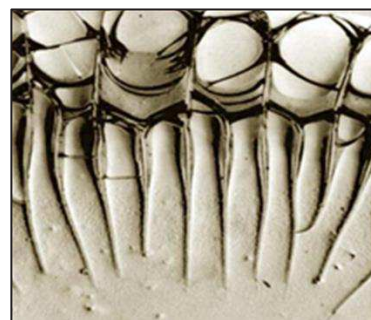


Рис. 12. Фрагмент фации спинномозговой жидкости при остром кандидозном менингите. Кольцевые трещины в краевой зоне, x40.

ВЫВОДЫ

1. Применение метода клиновидной дегидратации показало, что маркерные структуры *Candida* spp. могут быть выявлены в различных биологических жидкостях у больных висцеральным кандидозом.

2. При диагностике висцерального кандидоза метод клиновидной дегидратации позволяет получить быстрый результат (в пределах 18 часов), является высокоэкономичным и технически доступным для лабораторий любого медицинского учреждения.

3. Диагностическая достоверность результатов метода клиновидной дегидратации определяется тем, что маркеры *Candida* spp. демонстрируются в виде объективных визуально различимых элементов гриба (колонии, споры, псевдомицелий) или структур саморегуляции продуктов его жизнедеятельности (кольцевые трещины, плёнчатые образования).

4. Метод клиновидной дегидратации позволяет выявить маркеры, указывающие на фазу активности или покоя висцерального кандидоза (вегетирующие и «молчащие» споры, колонии гриба).

ЛИТЕРАТУРА

1. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз, М., 2000. 472 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. Candidiasis, M., 2000. 472 s. (In Russ)].
2. Роузвиа С.К. Гинекология: Справочник практического врача, М., 2007. 519 с. [Rouzvia, S.K. Ginekologiya: Handbook of a practical doctor, M., 2007. 519 s. (In Russ)].
3. Баранова М.М., Литвинова М.А., Муравьева Н.В., Белов Б.С. Микозы у больных хроническими воспалительными заболеваниями суставов (предварительные данные). Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (2): 53. [Baranova M.M., Litvinova M.A., Murav'eva N.V., Belov B.S. Mycoses in patients with chronic inflammatory diseases of the joints (preliminary data). Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (2): 53. (In Russ)].
4. Клишко Н.Н., Козлова О.П. Инвазивный кандидоз у детей. Журнал инфектологии. 2021; 13 (2): 14-26. [Klimko N.N., Kozlova O.P. Invasive candidiasis in children. Journal of Infectology. 2021; 13 (2): 14-26. (In Russ)].
5. Calderone R., Clancy C., et al. *Candida* and candidiasis. Washington: ASM Press; 2012. 536 P.
6. Несвижский Ю.В., Волчкова Е.В., Филина Ю.С. и др. Разработка комплексного подхода к терапии инфекции, вызванной грибами рода *Candida*. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015; 20 (1): 27-31. [Nesvizhskij Yu.V., Volchkova E.V., Filina Yu.S., et al. The elaboration the complex approach to the treatment of infection caused by fungi of the genus *Candida*. Epidemiology and infectious diseases. 2015; 20 (1): 27-31. (In Russ)].
7. Елинов Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека. Проблемы медицинской микологии. 2002; 4 (4): 3-7 [Yelinov N.P. Toxigenic fungi in the man's pathology. Problems of medical mycology. 2002; 4 (4): 3-7 (In Russ)].
8. Gow N.A., Brown A.J., and Odds F.C. Fungal morphogenesis and host invasion. Opin. Microbiol. 2002; 5: 366-71. doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00338-7

9. *Никитина И.В., Ионон О.В., Приходько Н.А.* Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инвазивных микозов у новорожденных. Неонатология: новости, мнения, обучение. 2014; 4: 64-72. [Nikitina I.V., Ionov O.V., Prikhod'ko N.A. Modern approaches to the diagnosis, therapy and prophylaxis of invasive mycoses in neonates. Neonatology: news, opinions, training. 2014; 4: 64-72 (In Russ)].
10. *Веселов А.В.* Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016; 18 (2): 286-304. [Veselov A.V. Invasive candidiasis: current aspects of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention in different categories of patients. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2016; 18 (2): 286-304 (In Russ)].
11. *Климко Н.Н.* Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии (Российские национальные рекомендации). М., 2010. 87 с. [Klimko N.N. (red.). Diagnosis and treatment of mycoses in intensive care units (Russian National guidelines). M., 2010. 87 s. (In Russ)].
12. *Елекенова Г., Умбетьярова Л.Б., Рамазанова Б.А. и др.* Современные методы диагностики урогенитального кандидоза. Вестник КазНМУ. 2017; 3: 14-15. [Elekenova G., Umbet'yarova L.B., Ramazanova B.A., et al. Modern methods of diagnosis of urogenital candidiasis. Bulletin of KazNMU. 2017; 3: 14-15 (In Russ)].
13. *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Функциональная морфология неклочных тканей человека. М.: РАН, 2019. 360 с. [Shabalin V.N., Shatohina S.N. Functional morphology of non-cellular human tissues. M.: RAN, 2019. 360 s. (In Russ)].
14. *Шевченко Ю.Л.* Хирургическое лечение инфекционного эндокардита: 35-летний опыт. Annals of Surgery, Russian journal. 2016; 21 (1): 42-51. [Shevchenko Yu.L. Surgical treatment of infectious endocarditis: 35 years of experience. Annals of Surgery, Russian journal. 2016; 21 (1): 42-51 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 27.09.2021

Рецензент: Т.С. Богомолова

ВЛИЯНИЕ ТРАДИЦИОННОЙ ТЕРАПИИ ОСТРЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ИММУНИТЕТ

Шабашова Н.В. (профессор кафедры)*, Ткаченко Е.М. (студентка)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Термин «иммуномодуляторы» и мнение о повседневной необходимости «повышать иммунитет» стали популярным в последние годы. Однако иммуномодуляция – влияние на функции иммунной системы может быть или со знаком плюс, или минус. В статье рассматривается модулирующее воздействие на иммунную систему симптоматических средств, которые используют для лечения такой распространенной патологии, как острые респираторные вирусные инфекции, поскольку их этиологическое лечение проблематично. Применение этих средств улучшает клиническое состояние пациента, снимая остроту тех или других симптомов, которые свидетельствуют о воспалении. Однако воспаление является одной из основных функций иммунной системы, которое она организует для защиты от вирусов, повреждающих эпителий разных отделов дыхательной системы. Подавление ее у часто болеющих детей при повседневном и неадекватном использовании указанных средств может способствовать усугублению дефектов иммунитета, индуцированных как эндогенными, так и экзогенными факторами.

Ключевые слова: иммуномодуляция, традиционная терапия, острые респираторные вирусные инфекции, часто болеющие дети

THE EFFECT OF TRADITIONAL THERAPY OF ACUTE VIRAL INFECTIONS ON IMMUNITY

Shabashova N.V. (professor of the department), Tkachenko E.M. (student)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

The term "immunomodulators" and the opinion about the daily need to "boost immunity" have become popular in recent years. However, immunomodulation (the effect on the immune system functions) can be either with a plus or minus sign. The article discusses the modulating effect on the immune system of symptomatic agents that are used to treat such a common pathology as acute respiratory viral infections, since their etiological treatment is problematic. The use of these drugs improves the clinical condition of the pa-

* Контактное лицо: Шабашова Надежда Венедиктовна, e-mail: shabashova@bk.ru

tient, relieving the severity of certain symptoms that indicate inflammation. However, inflammation is one of the main functions of the immune system, which it organizes to protect against viruses that damage the epithelium of different parts of the respiratory system. Its suppression at frequently ill children with the daily and inadequate use of these funds can contribute to the aggravation of immune defects induced by both endogenous and exogenous factors.

Key words: immunomodulation, traditional therapy, acute respiratory viral infections, frequently ill children

Приоритетными направлениями государственной политики в области здравоохранения (<http://www.fcgen.ru>) признаны: снижение уровня заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), совершенствование профилактики, повышение эффективности лечения, поскольку, по данным многолетней статистики, как и в последние годы, именно эти инфекции преобладают, в частности, у детского населения (табл.).

Таблица
Заболеваемость детей в возрасте 0-14 лет отдельными инфекционными заболеваниями (Федеральная служба государственной статистики – Росстат, здравоохранение в России, 2019 г.)

	2005	2010	2015	2016	2017	2018
	Всего, тысяч					
Брюшной тиф и паратифы А, В, С	0,03	0,01	0,003	0,001	0,002	0,0
Сальмонеллезные инфекции	17,4	21,6	17,2	17,1	15,4	16,1
Острые кишечные инфекции	379,7	498,7	500,6	522,9	511,2	503,1
из них бактериальная дизентерия	31,8	9,4	5,5	5,3	3,6	3,8
Вирусные гепатиты	14,3	3,6	2,8	2,7	2,3	1,6
Дифтерия	0,1	0,003	0,001	0,0	0,0	0,0
Коклюш	4,3	4,5	6,0	7,7	5,0	9,5
Корь	0,1	0,1	0,3	0,1	0,5	1,3
Краснуха	96,2	0,2	0,004	0,002	0,001	0,0
Скарлатина	37,4	54,5	38,5	32,4	35,4	37,9
Паротит эпидемический	1,9	0,2	0,1	0,5	1,5	0,7
Ветряная оспа	587,0	610,6	750,0	730,3	790,8	769,5
Острые инфекции верхних дыхательных путей	16062,8	18563,6	20363,8	21352,2	21588,0	20450,9
Грипп	377,6	8,6	21,1	30,2	24,2	18,3
Менингококковая инфекция	2,3	1,1	0,7	0,5	0,6	0,6
Педикулез	56,2	52,0	58,2	52,1	49,5	53,4

С научно-практической точки зрения, в этом отношении особый интерес представляет группа часто болеющих детей (ЧБД), составляющих основную массу пациентов с ОРВИ в периоды повышенной заболеваемости, и, особенно, вне этого времени. При этом современный огромный арсенал лекарственных средств до последних лет так и не уменьшает количество ЧБД, существенно не повышая эффективность их терапии, что утверждают и более ранние исследования (Запруднов А.М., 1996; Самсыгина Г.И., 2005; Маркова Т.П., 2006; Булгакова В.И. и соавт., 2007; Намазова Л.С., Ботвиньева В.В., 2007 и др.) [1-9].

В предыдущих работах [5, 6] на основании собственных многолетних наблюдений за 1200 детьми

от 0 до 14 лет был проведен анализ причин и патогенетических механизмов развития синдрома частых ОРВИ, который в практике объединяют термином «часто болеющие дети». С нашей точки зрения, этот анализ показывает, что этиопатогенез синдрома зависит от эндогенных и экзогенных (часто комплексных) факторов и причин как изначальных, так и появляющихся в процессе развития синдрома [5, 6].

Однако оценка многолетних анамнестических данных свидетельствует, что для лечения острых и рецидивирующих респираторных инфекций у детей, составивших группу ЧБД и обратившихся по этому поводу к иммунологу, постоянно (нередко ежемесячно и чаще) использовались одни и те же симптоматические средства (Рис.).

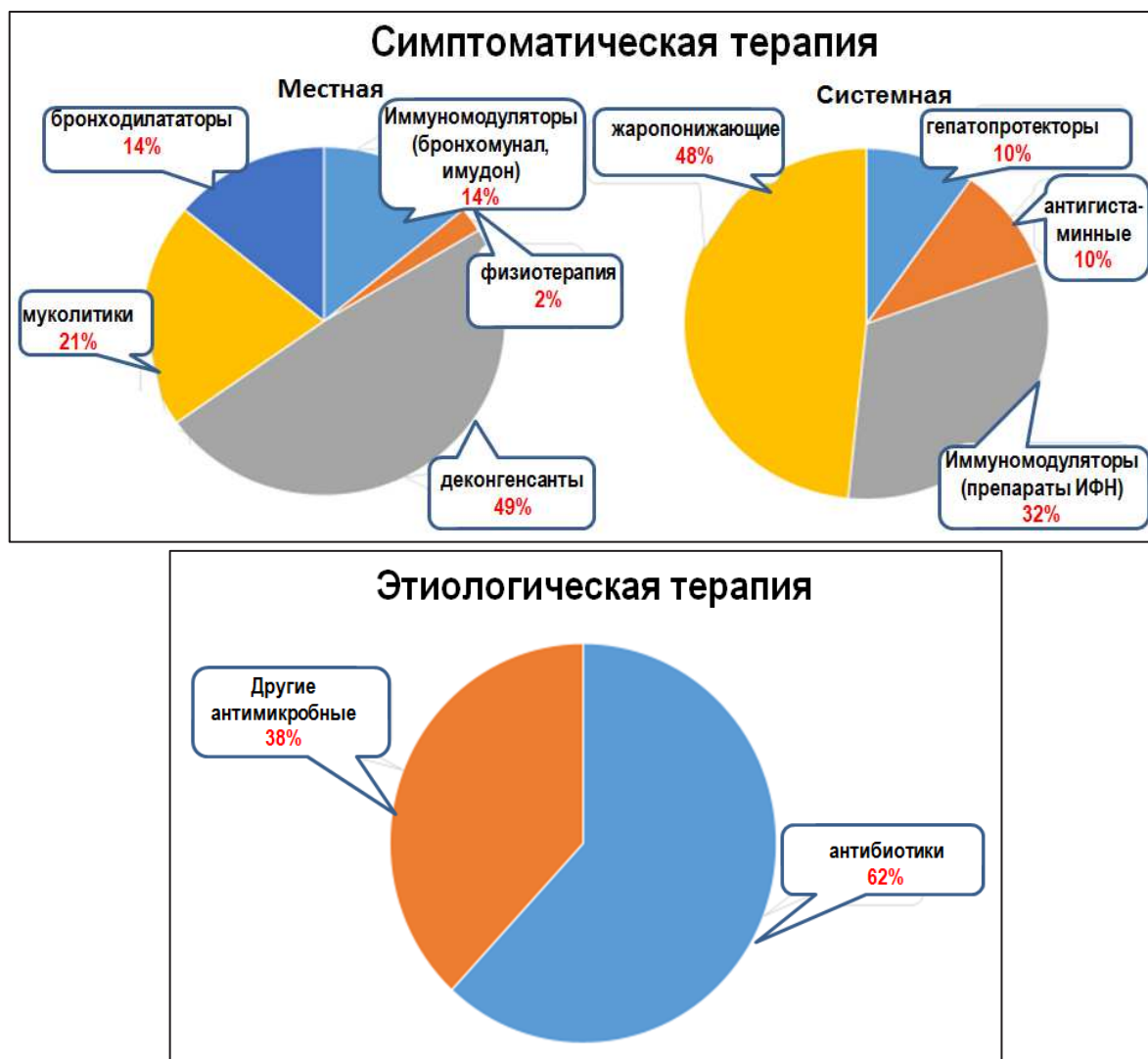


Рис. Лекарственные средства местной и системной традиционной терапии ОРВИ.

Поскольку этиологическая терапия ОРВИ остается проблематичной с завидной регулярностью назначались антибиотики и обязательные симптоматические средства. Последние улучшают клиническое состояние пациента, снимая остроту тех или других симптомов, свидетельствующих о воспалении, которое организует иммунная система (ИС) для защиты от вирусов, повреждающих при ОРВИ эпителий разных отделов дыхательной системы [5, 6, 8].

В норме, прежде всего, слизистая оболочка носоглотки является первой линией защиты против разнообразных антигенов, создавая иммунную окклюзию – процесс уничтожения потенциальных возбудителей еще до проникновения их вглубь слизи-

стой оболочки. Это зависит от физико-химических свойств мерцательного эпителия, состава назального секрета и мокроты, где содержатся бактерицидные пептиды, IFN- α , sIgA, фагоциты, а также других клеток иммунной системы и их взаимодействия на местном уровне [8]. Одновременно как сами эпителиальные, так и другие клетки врожденной защиты слизистой оболочки выполняют индуктивную роль: распознавание, захват, процессинг и презентацию антигенов лимфоцитам с развитием классического адаптивного ответа, который организует лимфоидная ткань кольца Пирогова-Вальдейера. Все виды ответа протекают в виде воспаления со всеми характерными клиническими признаками при выражен-

ном повреждении слизистой оболочки (болезнь) или без них (пациент не чувствует дискомфорта). В конечном итоге в обоих случаях образуются клетки памяти, которые при повторном поступлении этого же антигена быстро включают эффекторные механизмы ответа: образование антител и/или активное и быстрое образование пула цитолитических лимфоцитов CD8⁺ без повреждения, то есть без болезни. Вся эта «стройная» система защиты «терпит бедствие» от цитопатического действия вирусов на слизистую оболочку при развитии ОРВИ разной этиологии [5, 6, 8]. К сожалению, это «дополняется» негативным иммуномодулирующим действием [1-7, 10] традиционных симптоматических средств на мукозальную иммунную систему, а при учащении заболеваний – и на общую иммунную реактивность с развитием вторичной иммунной недостаточности, о чем свидетельствуют практически все литературные данные разных лет и наши наблюдения [1-7].

Как указывают инструкции постоянно назначаемых деконгестантов, противовоспалительных, жаропонижающих, антигистаминных, антилейкотриеновых препаратов, беродуала и пульмикорта [7, 10-15], все они подавляют воспалительную реакцию, организованную иммунной системой для защиты посредством провоспалительных цитокинов, хемокинов, вазоактивных веществ (ВАЗ). Именно ВАВ, выделяемые тучными клетками, базофилами, а затем эозинофилами, расширяя сосуды в месте реакции на антиген или аллерген, определяют активность притока иммунных клеток и молекул, т.е. местную или даже системную защитную реакцию ИС [8]. Но системное и даже местное, особенно длительное применение любых средств, разными механизмами препятствующих развитию воспаления, нарушает развитие эффекторной фазы адаптивного иммунного ответа и образование клеток памяти. Недостаточность эффекторной фазы, определяющей окончательную элиминацию причинного микроорганизма, и образование клеток памяти, обеспечивающих высокоэффективный вторичный иммунный ответ, приводит к задержке вируса в тех клетках, к которым он имеет тропизм. Это может стать причиной повторных ОРВИ, постоянных болей в горле из-за увеличения количества слабо функционирующих иммунных клеток в носоглотке, вынужденных хоть как-то отвечать на ежесекундно поступающие любые внешние «агрессоры».

Те же средства лечения, вновь назначаемые при рецидиве или повторном ОРВИ через 3-7 дней, выполняют предназначенные им действия: подавляют воспаление и, соответственно, иммунную систему. Эта негативная иммуномодуляция способствует задержке и/или неполному восстановлению ИС, что считается основным признаком вторичного иммунодефицита [16]. Ситуация ухудшается, когда быстро исчезают клинические симптомы, и якобы здоровый

ребенок выписывается в коллектив, где количество и активность внешних «агрессоров» – разных микроорганизмов, в том числе вирусов, многократно возрастает. Ребенок вновь быстро заболевает, при этом нередко приобретая вегето-сосудистые и психосоматические проблемы, характерные для ЧБД [1-7].

В научно-практической программе Союза педиатров России «Острые респираторные заболевания у детей: лечение и профилактика» подчеркивается, что **изменение тактики ведения часто болеющих острыми респираторными инфекциями детей, а именно применение превентивной иммунотерапии, ведет к снижению как общей стоимости лечения, так и к непрямо́й экономии** [15]. Мы полностью согласны с этим положением. Однако в повседневной практике не учитывается, что патогенетической основой синдрома ЧБД является нарушение регуляторных механизмов в иммунной системе, и в традиционную терапию ОРВИ нередко (Рис.1) параллельно с симптоматическими препаратами включают интерферогены (амиксин, арбидол, циклоферон и др.), виферон (IFN-α) и иммуностимуляторы бактериального происхождения. Фактически эта тактика «сталкивает» ингибицию иммунной системы противовоспалительными средствами и стимуляцию ее интерферогенами и вивефероном в ходе иммунного ответа. Это увеличивает антигенную нагрузку на поврежденную иммунную систему, усугубляет ВИД, а также может стать причиной пролонгированного повышения температуры и гипердиагностики осложнений с назначением антибиотиков [1, 3-6, 17]. Их применение до сих пор остается еще одной проблемой лечения больных ОРВИ: до 72% визитов к врачу по поводу ОРВИ заканчивается назначением антибиотиков (АБ), а в стационаре их наиболее часто назначают при острых бронхитах [12, 13, 18]. При этом уже около 40 лет публикуются доказательные материалы о неэффективности АБ при острых вирусных бронхитах, и высказано мнение, что применение АБ детям до 3-х лет повышает риск развития бронхиальной астмы [12, 13]. Известно, что негативные эффекты АБ на иммунную систему опосредованы дисбиозами и снижением при этом положительных модулирующих свойств нормобиоты, включая гиповитаминозы, дисэлементозы, нарушение функции печени, увеличенное выведение Mg с мочой [18]. Последнее приводит к его дефициту, с которым связывают многие побочные эффекты АБ, в том числе и иммунодефициты, поскольку известно, что Mg, как и Zn, являются природными иммуномодуляторами [5, 6, 19]. Mg влияет на содержание и функции популяций иммунных клеток через синтез белков, участвующих в иммунном ответе. Наиболее выражена потеря Mg при использовании часто применяемых фторхинолонов, например ципрофлоксацина, немедленно и даже после их однократного введения. Дефицит витаминов естественно-

го происхождения «лишает» иммунную систему поддержки – положительного иммуномодулирующего их действия на синтез различных белков, ферментов, рецепторов, цитокинов, посредством которых работают и «общаются» все клетки [20]. Дефицит микроэлементов (неорганические незаменимые химические элементы, незаменимые жирные кислоты и аминокислоты [6, 18-20]), синтезируемых нормобиотой, также негативен для иммунных функций.

Этим в заключение подчеркнем, что нет лекарств, безразличных для иммунной системы, и нет «плохих» лекарств. Врач обязан сопоставлять поль-

зу и вред назначаемой терапии для каждого конкретного случая, оценивать клинически оправданную необходимость применения любых лекарств. Более 20 лет назад нами сформулированы **собственные принципы, алгоритм** лечения и реабилитации часто болеющих детей, исходя из представления о том, что патогенетической основой синдрома является нарушение регуляторных механизмов в иммунной системе [5, 6]. Указанные источники содержат подробную информацию и рекомендации по лечению ЧБД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безруков К.Ю., Стернин Ю.А. Часто и длительно болеющий ребенок. СПб: ИнформМед, 2011; 168 с. [Bezrukov K.Yu., Sternin Yu.A. Often and long-term sick child. St. Petersburg: InformMed, 2011; 168 p. (In Russ)].
2. Булгакова В.А. Композиции натуральных эфирных масел: место в профилактике и комплексной терапии острых респираторных инфекций у детей. Фарматека. 2016; 4 (317): 14-20. [Bulgakova V.A. Composition of natural essential oils: place in the prevention and comprehensive treatment of acute respiratory infections in children. Pharmateca. 2016; 4 (317): 14-20 (In Russ)].
3. Мамаева М.А. Часто болеющие дети: программа обследования, лечения и оздоровления (методическое пособие для врачей-педиатров). СПб.: Изд. дом СТЕЛЛА, 2011; 60 с. [Mamaeva M.A. Frequently ill children: a program of examination, treatment and recovery (a methodological guide for pediatricians). St. Petersburg: Publishing house STELLA, 2011; 60 p. (In Russ)].
4. «Вспышка первого звонка» или Лизобакт в профилактике и лечении ОРЗ у ослабленных и часто болеющих детей. Медицинский вестник. 2012; 25 (602): 12. [The "flash of the first call" or Lysobact in the prevention and treatment of acute respiratory infections in weakened and often ill children. Medical Bulletin. 2012; 25 (602): 12 (In Russ)].
5. Шабашова Н.В. Часто болеющие дети: причины, иммунопатогенез и иммунореабилитация. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2017; 139 с. [Shabashova N.V. Frequently ill children: causes, immunopathogenesis and immunorehabilitation. St. Petersburg: Publishing House of the Polytechnic University. 2017; 139 p. (In Russ)].
6. Шабашова Н.В. Иммулитет и иммуномодулирующие свойства лекарственных средств лечения и реабилитации часто болеющих детей. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2018; 128 с. [Shabashova N.V. Immunity and immunomodulatory properties of medicines for the treatment and rehabilitation of frequently ill children. St. Petersburg: Publishing House of the Polytechnic University. 2018; 128 p. (In Russ)].
7. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Пионкина Д.М. Новые возможности терапии ОРВИ. Фарматека. 2016; 14 (327): 57-61. [Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Pshonkina D.M. New possibilities of viral respiratory infections therapy. Pharmateca. 2016; 14 (327): 57-61 (In Russ)].
8. Шабашова Н.В. Современная иммунология для практического врача. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2020; 104 с. [Shabashova N.V. Modern immunology for a practical doctor. St. Petersburg: Publishing House of the Polytechnic University. 2020; 104 p. (In Russ)].
9. Шабашова Н.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Фролова Е.В. Общая переменная иммунонедостаточность у взрослых. Терапевтический архив. 2016; 88 (11): 94-98. [Shabashova N.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Frolova E.V. Common variable immunodeficiency in adults. Therapeutic Archive. 2016; 88 (11): 94-98 (In Russ)]. doi: 10.17116/terarkh2016881194-98
10. Шабашова Н.В. Иммулитет, иммунная система и профилактика инфекционных и неинфекционных заболеваний. СПб.: Изд-во Политехн. Ун-та. 2013; 119 с. [Shabashova N.V. Immunity, immune system and prevention of infectious and non-communicable diseases. St. Petersburg: Publishing House of the Polytechnic University. 2013; 119 p. (In Russ)].
11. Карпова Е.П., Тулунов Д.А. и др. О безопасности применения назальных сосудосуживающих препаратов в педиатрической практике. Российская ринология. 2014; 22 (1): 12-14. [Karpova E.P., Tulunov D.A., et al. About the safety of application of nasal decongestants in the practice of pediatricians. Russian rhinology. 2014; 22 (1): 12-14 (In Russ)]. doi.org/10.17116/otorino201883246-50
12. Чучалин А.Г., Абросимов В.Н. Кашель. 4-е изд., перераб. и доп. М., 2016; 160 с. [Chuchalin A.G., Abrosimov V.N. Cough. 4th ed., reprint. and additional. M., 2016; 160 p. (In Russ)].
13. Учайкин В.Ф., Нисевич Н.И., Шамшева О.В. Инфекционные болезни у детей. ГЭО-ТАР-Медиа. 2006. [Uchaykin V.F., Nisevich N.I., Shamsheva O.V. Infectious diseases in children. GEOTAR-Media. 2006 (In Russ)].

14. *Калашикова О.В., Челпаченко О.Е.* Клинико-лабораторная характеристика отравлений топическими деконгестантами у детей. Вестник ОГУ. 2013; 9 (158): 96-99. [Kalashnikova O.V., Chelpachenko O.E. Clinical and laboratory characteristics of poisoning with topical decongestants in children. Bulletin of OSU. 2013; 9 (158): 96-99 (In Russ)].
15. *Баранов А.А., Намазова Л.С., Сайткулов К.И., Смитиенко И.О.* Российский национальный педиатрический формуляр и рациональное использование лекарственных средств: современные подходы к обучению пациентов. Педиатрическая фармакология. 2006; 3 (6): 6-9. [Baranov A.A., Namazova L.S., Saitkulov K., Smitienko I. The Russian national pediatric formulary and rational use of medications: modern approaches to the patient education. Pediatric pharmacology. 2006; 3 (6): 6-9. (In Russ.)].
16. *Караулов А.В., Москалева Е.Ю., Радзевич А.Е.* Структура ДНК лимфоцитов периферической крови человека и их способность к репарации ДНК при иммунизации и некоторых заболеваниях. Иммунология. 1991; 2: 15-17. [Karaulov A.V., Moskaleva E.Yu., Radzevich A.E. The DNA structure of human peripheral blood lymphocytes and their ability to repair DNA during immunization and certain diseases. Immunology. 1991; 2: 15-17 (In Russ)].
17. *Щеплягина Л.А., Римарчук Г.В., Круглова И.В.* Новые технологии в лечении острых респираторных заболеваний у детей. Лекция для врачей. М., 2008; 28 с. [Shcheplyagina L.A., Rimarchuk G.V., Kruglova I.V. New technologies in the treatment of acute respiratory diseases in children. Lecture for doctors. Moscow, 2008; 28 p. (In Russ)].
18. *Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А. и др.* Антибиотикотерапия провоцирует дефицит магния. Что делать? Фарматека. 2016; 14 (327): 6-13. [Gromova O.A., Torshin I.Yu., Limanova O.A., et al. Antibiotic therapy provokes magnesium deficiency. What to do? Pharmateca. 2016; 14 (327): 6-13 (in Russ)].
19. *Wintergersta E.S, Maggini S., Hornigb D.H.* Contribution of selected and trace elements to immune function. Ann. Nutr. Metab. 2007; 51 (4): 301-23. doi: 10.1159/000107673
20. *Mora J. R., Iwata M., von Andrian U.H.* Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. Nat. Rev. Immunol. 2008; 8 (9): 685-98. doi: 10.1038/nri2378.

Поступила в редакцию журнала 06.10.2021

Рецензент: Е.Г. Головачева

ПЕРВИЧНАЯ ИДИОПАТИЧЕСКАЯ ПСЕВДОПЕЛАДА (БРОКА). КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*, Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), Кукушкина К.С. (аспирант, врач-дерматовенеролог)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Рубцующая алопеция – это необратимая потеря волос очагового характера, обусловленная замещением поврежденных структур кожи, волосяных фолликулов рубцовой тканью. В данной статье мы приводим клинический случай первичной идиопатической псевдопелады, выявленной у 58-летней женщины 2 месяца назад. В теменно-затылочной области обнаружены несимметричные очаги рубцового облысения, напоминающие по форме отпечатки следов на снегу. Согласно критериям диагностики, первичная идиопатическая псевдопеллада была подтверждена как трихоскопическим, так и гистологическим методами.

Ключевые слова: первичная идиопатическая псевдопеллада Брока, рубцующая алопеция, трихоскопия

PRIMARY IDIOPATHIC PSEUDOPELADE (BROCQ). CLINICAL CASE

Kornisheva V.G. (professor of the department), Avdeenko Y.L. (senior scientific researcher), Kukushkina K.S. (postgraduate student, dermatovenerologist)

North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov St. Petersburg, Russia

Scarring alopecia is an irreversible loss of focal hair caused by the replacement of damaged skin structures, hair follicles with scar tissue. In this article, we present a clinical case of primary idiopathic pseudopelade, detected in a 58-year-old woman 2 months ago. In the parietal-occipital region asymmetric foci of cicatricial baldness resembling the shape of footprints in the snow were found. According to the diagnostic criteria, the primary idiopathic pseudopelade was confirmed by both trichoscopic and histological methods.

Key words: primary idiopathic pseudopelade (Brocq), scarring alopecia, trichoscopy

ВВЕДЕНИЕ

Первичная идиопатическая псевдопеллада (или псевдопеллада Брока) – редкая, хроническая, медленно прогрессирующая форма рубцующей алопеции. Классическая псевдопеллада чаще всего поражает

женщин в возрасте от 30 до 50 лет. Очаги облысения небольшие, телесного цвета с неправильными границами. Такую клиническую картину описывают как «отпечатки ног на снегу». В отличие от красной волчанки и плоского лишая фолликулярный гиперкератоз и перифолликулярная или диффузная эритема отсутствуют. На ранних стадиях поражения при псевдопелладе вокруг волосяной воронки выявляется редкий или умеренный лимфоцитарный инфильтрат. Сальные железы полностью разрушаются. На более поздних стадиях заболевания фолликулярный эпителий становится атрофичным. Пораженные волосяные фолликулы часто окружены пластинчатым разрастанием фиброзной ткани до тех пор, пока волосяной фолликул окончательно не будет замещен фиброзной тканью. В отличие от красной волчанки и плоского фолликулярного лишая сеть эластических волокон сохранена [1,2].

Первичная идиопатическая псевдопеллада (ПИП) чаще встречается как конечная стадия других форм рубцующей алопеции, таких как плоский лишай и кожная красная волчанка. ПИП диагностируется путем исключения как клинически, так и с применением гистологического исследования; для нее нет стандартного лечения.

Описание клинического случая

Пациентка Т., 58 лет, обратилась в КВД по месту жительства с жалобами на наличие очагов на коже волосистой части головы, которые обнаружила парикмахер 2 месяца назад. До этого момента пациентка считала себя здоровой, проблем с волосами не было. Ни у кого из родных заболеваний волос не отмечено. Из анамнеза известно, что никакими кожными или системными заболеваниями не страдала.

При осмотре волосистой части головы в теменно-затылочной области выявлены несимметричные, местами сливающиеся очаги облысения, напоминающие по форме отпечатки следов на снегу. Кожа в очагах была со слабовыраженной атрофией, устья волосяных фолликулов не определялись (Рис. 1).



Рис. 1. В теменно-затылочной области – несимметричные, местами сливающиеся очаги облысения, напоминающие по форме отпечатки следов на снегу. Кожа в очагах со слабовыраженной атрофией, устья волосяных фолликулов не определяются.

По периферии очагов корни волос были все укреплены, обломанные волосы отсутствовали. Тест

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

на натяжение волос – отрицательный. Признаков воспаления в виде гиперемии, шелушения или папуло-пустулезных высыпаний не наблюдали. Рост волос на лице, туловище сохранен. Слизистые оболочки, ногти вне поражения. При микроскопии кожных чешуек из очагов поражения грибки не обнаружены. Методом иммуноферментного анализа большой проведено исследование крови на содержание антител к двуцепочечной ДНК (анти Ds DNA) IgG, результат – отрицательный (< 2 МЕ/мл). Методом непрямой реакции иммунофлуоресценции проанализирована кровь на антинуклеарный фактор на HEp-2 клетках, результат – отрицательный ($< 1:160$).

При трихоскопическом исследовании (дерматоскопия кожи волосистой части головы и волос) были выявлены следующие признаки: атрофия эпидермиса, отсутствие устьев волосяных фолликулов в очагах атрофии (Рис. 2).



Рис. 2. При трихоскопии выявлены: атрофия эпидермиса, в очагах облысения – отсутствие устьев волосяных фолликулов и волос.

Для проведения дифференциального диагноза с кожной красной волчанкой, плоским волосяным лишаем выполнено гистологическое исследование биоптата с краевой зоны очага поражения, которое показало атрофию эпидермиса, отсутствие волосяных фолликулов, сальных желез, фиброз, доходящий до подкожной клетчатки (Рис. 3). На основании полученных данных был поставлен диагноз «первичная идиопатическая псевдопелада (Брока)».

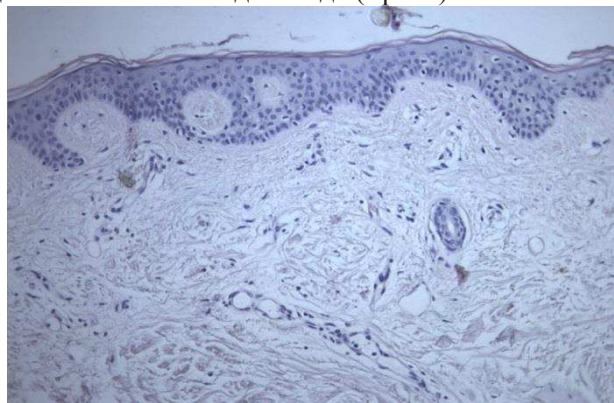


Рис. 3. Атрофия эпидермиса, отсутствие волосяных фолликулов, сальных желез, фиброз (окраска гематоксилин-эозин, $\times 4$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Рубцующая алопеция (РА) – это клинически разнообразная патология, которая приводит к стойкому и необратимому выпадению волос, часто вызывающему дискомфорт и психологическое расстройство. При рубцующей алопеции происходит необратимая потеря волос очагового характера, обусловленная замещением поврежденных структур кожи, волосяных фолликулов рубцовой тканью. Хотя в настоящее время имеются сообщения о возобновлении роста волос после лечения некоторых подтипов РА. Однако механизм, с помощью которого это происходит, остается неясным [3, 4]. Рубцующие алопеции подразделяются на первичные, при которых волосяной фолликул является основной целью поражения, и вторичные, обусловленные поражением кожи волосистой части головы. Заболевания, классифицируемые как вторичные РА, включают воспалительные и неопластические состояния, а также физические травмы, которые в первую очередь поражают дерму, а во вторую – вызывают разрушение волосяных фолликулов [3]. В феврале 2001 г. на совещании по рубцующим алопециям в Северной Каролине (США) была предложена рабочая классификация, согласно которой первичная РА была разделена на три основные группы.

Первая группа объединяет заболевания, при которых клеточный инфильтрат вокруг волосяных фолликулов состоит из лимфоцитов. Лимфоцитарная группа первичных РА включает кожную красную волчанку, плоский волосяной лишай, фронтальную фиброзирующую алопецию, синдром Graham Little, классическую псевдопеладу (Brocq), центральную центробежную рубцующую алопецию, характерную для афро-американцев, муцинозную алопецию, фолликулярный шиповидный декальвирующий кератоз.

Во вторую группу РА включены заболевания, при которых перифолликулярный инфильтрат состоит из нейтрофилов. К нейтрофильным первичным РА относятся декальвирующий фолликулит, абсцедирующий и подрывающий фолликулит и перифолликулит Гоффмана, который называется также расслаивающий или рассекающий целлюлит/фолликулит.

К третьей группе относят первичные РА, имеющие смешанный перифолликулярный инфильтрат: келоидный фолликулит или акне келоид, некротический фолликулит или некротические акне, эрозивный пустулезный дерматоз [1-3].

Клинически первичная рубцующая алопеция характеризуется прекращением роста и исчезновением волос в области облысения, что является результатом необратимого повреждения эпителиальных стволовых клеток, расположенных в зоне выпуклости волосяного фолликула. Это чаще всего происходит в результате воспаления (например, при аутоиммунном заболевании), которое иногда является результатом антигенной стимуляции клеток Лангерганса, встре-

чающегося в волосяной воронке, реже – в области перешейка. При первичной РА волосяной фолликул является основной целью аутоагрессивного иммунитета и подразделяется на группы в зависимости от преобладающего перифолликулярного воспалительного типа клеток. Ни при одной из этих форм РА неясно, почему волосяные фолликулы начинают привлекать тот или иной инфильтрат, поэтому остановить это воспаление часто сложно. Здоровые эпителиальные стволовые клетки волосяного фолликула, находясь в иммунологически «привилегированной» нише, защищают от воспалительного нападения. При нарушении этой защиты формируется рубцующая алопеция [5, 6].

Среди группы лимфоцитарных первичных РА выделяют псевдопелладу Брока (ПБ) – это редкое идиопатическое, медленно прогрессирующее заболевание волос, приводящее к формированию на теменной области слегка вдавленных участков рубцующего облысения неправильных очертаний. У представленной пациентки очаги имели типичную локализацию в теменной области и форму облысения в виде «следов на снегу». До сих пор существуют противоречивые мнения относительно того, является ли ПБ самостоятельным заболеванием или конечной стадией ряда рубцующих алопеций [2, 6]. Название этому заболеванию впервые дал в 1885 году Луи-Анн-Жан Брок (Louis-Anne-Jean Brocq). Пелладе – французское слово, обозначающее очаговую алопецию. Псевдопеллада означает, что клинически это поражение напоминает очаговую алопецию, но в отличие от очаговой алопеции облысение стойкое из-за формирования невоспалительной прогрессирующей рубцующей алопеции неизвестного происхождения. При первичной идиопатической псевдопелладе начинается аутоиммунный процесс, и перифолликулярные лимфоцитарные инфильтраты повреждают стволовые клетки, находящиеся в зоне выпуклости, что приводит к необратимому выпадению волос. Идиопатические случаи псевдопеллады составляют примерно 7-10% среди первичных РА [6]. Однако при углубленном обследовании пациентов с ПБ рядом авторов были выявлены у них другие формы первичных РА, т.о. псевдопеллада чаще встречалась как конечная стадия предшествующих заболеваний [7].

В основном признаются два типа первичной идиопатической псевдопеллады: 1) конечная стадия первичных рубцовых алопеций (например, плоского волосяного лишая, кожной красной волчанки), патофизиология которых соответствует основному процессу болезни; 2) первичная идиопатическая псевдопеллада, патофизиология которой неизвестна [2, 6]. Braun-Falco O. и соавторы (1986) на основании клиники, гистопатологии дали критерии диагностики ПИП [6].

У представленной нами больной клинически признаков воспаления не выявили. Несимметричные

очаги рубцового облысения напоминали по форме отпечатки следов на снегу. Согласно критериям диагностики, первичная идиопатическая псевдопеллада была подтверждена как трихоскопическим, так и гистологическим методами. В отличие от красной волчанки и плоского фолликулярного лишая сеть эластических волокон была сохранена.

Отметим, что у трети пациентов диагностика рубцующей алопеции представляет собой проблему для дерматологов. На поздних стадиях заболевания, когда нет возможности оценить тип воспалительного инфильтрата, показана прямая иммунофлуоресценция биоптата [7]. При выполнении биопсии на ранних этапах течения заболевания возможность постановки правильного диагноза возрастает. Важно помнить, что биоптат следует брать с пограничной зоны очага рубцовой алопеции, где сохранены волосы, и идет активный процесс воспаления с подкожно-жировой клетчаткой, чтобы захватить весь фолликулярный блок с анагеновыми фолликулами. Дифференциальный диагноз ПИП следует проводить с кожной красной волчанкой, плоским волосяным лишаем.

При дискоидной красной волчанке ведущим, а иногда и единственным, симптомом на коже волосистой части головы является рубцовая атрофия. Шелушение и эритема выражены умеренно и наблюдаются по периферии очагов алопеции. При диссеминированной форме атрофия более поверхностная, очаги меньше по величине, но более многочисленные [8]. При патогистологическом исследовании для красной волчанки свойственны следующие признаки: гиперкератоз, атрофия эпидермиса, гидропическая дистрофия базального слоя, очаговый перифолликулярный и периваскулярный лимфоцитарный инфильтрат, базофильная дистрофия коллагена, увеличение отложения дермального муцина. Для патогистологической картины плоского фолликулярного лишая характерны: фолликулярный гиперкератоз, утолщение зернистого слоя, гидропическая (вакуольная) дистрофия фолликулярного эпителия и мононуклеарно-клеточный инфильтрат между фолликулярным эпителием и дермой, который проникает в наружное эпителиальное влагалище [8]. При ПИП выявляется глобулярное отложение (обычно IgM) в области фолликулярного эпителия волосяной воронки. Линейное отложение свойственно для красной волчанки. Это различие является важным, так как при этих дерматозах клиника рубцовой алопеции сходная, и в постановке правильного диагноза главная роль отводится гистологическому исследованию.

Для первичной рубцующей алопеции характерно постоянное разрушение волосяных фолликулов с прогрессивным отложением коллагена, часто связанное с потерей сальных желез. При рубцовом облысении воспалительные инфильтраты локализуются в верхней части волосяного фолликула, захватывая выпуклую зону, к которой присоединяется мышца, под-

нимающая волос. Эта часть наружного волосяного влагалища является местом расположения плюрипотентных стволовых клеток волосяного фолликула, которые отвечают за обновление верхней части волосяного фолликула и сальных желез. Кроме того, они дают стимул к началу новой фазы анагена. Развитие рубцевания является следствием повреждения стволовых клеток волосяного фолликула, дисфункция самосохранения которых может быть связана с повышением аутоиммунитета за счет провоспалительных цитокинов и генетической / экологической предрасположенности [7].

Для постановки диагноза первичной рубцующей алопеции больным показано проведение диагностической биопсии. Биоптат следует брать с пограничной зоны очага РА, где сохранены волосы, и идет

активный процесс воспаления с подкожно-жировой клетчаткой, чтобы захватить весь фолликулярный блок с анагеновыми фолликулами. Вертикальное сечение биоптата предоставляет информацию о состоянии эпидермиса. Горизонтальные сечения дают возможность оценки состояния большого количества фолликулов, плотности роста волос, соотношения количества телогеновых и пушковых волос и анагеновых к телогеновым волосам, а также расположение любых воспалительных инфильтратов [8].

К настоящему времени рандомизированные двойные слепые клинические испытания по лечению первичных рубцующих алопеций не проводились, поэтому терапия в основном основана на серии случаев и личном опыте врачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Корнишева В.Г., Ежков Г.А.* Патология волос и кожи волосистой части головы. СПб.: Фолиант, 2012: 197 с. [Kornisheva V.G., Yezhkov G.A. Pathology of hair and skin of the scalp. St. Petersburg: Foliant, 2012: 197 p. (In Russ)].
2. *Корсунская И.М., Гусева С.Д., Невозинская З.А.* К вопросу о псевдопелладе Брока. *Клин. Дерматол. и Венерол.* 2015; 14 (3): 17-21. [Korsunskaya I.M., Guseva S.D., Nevozinckaya Z.A. On Brocq pseudopelade. *Clin Dermatol. and Venerol.* 2015; 14 (3): 17-21 (In Russ)]. doi.org/10.17116/klinderma201514317-21
3. *Fanti P.A., et al.* Cicatricial alopecia. *G. Italiano di Dermatol. e Venereol.* 2018; 153 (2): 230-242. doi: 10.23736/S0392-0488.18.05889-3
4. *Poliner A.D., Tosti A.* Hair regrowth in cicatricial alopecia: A literature review. *J. Dermatol.* 2021; 48 (8): 1113-1128. doi: 10.1111/1346-8138.15902.
5. *Harries M.J., Meyer K.C., Chaudhry I.H., et al.* Does collapse of immune privilege in the hair-follicle bulge play a role in the pathogenesis of primary cicatricial alopecia? *Clin. Exp. Dermatol.* 2010; 35: 637-644. doi.org/10.1111/j.1365-2230.2009.03692.x
6. *Diwan N., Gohil S., Nair P.A.* Primary idiopathic pseudopelade of Brocq: five case reports. *Int. J. Trichology.* 2014; 6 (1): 27-30. doi.org/10.4103/0974-7753.136759
7. *Villablanca S., et al.* Primary scarring alopecia: clinical-pathological review of 72 cases and review of the literature. *Skin Appendage Disord* 2017; 3: 132-143. doi: 10.1159/000467395
8. *Sperling L.C.* An atlas of hair pathology with clinical correlations. The Parthenon Publishing Group. 2005: 275 p. ISBN 9781841847337

Поступила в редакцию журнала 09.09.2021

Рецензент: Л.П. Котрехова

ПОИСК И РЕКОНСТРУКЦИЯ БЕЛКОВ С ДОМЕНАМИ, УНИКАЛЬНЫМИ ДЛЯ ЦАРСТВА *FUNGI*, КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ (АНТИГЕННЫХ) МАРКЕРОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭКСПРЕСС-ТЕСТ-СИСТЕМ ИНДИКАЦИИ МУКОРОМИЦЕТОВ В БИОМАТЕРИАЛАХ ЧЕЛОВЕКА

Рябинин И.А. (м.н.с., ассистент кафедры)*, Аак О.В. (в.н.с.), Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой)

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

В представленной работе с помощью биоинформационного метода проведен поиск белковых антигенов – потенциальных маркеров для создания тест-систем экспресс-диагностики мукомикоза. В качестве основного критерия поиска, обеспечивающего специфичность кандидатных полипептидов и минимизирующего вероятность ложноположительного «срабатывания» тест-систем с метаболитами других микроорганизмов и тела человека, выбрано наличие в структуре белков доменов, уникальных для царства *Fungi*. Определен перечень таких доменов, обнаружены несущие их белки-представители, а с использованием их аминокислотных последовательностей найдены гомологи в протеомах мукомикозов. Всего для 14-ти доменов обнаружено 8 белков-носителей у представителей подотдела *Mucoromycotina*. Дальнейший отбор проведен по дополнительным критериям: (1) принадлежность к протеому и/или наличие гомологов среди видов – возбудителей мукомикоза; (2) клеточная локализация; (3) отсутствие гомологов среди белков организма человека. Для реализации второго критерия у кандидатных белков, где это возможно, определили межбелковые взаимодействия. В результате работы выявлены «ядерный» белок – фактор транскрипции *Rhizopus microsporus*, перспективный для получения люминесцирующих антител с целью выявления мукомикозов в гистологических срезах, а также цитоплазматические белки – фактор полисахаридного экспорта *Lichtheimia corymbifera* и механоселективный ионный канал *Mucor circinelloides*, перспективные для обнаружения в жидких биосубстратах организма человека. В последнюю группу растворимых маркеров после дополнительного изучения может также войти фактор несовместимости гетерокарионов *Mucor circinatus*.

Ключевые слова: мукомикоз, протеомика, биоинформатика, белковые антигены, структура белка

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

THE REVEALING AND RECONSTRUCTION OF PROTEINS WITH DOMAINS UNIQUE FOR THE KINGDOM *FUNGI* AS PROSPECTIVE IMMUNOCHEMICAL (ANTIGENIC) MARKERS FOR CREATION OF EXPRESS-TEST-SYSTEMS FOR MUCOROMYCETES INDICATION IN HUMAN BIOMATERIALS

Ryabinin I.A. (junior scientific researcher, assistant of the department), Aak O.V. (leading scientific researcher), Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

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

In the presented work the search for protein antigens as potential markers for creating test-systems for express-diagnostics of mucormycosis was carried out using bioinformatic methods. The presence in the protein structure of domains unique to the kingdom *Fungi* was chosen as the main search criterion that ensures the specificity of candidate polypeptides and minimizes the likelihood of false positive "triggering" of test-systems with metabolites of other microorganisms and the human body. The list of such domains has been determined, protein-representatives carrying them have been found, and using their amino acid sequences, homologues have been found in the proteomes of mucoromycetes. In total, for 14 domains, 8 carrier proteins were found in representatives of the *Mucoromycotina*. Further selection was carried out according to additional criteria: (1) belonging to the proteome and / or the presence of homologues among the species – the causative agents of mucormycosis; (2) cellular localization; (3) the absence of homologues among the proteins of the human body. To implement the second criterion, protein-protein interactions were determined in candidate proteins, where possible. As a result of the work, a "nuclear" protein-transcription factor of *Rhizopus microsporus*, promising for the production of luminescent antibodies in order to detect mucoromycetes in histological sections, was revealed; as well as cytoplasmic proteins – the polysaccharide export factor of *Lichtheimia corymbifera* and the mechanoselective ion channel of *Mucor circinelloides*, which are promising for detection in liquid biosubstrates of the human organism. The latter group of soluble markers, after additional study, may also include the heterokaryon incompatibility factor of *Mucor circinatus*.

Key words: mucormycosis, proteomics, bioinformatics, protein antigens, protein structure

ВВЕДЕНИЕ

Мукомикоз – наиболее тяжелая нозоформа инвазивных микозов, отличающаяся высокой летальностью, ограниченным набором эффективных этиотропных средств, а в ряде случаев – необходимостью

применения агрессивных тактик хирургического пособия. Пандемия COVID-19 показала, что мукоромицеты в ряде случаев могут выступать опасными ассоциантами вируса SARS-CoV-2 при поражении органов дыхания [1, 2]. Традиционные средства лабораторной диагностики мукоромикоза – микроскопическое и культурально-микологическое исследование биоматериала, даже с применением наиболее современных средств, имеют ограниченную эффективность. Так, диагностическая чувствительность культурального исследования не превышает 50% [3, 4]. Поэтому не вызывает сомнений актуальность разработки альтернативных средств диагностики, в том числе основанных на методах амплификации нуклеиновых кислот (PCR, LAMP, NASBA, NGS с пробой биоматериала), а также иммунологических методах (иммуноферментный анализ, иммунохемилюминесценция, иммунохроматография). ПЦР-тест-системы для экспресс-диагностики мукоромикоза интенсивно разрабатываются рядом исследовательских коллективов, в том числе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина [5, 6]. В отношении антигенных маркеров мукоромицеты исторически оказались более сложными объектами, чем ряд других микромицетов. Так, высокую диагностическую эффективность показали приемы определения маннанового антигена для распознавания инвазивного кандидоза, а также галактоманнана – для инвазивного аспергиллеза. Способы получения полисахаридных грибковых антигенов и их свойства детально разработаны и изучены научными школами заслуженных деятелей науки П.Н. Кашкина и Н.П. Елинова (*Кашкин П.Н.* Медицинская микология, 1962; *Елинов Н.П.* и др. Способ получения маннана. Авторское свидетельство SU 580214 A1, 1977; *Елинов Н.П.* Основы биотехнологии. 1995; *Елинов Н.П.* Противовоспалительные, антисептические и химиотерапевтические средства, 2000). У мукоромицетов попытки найти подходящий полисахаридный маркер долгое время были безрезультатными, однако в литературе появилось сообщение об успешном выявлении в биосубстратах фукоманнана клеточной стенки мукоромицетов при модельной инфекции [7]. Будущие исследования покажут реальную диагностическую ценность такого приема. В качестве альтернативного выхода из сложившейся ситуации имеет смысл рассмотреть обнаружение не полисахаридных, а белковых антигенов. В исторической перспективе комплексные секретлируемые белковые экзоантигены использовали для серодиагностики особо опасных микозов методами встречной иммунодиффузии и перекрестного иммуноэлектрофореза (Ray J.G., 1967; Kleger B., Kaufman L., 1973). В нашем оригинальном исследовании ранее для осуществления поиска кандидатного белкового антигенного маркера предложены адгезины мукоромицетов [8]. Важным аспектом выбора диагностических

маркеров является их уникальность, специфичность для конкретного таксона, группы возбудителей, что гарантирует минимизацию ложноположительных ответов исследования. В продолжении ранее проведенного анализа в данной работе поиск новых белковых антигенов проведен не по принципу их биологической функции, а исходя из принципа специфичности, что обусловлено примененным оригинальным критерием отбора кандидатных белков.

Цель исследования: выполнить поиск и реконструкцию белков с доменами, уникальными для царства *Fungi*, а также определить их гомологи среди мукоромицетов, имеющих медицинское значение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск царство-специфичных доменов в соответствии с целью работы выполнили в базе данных Pfam, а белковых последовательностей, у которых распознаны такие домены, – в UniProt. При использовании UniProt предпочтение в выборе отдавали тем последовательностям, которые принадлежат микромицетам, имеющим медицинское значение, либо родственным возбудителям микозов. Для воссоздания вторичной и третичной структуры применили редактор Swiss-Model [9, 10], при отображении результатов реконструкции использовали встроенный алгоритм NGL Viewer (построение «веревочной» диаграммы с маркированием типов вторичной структуры). Если при реконструкции получали несколько моделей для нескольких фрагментов изучаемого белка, то в редакторе Swiss-Model получали их суперпозицию. В тех случаях, когда суперпозиция была неинформативна (альтернативные модели для одного и того же фрагмента или белка целиком либо смоделированные фрагменты белковой молекулы находятся в молекуле на большом расстоянии), полученные модели выкопировали по отдельности. Фиксировали стандартные показатели точности реконструкции (GMQE, QMEAN₄). Редактирование полученных диаграмм провели в XnView 2.35 и InfanView 4.38. Поиск гомологов данных белков у мукоромицетов осуществляли с применением ресурса protein-BLAST. В работе использовали белковые последовательности, доступные через ресурс NCBI и депонированные под №№
tr|A0A2G4T2Z0|A0A2G4T2Z0_RHIZD;
tr|A0A3A2Z4F7|A0A3A2Z4F7_9EURO;
sp|Q4WLB9|CFMA_ASPFU;
tr|O93865|O93865_CANAX;
tr|A0A5N6F3K6|A0A5N6F3K6_9EURO;
tr|A0A0J5Q677|A0A0J5Q677_ASPFM;
tr|A0A1L2F5J1|A0A1L2F5J1_9AGAM;
tr|A0A319C3W1|A0A319C3W1_9EURO;
sp|P78742|BB11_SCHCO; sp|Q6U1Z4|CMT1_CRYNJ;
tr|A8N2S9|A8N2S9_COPC7;
tr|A0A0J5Q677|A0A0J5Q677_ASPFM;
KAG2218775.1; OBZ89654.1; EIE88714.1;

CDH56447.1; KAG1437500.1; OZJ01513.1; RUS35244.1. Моделирование межбелковых взаимодействий выполнили в редакторе STRING 11.5 с дополнительным анализом функциональных свойств белковых доменов с помощью базы SMART. Для каждого найденного белка-носителя уникального домена в ресурсе Protein BLAST выявляли разнообразие гомологов у других мукоромицетов, исключая тот род, к которому принадлежит первично установленный обладатель такого белка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты анализа в кратком виде представлены в таблице 1 (итоги первичного поиска и показатели качества построения структуры белковой молекулы) и таблице 2 (гомологи определенных белков у мукоромицетов). А результаты структурной реконструкции белков-носителей уникальных доменов, найденных при первичном поиске, опубликованы нами ранее [11]. С картинками реконструкции можно ознакомиться по электронной ссылке: https://mycology.szgmu.ru/images/files/2021/posters_2021/28_РябининИА_Структурная.pdf

Таблица 1

Белковые домены, специфичные для грибов, примеры белков, несущие такие домены, показатели точности их структурной реконструкции

Домены	№ в Pfam	Пример в Uni-Prot	Белок – представитель и его продукт	GM QE	QM EAN	Оценка точности модели
Домен фактора транскрипции 1	PF04082	A0A2G4T2Z0	Фактор транскрипции, специфичный для грибов (<i>Rhizopus microsporus</i>)	0,40	-5,79	-
Домен фактора транскрипции 2	PF11951	B8N348	Фактор транскрипции, специфичный для грибов NosA ¹ (<i>Aspergillus flavus</i>)	0,05 0,02	-2,56 -1,66	+ +
<i>Candida</i> -специфичные агглютинин-подобные белки	PF05792	O93865	Агглютинин-подобный белок ¹ (<i>Candida albicans</i>)	0,18	0,14	+
Фукозо-специфичный лектин	PF07938	Q4WW81	Фукозо-специфичный лектин (<i>Aspergillus fumigatus</i>)	0,98	0,07	+
Лектин плодового тела	PF07367	A0A5M3ZGS6	Белок типа лектина плодового тела (<i>Aspergillus terreus</i>)	0,68	-1,98	+
Домен, ассоциированный с протеинкиназами	PF16797	A0A319C3W1	Сериновая / треониновая протеинкиназа ¹ (<i>Aspergillus uvarum</i>)	0,08 0,07	-2,79 -0,99	+ +
Домен,	PF17	G3Y146	Протеинкиназа ¹	0,19	-5,14	-

ассоциированный с протеинкиназами	667	(EHA23285.1)	(<i>Aspergillus niger</i>)			
N-концевой домен «Goodbye»	PF17109	A0A254UFR7	Дезаминаза ^{1,2} (<i>Aspergillus niger</i>)	0,23	-3,78	+
Домен несовместимости гетерокарионов	PF06985	A2QF15	Белок типа несовместимости гетерокариона ¹ (<i>Aspergillus niger</i>)	0,01 0,02	-3,50 -6,06	+ -
Белок регуляции прионной инфекции	PF14479	A0A318ZQU1	Белок, участвующий в регуляции прионной инфекции ¹ (<i>Aspergillus saccharolyticus</i>)	0,24 0,07	-2,06 -6,08	+ -
CFEM-домен	PF05730	Q4WLB9	Гликозилфосфатидилинозитол-связывающий белок-гемофор cfmA (<i>Aspergillus fumigatus</i>)	0,08	-4,99	-
Домен криптококковых маннозилтрансфераз	PF11735	Q6U1Z4	α-1,3-маннозилтрансфераза CMT1 ¹ (<i>Cryptococcus neoformans</i>)	0,21	-8,27	-
C-терминальный гомеодомен 1	PF12737	A8N2S9	Белок 1-β, ассоциированный с половым процессом ¹ (<i>Coprinopsis cinerea</i>)	0,04 0,03	-2,45 0,08	+ +
Домен грибковых феромонов	PF08015	P78742	Феромон BPP 1, ассоциированный с половым процессом (<i>Schizophyllum commune</i>)	0,09	-2,95	+

Примечания: (1) молекула реконструирована частично; (2) для дезаминазы *A. niger* (A0A254UFR7) воссоздали 4 фрагмента, для краткости приведены данные по первому, который реконструирован наиболее достоверно. «GMQE» и «QMEAN» – показатели точности реконструкции в редакторе Swiss-Model.

В результате проведенного поиска обнаружили 14 уникальных доменов. Подбор белков-представителей удалось провести среди родов аскомицетов, имеющих медицинское значение – *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Candida*, дрожжевого базидиомицета рода *Cryptococcus*, а также мицелиальных базидиомицетов *Schizophyllum commune* (условно-патогенный) и *Coprinopsis cinerea* (непатогенный). Белки с установленными уникальными доменами имеют различные, не связанные общим процессом биологические функции. Далее приведена их краткая характеристика по данным Pfam. Так, домены PF04082 и PF11951 встречаются в факторах транскрипции и грибов, что отражено в их названии. Домены PF05792, PF07938 и PF07367 являются функ-

циональной основой грибковых лектинов – адгезивных молекул; первый из них специфичен для *Candida* spp., а последний встречается в плодовых телах базидиомицетов. Такие лектины обладают инсектицидной активностью и, по-видимому, защищают плодовое тело от вредителей. Примечательно, что белок с доменом типа лектина плодового тела, которые считают типичными для высших базидиомицетов, удалось обнаружить у возбудителя аспергиллеза *Aspergillus terreus*. Белки с доменами PF06985 (белок несовместимости гетерокарионов у аскомицетов), PF12737 и PF08015 (преимущественно белки базидиомицетов, вероятно, связаны с распознаванием партнера) участвуют в половых процессах грибов. Два домена связаны с протеинкиназами: PF16797 характерен для С-концевой части септин-ассоциированных киназ дрожжей, тропен к кислым фосфолипидам, а PF17667 можно встретить в структуре различных протеинкиназ и высших грибов – аскомицетов и базидиомицетов. Домен PF11735, как полагали ранее, был характерен исключительно для α -1,3-маннозилтрансфераз *Cryptococcus* spp., где они участвуют в формировании капсулы. Настоящее исследование показало, что белки с таким доменом могут быть и у других микромицетов. Домен PF05730, или иначе CFEM-домен (домен, обогащенный цистеином), типичен для ряда белков, ассоциированных с цитоплазматической мембраной клетки гриба, внеклеточными липопротеидами, а в функциональном отношении – с патогенным действием гриба. Показано, что типы белков с CFEM-доменом более разнообразны у фитопатогенных грибов, чем у возбудителей микозов человека и животных; есть они и у грибов-аллергопродуцентов [12]. N-концевой домен PF14479 участвует в регуляции течения прионной инфекции у ряда грибов. Функция домена PF17109 («Goodby-домен») точно не установлена, по всей вероятности, он – представитель обширной группы «DUF» (домены неизвестной функции) – аминокислотные мотивы, закономерно повторяющиеся в структуре различных белков, но не снабженные точной функциональной характеристикой. Однако известно, что «Goodby-домен» входит в состав так называемых STAND-белков у микромицетов (англ. Signal Transduction ATPases with Numerous Domains, многодоменные сигнал-передающие АТФазы). Роли STAND-белков чрезвычайно многообразны – это регуляторы многих процессов, включая управление транскрипцией генов, клеточный ответ на инфекцию и запуск апоптоза; они встречаются у всех клеточных организмов – бактерий, архей и эукариот (Leipe D.D., et al. J. Mol. Biol., 2004).

Из 14-ти найденных на первом этапе белков у 9 (64,3%) реконструкцию удалось провести не для всей глобулы, а только для фрагментов. Этот эффект можно связать с наличием у реконструируемых бел-

ковых глобул такого типа строения, который еще не охватили рентгеноструктурным анализом. Также опосредованно данное обстоятельство указывает на очевидную антигенную уникальность исследуемых белков, для которых не нашли полных совпадений в базе оцифрованных кристаллографических структур Swiss Model Template Library. Аналогичную ситуацию наблюдали в отношении 4-х белков, модели которых получены с невысокими показателями достоверности (в соответствующей графе таблицы «-»).

В результате поиска белков-носителей 14-ти уникальных доменов среди мукоромицетов (подотдел *Mucoromycotina*) удалось обнаружить 8 представителей, один из них (фактор транскрипции) был найден еще на первом этапе поиска в протеоме *Rhizopus microsporus* (табл. 2).

Таблица 2

Белки мукоромицетов с доменами, уникальными для царства *Fungi*

№	Домены, уникальные для микромицетов	Белки-носители уникальных доменов у мукоромицетов
1	Домен фактора транскрипции 1	Фактор транскрипции, специфичный для грибов <i>Rhizopus microsporus</i> (обнаружен при первичном поиске)
2	Домен фактора транскрипции 2	нет близких совпадений
3	<i>Candida</i> -специфичные агглютинин-подобные белки	нет близких совпадений
4	Фукозо-специфичный лектин	нет близких совпадений
5	Лектин плодового тела	нет близких совпадений
6	Домен, ассоциированный с протеинкиназами	Гипотетический белок <i>Rhizopus delemar</i>
7	Домен, ассоциированный с протеинкиназами	Гипотетический белок <i>Jimgerdemannia flammicorona</i>
8	N-концевой домен «Goodbye»	Механоселективный ионный канал 10 <i>Choanephora cucurbitarum</i>
9	Домен несовместимости гетерокарионов	Гипотетический белок <i>Mucor circinatus</i>
10	Белок регуляции прионной инфекции	Гипотетический белок <i>Bifiguratus adelaidae</i>
11	CFEM-домен	нет близких совпадений
12	Домен криптококковых маннозил-трансфераз	Белок полисахаридного экспорта <i>Lichtheimia corymbifera</i>
13	C-терминальный гомеодомен 1	Гипотетический белок <i>Rhizopus delemar</i>
14	Домен грибковых феромонов	нет близких совпадений

Результаты их структурной реконструкции показаны на рисунках 1, 2 и 3. Среди мукоромицетов, имеющих такие белки, – представители медицински значимых родов *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Mucor*, а также трех родов, медицинское значение которых не было показано (*Bifiguratus*, *Choanephora* и *Jimgerdemannia*). Однако такие микроскопические грибы имеют известное экологическое и хозяйственное значение, а именно: *Choanephora cucurbitarum* – фи-

топатоген, известный вредитель тыквенных [13]; *Jimgerdemannia flammicorona* – симбионт растений семейства сосновых, с которыми отмечено формирование эктомикоризы на стадии саженца; кроме того, спорокарпами джимгердемании питаются некоторые лесные грызуны [14]. *Bifiguratus adelaidae*

T.J. Torres-Cruz & A. Porras-Alfaro – недавно открытый мукокомицет (2017 г.), отличающийся способностью к диморфизму [15], его изоляты и генетический материал получали из почвы сосновых лесов.

С-концевой фрагмент (гомогептамер) механоселективного ионного канала 10
Choanephora cucurbitarum

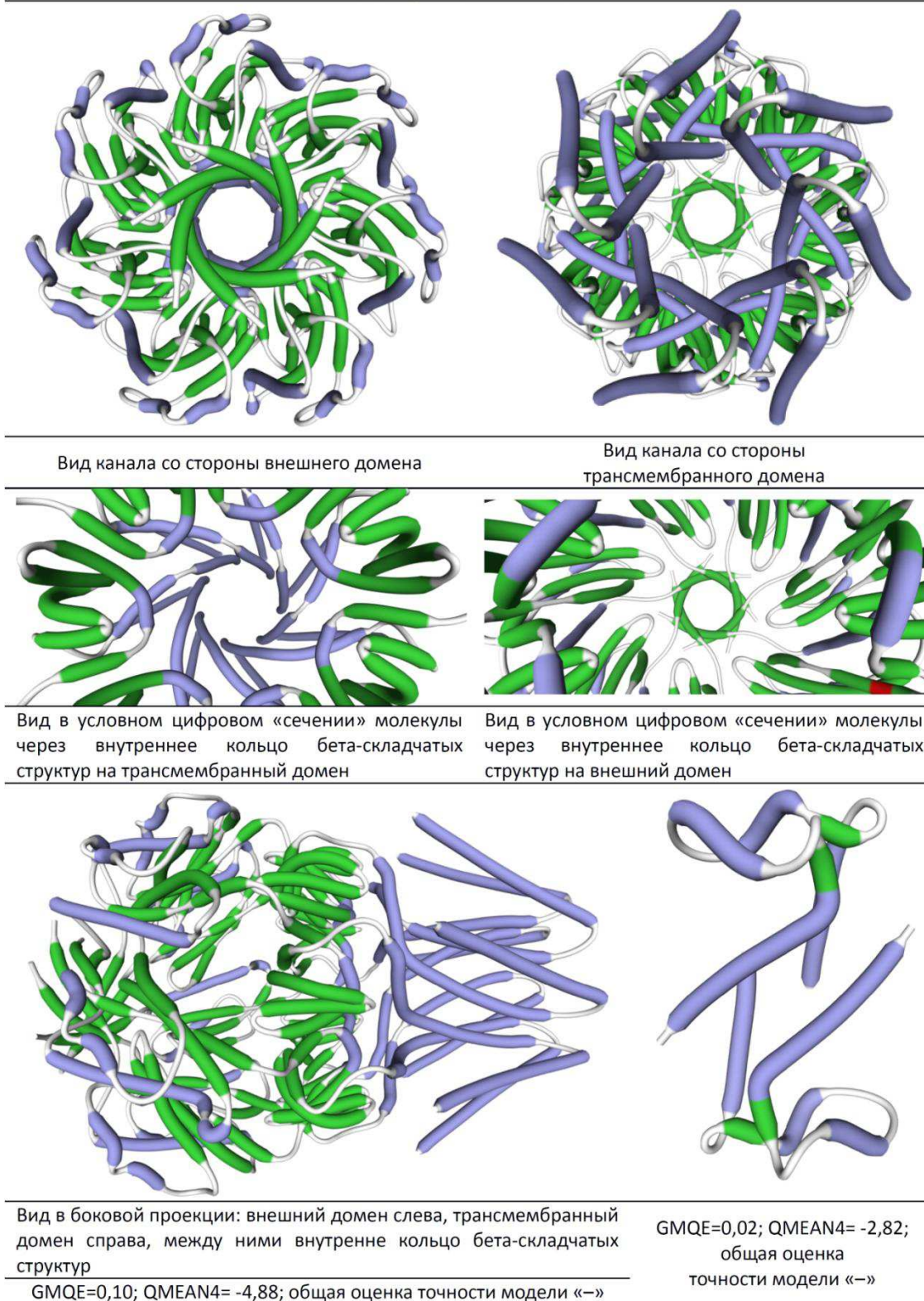


Рис. 1. Результаты структурной реконструкции белков мукокомицетов с доменами, уникальными для царства *Fungi*. Часть 1.

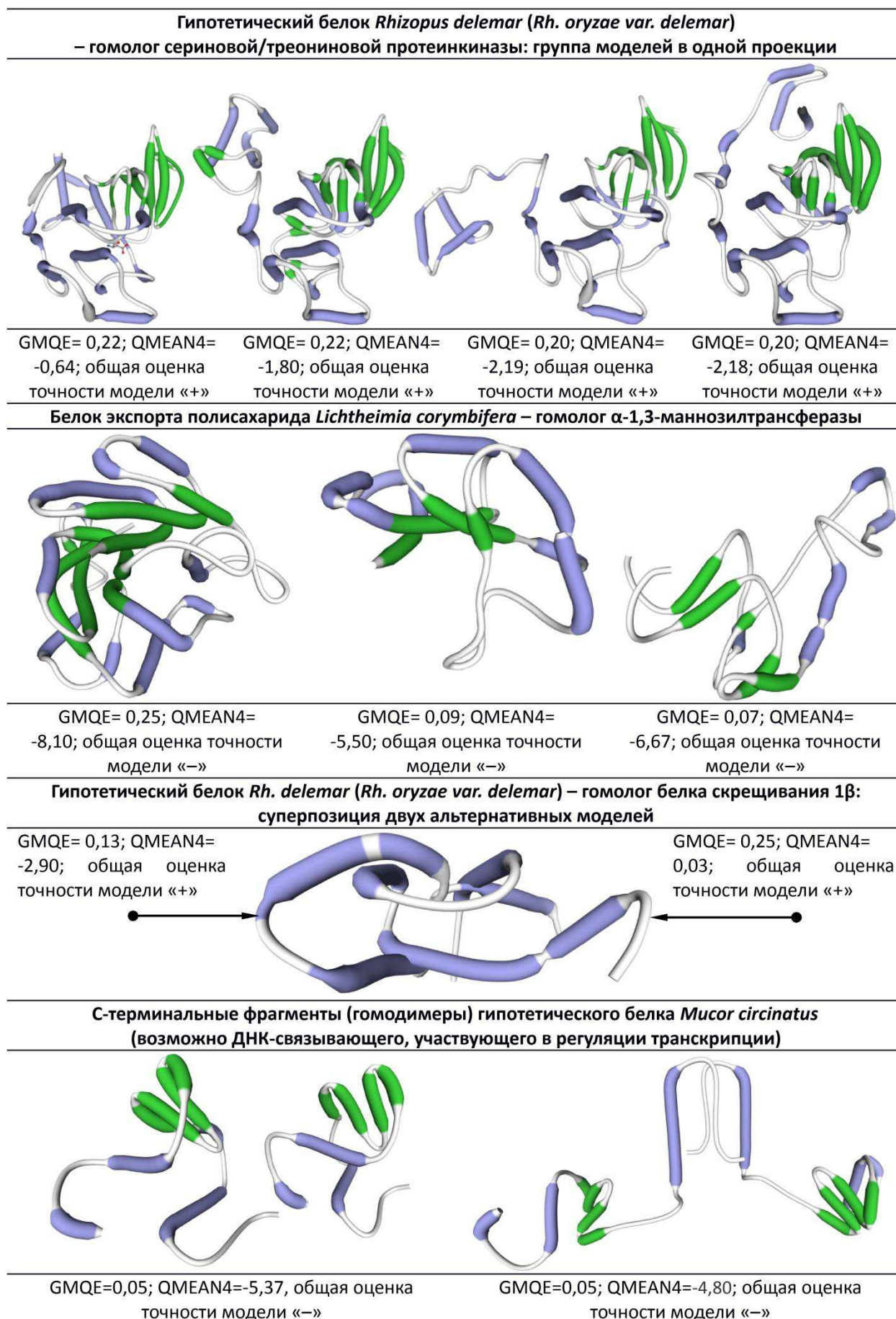
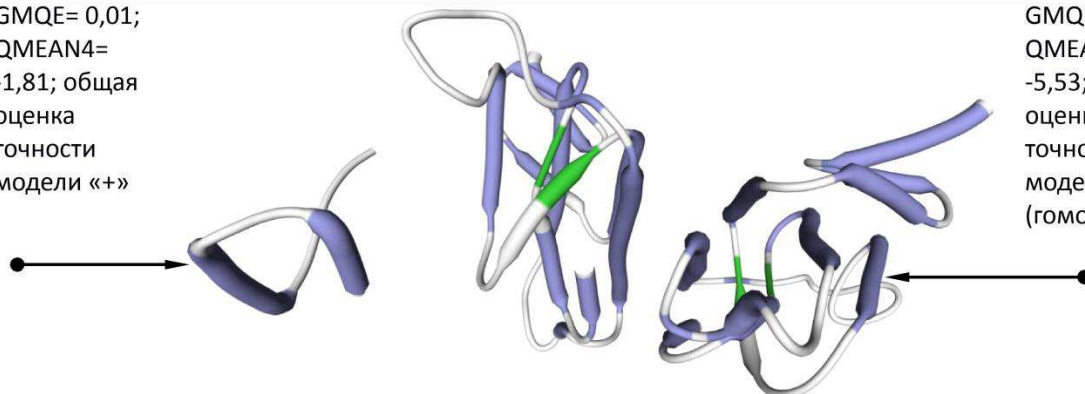


Рис. 2. Результаты структурной реконструкции белков мукоромицетов с доменами, уникальными для царства *Fungi*. Часть 2.

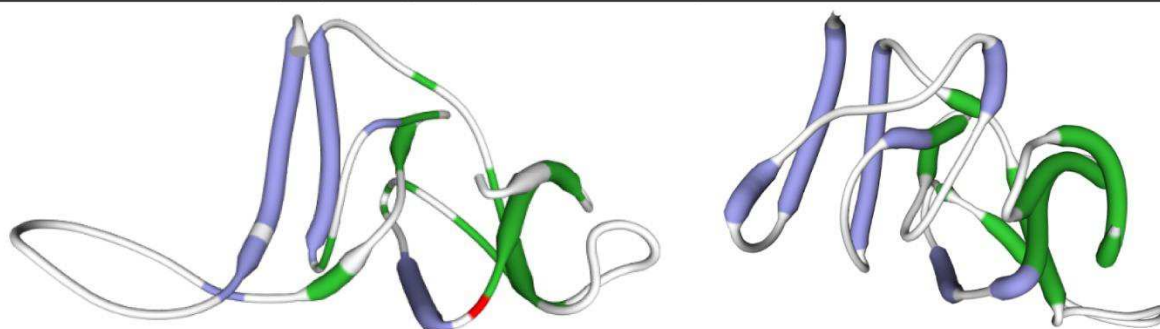
Фрагменты гипотетического белка *Bifiguratus adelaidae* – гомолога белка, участвующего в регуляции прионной инфекции: суперпозиция

GMQE= 0,01;
QMEAN4=
-1,81; общая
оценка
точности
модели «+»



GMQE= 0,13;
QMEAN4=
-5,53; общая
оценка
точности
модели «-»
(гомономер)

Фрагмент гипотетического белка *Jimgerdemannia flammicorona* – гомолог протеинкиназы *Aspergillus niger*: представлены альтернативные модели

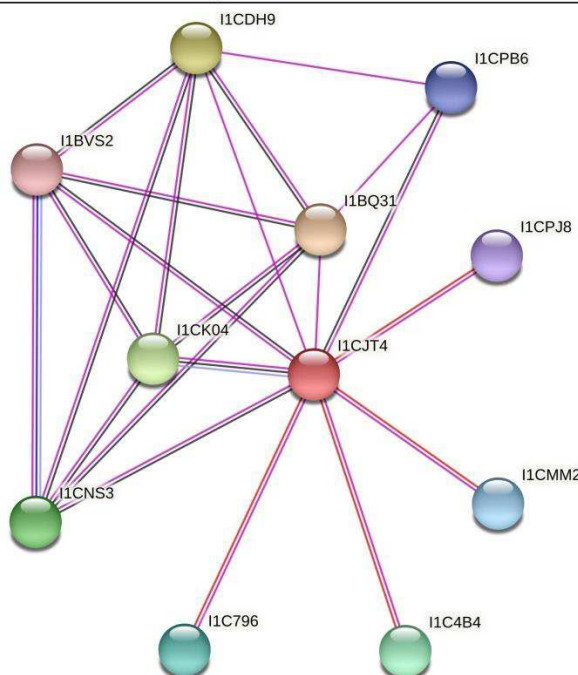


GMQE= 0,07; QMEAN4= -6,19;
общая оценка точности модели «-»

GMQE= 0,10; QMEAN4= -5,06;
общая оценка точности модели «-»

КАРТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НЕКОТОРЫХ ОБНАРУЖЕННЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ

**Гипотетический белок *Rh. delemar*
– гомолог сериновой / треониновой
протеинкиназы**



**Гипотетический белок *Rh. delemar* – гомолог
белка скрещивания 1β**

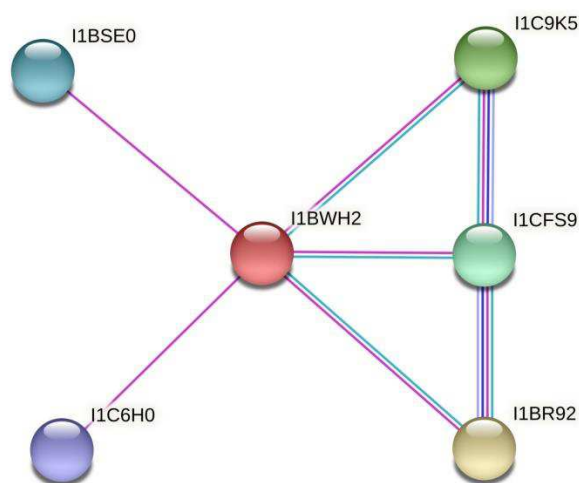


Рис. 3. Результаты структурной реконструкции белков мукоромицетов с доменами, уникальными для царства Fungi. Часть 3. Сети взаимодействия некоторых обнаруженных белков.

Ключом к пониманию функционального предназначения обнаруженных белков, большинство из которых выявлено только на этапе аннотирования генома и имеет статус «гипотетических», является анализ их взаимодействия с другими белками клетки на различных уровнях. Для подавляющего большинства найденных белков мукоромицетов такие данные установить не удалось, но у двух представителей – гомологов сериновой/треониновой протеинкиназы и белка полового процесса *R. oryzae* var. *delemar* удалось построить соответствующие функциональные сети. Так, полипептиды, связанные с гомологом сериновой/треониновой протеникиназы (ПСJT4, схема на Рис. 3), можно разделить на две группы: первая – связанные с поисковым белком и не взаимодействующие между собой, вторая – взаимодействующие с поисковым белком и между собой. В первую группу входят 5 белков, 4 из них (ПСММ2, ПСПJ8, ПС4B4 и ПС796) являются факторами сборки нуклеосом, еще один белок не снабжен подробной аннотацией (ПВВА6). Гены белков первой группы с поисковым белком с высокой вероятностью подверглись процессу слияния (англ. «gene fusion»). Во второй группе присутствует протеинкиназа ПСК04 и S-аденозил-L-метионин-(SAM)-зависимая метилтрансфераза класса I (с так называемой «складкой Россмана», ПСПB6), а также 3 белка неизвестной функции (ПНС3, ПВQ31, ПСДН9). Белки второй группы с определенной вероятностью экспрессируются совместно с поисковым белком. При расширении сети взаимодействия во второй группе обнаруживаются другие протеникиназы, а также представитель семейства циклинов – белков-регуляторов клеточного цикла; на расширенной сети можно увидеть связи белков первой и второй групп.

У белка *R. oryzae*, ассоциированного с половым процессом, непосредственное взаимодействие происходит с тремя деацетилазами гистонов (ПС9K5, ПСFS9 и ПBR92), которые связаны между собой, а также с двумя белками неустановленной функции (ПВSE0, ПС6H0). Последние два, наряду с поисковым белком, обладают доменом «НОХ» (homeobox) – ДНК-связывающий домен белков-регуляторов транскрипции. При расширении сети взаимодействия удается выявить еще 10 белков, которые функционально связаны друг с другом, а с поисковым белком взаимодействие происходит не напрямую, а через одну из трех деацетилаз гистонов. Эти белки не имеют функциональной аннотации, однако в их структуре выявили консервативные домены. Среди таких доменов: «SANT» (ДНК-связывающий, участвует в ремоделировании хроматина), «WD40» (β-трансдукционный повтор, встречающийся в регуляторах транскрипции), «PHD» (цинковый палец, характерный для растений; типичен для ядерных белков, участвующих в эпигенетических процессах); «SET» (метилтрансферазный домен, необходим для

обмена гистонов), «PAN» (парная амфипатическая спираль, входит в состав ингибиторов транскрипции), «HDAC» (регулятор транскрипции, связанный с ацетилазами гистонов), «Sin3a_C» и «Sds3» (другие домены ингибиторов транскрипции), «CHROMO» и «MRG» (участвуют в ремоделировании хроматина).

Таким образом, оба белка, для которых удалось изучить карту взаимодействий, представляют собой ядерные факторы, участвующие в регуляции экспрессии генов микоромицетов и *R. oryzae*, в частности.

Для понимания того, в какой степени те или иные обнаруженные белки можно использовать в качестве маркеров для детекции широкого круга мукоромицетов, либо, напротив, они обладают узкой таксономической специфичностью, представляет интерес круг гомологов. Как оказалось, фактор транскрипции *R. microsporus*, механоселективный ионный канал *Choanephora cucurbitarum*, а также белок-носитель гомеодомена 1 *R. oryzae* имеют не менее 100 близких гомологов (максимальное количество, отображаемое Protein BLAST «по умолчанию») среди нескольких десятков видов мукоромицетов. У неспецифической сериновой/треониновой протеинкиназы *R. oryzae* также не менее 100 гомологов, но значительная часть из них принадлежит непатогенным мукоромицетам. Гомологи (100) белка несовместимости гетерокарионов *M. circinatus* встречаются, главным образом, у различных представителей рода *Rhizopus*. В то же время белок экспорта полисахаридов *L. corymbifera* имеет всего 12 гомологов. Белки *J. flammicorona* и *B. adelaidae* имеют всего 21 и 3 гомолога соответственно среди мукоромицетов других родов, но почти исключительно у непатогенных видов.

Поскольку *C. cucurbitarum* – непатогенный для человека вид, в качестве маркерного белка имеет смысл использовать ее гомолог у *M. circinelloides* (последовательность №ЕРВ93018.1). Этот белок имеет более 100 гомологов среди других мукоромицетов, включая представителей всех основных возбудителей мукормикоза человека. Он также несет домен трансмембранного механоселективного канала. Его межбелковое взаимодействие своеобразно: непосредственная связь имеется только с фосфолипидкиназой (их гены соседствуют в геноме), но через нее отрывается связь с группой из 10 тесно взаимодействующих белков, связанных с реакциями превращения углеводов и гликолизом, в частности (их гены также соседствуют и экспрессируются совместно). Такие белки включают: енолазы, альдолазы, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, триозофосфатизомеразу, глюкозо-6-фосфат-изомеразу и фосфолипид-мутазу.

На следующем этапе для обнаруженных кандидатов белков выявляли гомологи в протеоме чело-

века, чтобы предупредить случаи ложного срабатывания тестов с нормальными компонентами клеток и тканей. Как оказалось, отдаленные гомологи имеются у сериновой/треониновой протеинкиназы и белка-носителя гомеодомена 1 *R. oryzae* var. *delemar*, хотя степень сходства с белками человека невелика (Е-уровень составил, соответственно, 5e-103 и 3e-21).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования установлены белки мукоморомицетов, обладающие доменами, уникальными для царства *Fungi*, которые в разной степени подходят на роль маркеров для экспресс-диагностики мукоморомикоза. Протеинкиназа *J. flammicorona* и регулятор прионной инфекции *B. adalaidae* следует однозначно исключить из перечня перспективных маркеров по причине распространения подобных белков лишь у немногих видов апатогенных мукоморомицетов. Также целесообразно исключить из круга кандидатов для дальнейшей работы ядерные белки – сериновую/треониновую протеинкиназу и белок-носитель гомеодомена 1 *R. oryzae* var. *delemar* по причине наличия общих аминокислотных мотивов с некоторыми белками человека. Фактор транскрипции *R. microsporus* является ядерным белком, его выделение из растущих гиф возбудителей мукоморомикоза маловероятно. Такой белковый маркер можно рассматривать для получения люминесцирующих антител с целью обнаружения мукоморомицетов в гистологиче-

ских срезах путем постановки реакции иммунофлуоресценции. Белок несовместимости гетерокарионов *M. circinatus* может быть потенциальным маркером для выявления *Mucor* spp. и *Rhizopus* spp., однако, поскольку он тесно связан с половым процессом, а вирулентная форма возбудителя в организме человека, как правило, находится в анаморфном состоянии, следует проверить факт выделения такого полипептида в биологические жидкости человека экспериментально. Аналогично следует проверить этот факт и для белка полисахаридного экспорта *L. corymbifera* (узкоспецифичный маркер этого вида) и механоселективный ионный канал *M. circinelloides* (широкий маркер). Эти белки являются трансмембранными, локализованными на ЦПМ, поэтому могут выделяться в биологические жидкости организма человека при росте гиф, следовательно, их следует рассматривать в качестве наиболее перспективных маркеров для создания тест-систем типа иммуноферментного анализа или иммунохемилюминесценции для экспресс-обнаружения мукоморомицетов в исследованиях сыворотки, промывных вод бронхов и параназальных синусов, других биосубстратах.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минздрава России «Морфо-биологические особенности патогенных мукоморомицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами» (№АААА-А19-119053190038-8).

ЛИТЕРАТУРА

1. Singh A.K., Singh R., Joshi S.R., Misra A. Mucormycosis in COVID-19: A systematic review of cases reported worldwide and in India. *Diabetes Metab. Syndr.* 2021; 15 (4): 102146. doi:10.1016/j.dsx.2021.05.019.
2. Gupta A., Sharma A., Chakrabarti A. The emergence of post-COVID-19 mucormycosis in India. *Indian Journal of Ophthalmology.* 2021; 69 (7): 1645-1647. doi: 10.4103/ijo.IJO_1392_21.
3. Skiada A., Pavleas I., Drogari-Apiranthitou M. Epidemiology and diagnosis of mucormycosis: an update. *J. Fungi* (Basel). 2020; 6 (4): 265. doi: 10.3390/jof6040265.
4. Lackner N., Posch W., Lass-Flörl C. Microbiological and molecular diagnosis of mucormycosis: from old to new. *Microorganisms.* 2021; 9 (7): 1518. doi: 10.3390/microorganisms9071518.
5. Игнатьева С.М., Спиридонова В.А., Богомолова Т.С. и др. Апробация мультиплексной тест-системы «HRM-Zygo-Asp» на клиническом материале больных мукоморомикозами. *Проблемы медицинской микологии.* 2019; 21 (4): 36-42. [Ignatieva S.M., Spiridonova V.A., Bogomolova T.S., et al. Approbation of multiplex test system «HRM-Zygo-Asp» on the clinical material of patients with mucormycosis. *Problems in Medical Mycology.* 2019; 21 (4): 36-42 (In Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2019-4-36-42.
6. Игнатьева С.М. и др. Мультиплексная ПЦР-тест-система с детекцией в режиме реального времени для одновременного выявления и идентификации аспергиллов и мукоморомицетов в клиническом материале больных микозами. «Молекулярная диагностика 2017». Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2017: 442-443. [Ignatieva S.M., et al. Multiplex PCR test system with real-time detection for simultaneous detection and identification of *Aspergillus* and mucoromycetes in the clinical material of patients with mycoses. "Molecular Diagnostics 2017". Materials of the IV All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation. 2017: 442-443 (In Russ)].
7. Orne C., Burnham-Marusch A., Baldin C., et al. Cell wall fucomannan is a biomarker for diagnosis of invasive murine mucormycosis. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Madrid, Spain, 21-24 April 2018: O 0121.
8. Рябинин И.А., Ковыришин С.В., Бузмакова А.Л., Васильева Н.В. Особенности белков-адгезинов *Mucor lusitanicus* и *Aspergillus clavatus* в сравнении с адгезинами некоторых микромицетов и бактерий. *Проблемы медицинской*

микологии. 2021; 23 (1): 46-52. [Ryabinin I.A., Kovyrshyn S.V., Buzmakova A.L., Vasilyeva N.V. Features of *Mucor lusitanicus* and *Aspergillus clavatus* adhesive proteins in comparison with adhesins of some micromycetes and bacteria. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (1): 46-52 (In Russ)].

9. Studer G., et al. QMEANDisCo-distance constraints applied on model quality estimation. Bioinformatics. 2020; 36 (6):1765-1771. doi: 10.1093/bioinformatics/btz828.

10. Waterhouse A., et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. Nucleic Acids Res. 2018; 46 (W1): W296-W303. doi: 10.1093/nar/gky427.

11. Рябинин И.А., Васильева Н.В. Структурная реконструкция белков микромицетов с доменами, уникальными для царства Fungi. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (2): 133. [Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V. Structural reconstruction of micromycetes proteins with domains unique for kingdom Fungi. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (2): 133 (In Russ)].

12. Рябинин И.А., Васильева Н.В., Богданова Т.В. Белки *Penicillium chrysogenum*, выявляемые при MALDI-TOF-масс-спектрометрии клеточного экстракта. Микология и фитопатология. 2020; 54 (6): 436-445 [Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Bogdanova T.V. Proteins of *Penicillium chrysogenum* detected by MALDI-TOF mass spectrometry of cell extract. Mycology and phytopathology. 2020; 54 (6): 436-445 (In Russ)]. doi: 10.31857/S0026364820060094.

13. Min B., et al. Genome analysis of a zygomycete fungus *Choanephora cucurbitarum* elucidates necrotrophic features including bacterial genes related to plant colonization. Sci. Rep. 2017; 7: 40432. doi: 10.1038/srep40432

14. Desirò A., et al. Multigene phylogeny of Endogonales, an early diverging lineage of fungi associated with plants. IMA Fungus. 2017; 8 (2): 245-257. doi: 10.5598/ima fungus.2017.08.02.03.

15. Torres-Cruz T.J., et al. *Bifiguratus adelaidae*, gen. et sp. nov., a new member of Mucoromycotina in endophytic and soil-dwelling habitats. Mycologia. 2017; 109 (3): 363-378. doi: 10.1080/00275514.2017.1364958.

Поступила в редакцию журнала 23.08.2021

Рецензент: Т.С. Богомолова

ИЗОЛЯТЫ *CANDIDA AURIS* ОТ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19: ИДЕНТИФИКАЦИЯ, РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ

¹Оганесян Э.Г. (ассистент кафедры)*, ²Выборнова И.В. (н.с.), ¹Ковыршин С.В. (студент), ²Тараскина А.Е. (зав. лаб.), ¹Мошкевич И.Р. (доцент), ^{1,2}Богомолова Т.С. (зав. лаб., доцент), ²Чилина Г.А. (зав. лаб.), ⁴Гордеева С.А. (зав. лаб.), ²Борзова Ю.В. (зав. клиникой), ³Козлова О.П. (ассистент кафедры), ^{1,2}Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: ¹кафедра медицинской микробиологии, ²НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ³кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии; ⁴Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

Candida auris – возбудитель жизнеугрожающих нозокомиальных инфекций обнаружен у пациентов с коронавирусной инфекцией, обусловленной SARS-CoV-2, в ряде отделений интенсивной терапии и реанимации Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Первично идентифицированные изоляты *C. auris* были повторно идентифицированы в референс-центре по верификации микологических исследований. При определении чувствительности 80 штаммов *C. auris* к противогрибковым препаратам выявлена устойчивость к двум классам антимикотиков (к флуконазолу – 100% и амфотерицину В – 12%).

Ключевые слова: *Candida auris*, резистентность к противогрибковым препаратам, идентификация, COVID-19

CANDIDA AURIS ISOLATES FROM PATIENTS WITH COVID-19: IDENTIFICATION, RESISTANCE TO ANTIFUNGAL DRUGS

¹Oganessian E.G. (assistant of the department), ²Vybornova I.V. (scientific researcher), ¹Kovyrshin S.V. (student), ²Taraskina A.E. (head of the laboratory), ¹Moshkevich I.R. (associate professor), ^{1,2}Bogomolova T.S. (head of the laboratory, associate professor), ²Chilina G.A. (head of the laboratory), ⁴Gordeeva S.A. (head of the laboratory), ²Borzova Yu V. (head of the

clinic), ³Kozlova O.P. (assistant of the department), ^{1,2}Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: ¹Department of Medical Microbiology, ²Kashkin Research Institute of Medical Mycology, ³Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology; ⁴Clinical Infectious Hospital named after S.P. Botkin, St. Petersburg, Russia

Candida auris, the causative agent of life-threatening nosocomial infections, was detected in patients with coronavirus infections caused by SARS-CoV-2 in intensive care units. The originally identified, identified isolates of *C. auris* were re-identified in the reference center to verify mycological studies. When determining the susceptibility of 80 strains of *C. auris* to antifungal drugs, resistance to two classes of antifungals (to fluconazole – 100% and amphotericin B – 12%) was established.

Key words: *Candida auris*, antifungal resistance, identification, COVID-19

ВВЕДЕНИЕ

Candida auris – грибовый патоген, обладающий множественной устойчивостью к противогрибковым лекарственным средствам, представляет угрозу общественному здоровью во всем мире. С момента первого случая выделения *C. auris* в 2009 г. из наружного слухового прохода пациента в Японии грибовый патоген обнаружили на 5 континентах и более чем в 47 странах, в том числе и в России [1, 2]. Ретроспективная идентификация более 15000 изолятов *Candida* из международной коллекции (4 континента), собранной в рамках программы SENTRY (2004-2015 гг.), показала отсутствие *C. auris* до 2009 г. Это свидетельствует о том, что глобальное распространение этого микроорганизма началось только в последнее десятилетие [3].

Согласно последним исследованиям инвазивных дрожжевых инфекций среди пациентов с COVID-19 в отделениях интенсивной терапии и реанимации (ОРИТ), *C. auris* становится значимым этиологическим агентом инвазивного кандидоза наряду с *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*. Реальная распространенность *C. auris* как в мире, так и в России неизвестна. Одной из основных причин является проблема ошибочной идентификации *C. auris* на основе морфологических и биохимических свойств, как правило, применяемой в рутинной микробиологической практике. Известно, что по биохимическим свойствам (ассимиляции и ферментации сахаров) этот вид сходен с группой ряда видов *Candida* (*C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. pseudohaemulonii*, *C. sake*, *C. famata*, *C. catenulata*, *C. lusitanae*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*), что в значительной степени затрудняет идентификацию *C. auris* на основе традиционных (биохимических) тест-систем. Использование хромогенных сред также может приводить либо к ошибочной

* Контактное лицо: Оганесян Эллина Григорьевна, e-mail: Ellina.Oganessian@szgmu.ru

идентификации, либо к ложноположительным результатам. Тестирование *C. auris* в отношении CHROMagar *Candida* Plus (CHROMagar), селективного агара HiCrome *C. auris* MDR (HiMedia), а также трех стандартных хромогенных сред, предназначенных для внутривидовой идентификации дрожжей CandiSelect (Bio-Rad), CHROMagar *Candida* (CHROMagar) и Chromatic *Candida* (Liofilchem), продемонстрировало возможность ошибочной идентификации с близкородственными видами и ложноположительных результатов [4]. Есть сведения о том, что VITEK 2 (bioMérieux версия 8.01) может выявлять *C. auris* со значительной точностью. В случае *C. duobushaemulonii* требуется идентификация другими методами. Между тем исследования показали, что данное программное обеспечение точно определяет изоляты из южноамериканской клады, но имеет ограниченные возможности для корректной идентификации *C. auris* из африканской и восточноазиатской клады [5]. В настоящее время надежными методами идентификации являются матрично-активированная лазерная десорбционно-ионизационная времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS – matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry) и секвенирование генетических локусов рДНК, а именно ITS и области D1/D2 [6]. Однако секвенирование как метод идентификации не используют в повседневной лабораторной практике, и ограниченное количество микробиологических лабораторий в РФ оснащено масс-спектрометрами для идентификации микроорганизмов. В этой связи роль референс-центра по верификации результатов микологических исследований, организованного Минздравом России, и централизованных лабораторий II и III уровней, оснащенных современным оборудованием, резко возрастает.

В разных странах зарегистрированы вспышки внутрибольничных инфекций, вызванных *C. auris* [7,8], что обусловлено способностью данного микроорганизма длительно сохраняться в жизнеспособном состоянии на объектах среды больницы и высокой контагиозностью. *C. auris* – единственный представитель грибов рода *Candida*, который легко передается от человека к человеку. При выделении *C. auris* из биосубстратов пациента рекомендована изоляция больного для предотвращения дальнейшего распространения в стационаре. Однако это проблематично в отделениях, где находятся пациенты с COVID-19. Среди пациентов с кандидемией, обусловленной *C. auris*, наблюдают высокую летальность (до 60%) [9]. Несмотря на имеющиеся сведения о резистентности *C. auris* к трем классам антимикотиков (к флуконазолу устойчивы около 90% штаммов, к амфотерицину – 30%, к эхинокандинам – менее 5%), документами CLSI (Институт клинических и лабораторных стандартов), EUCAST (Европейский комитет по тестированию на чувствитель-

ность к противомикробным препаратам) и Российскими клиническими рекомендациями еще не определены пограничные значения для категорий чувствительности *C. auris* к антимикотикам. Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США) предложил предварительные пороговые значения на основе имеющихся данных о чувствительности *in vitro* клинических изолятов *C. auris* [10].

В связи с этим, основной целью данного многоцентрового исследования была оценка надежности видовой идентификации и *in vitro* чувствительности клинических изолятов *C. auris*, выделенных от пациентов с COVID-19 в ОРПТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках многоцентрового исследования (6 стационаров г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области) в период с декабря 2020 г. по сентябрь 2021 г. были выделены 80 изолятов *C. auris* от пациентов с COVID-19, госпитализированных в отделения интенсивной терапии. Возраст больных варьировался от 37 до 89 лет (среднее значение – 62,1) Соотношение мужчин и женщин среди пациентов составляло – 60: 40.

Выделение и первичную идентификацию штаммов *C. auris* (n=79) выполняли в 4 локальных микробиологических лабораториях центров-участников при исследовании биосубстратов (крови, мочи, бронхоальвеолярного лаважа, мокроты) до вида с помощью MALDI-TOF-MS (Microflex, Bruker Daltonics, VITEK MS, Biomerieux) и в пятой лаборатории – до уровня рода *Candida* (n=60). Экспертную видовую идентификацию изолятов и определение чувствительности к противогрибковым препаратам осуществляли в референс-центре по верификации результатов микологических исследований (НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина) [11].

Для идентификации полученных изолятов *Candida* spp. до вида использовали культуры микромицетов, полученные на агаризованных средах Сабуро с хлорамфениколом при температуре 37 °С в течение 18-24 ч.

Идентификацию изолятов *Candida* spp. (n=60) проводили методом MALDI-TOF-масс спектрометрии, ре-идентификацию *C. auris* осуществляли двумя методами: MALDI-TOF-масс спектрометрией и секвенированием внутренней транскрибируемой спейсерной области (ITS).

Матрично-ассоциированную лазерную десорбцию/ионизацию – времяпролетную масс-спектрометрию (MALDI-TOF-MS) выполняли на анализаторе (Autoflex, Bruker Daltonics) в автоматическом режиме с применением программного обеспечения MALDI Biotyper v. 3.1. Изолированные колонии в двух повторностях наносили на ячейки мишени, экстрагировали муравьиной кислотой, после чего добавляли 2 мкл матрицы [12].

Секвенирование *C.auris* по ITS-региону осуществляли с использованием следующих праймеров: ITS4 [TCC-TCC-GCT-TAT-TGA-TAT-GC] и ITS5 [GGA-AGT-AAA-AGT-CGT-AAC-AAG-G]. ДНК экстрагировали с помощью набора QIAquick PCR Purification Kit по инструкции производителя.

Чувствительность *C. auris* к противогрибковым препаратам определяли с использованием колориметрических планшетов Sensititre YeastOne10 AST (Thermo Fisher Scientific, Великобритания) в соответствии с инструкцией производителя. Минимальной подавляющей концентрацией (МПК) считали концентрацию препарата, при которой наблюдали значимое подавление роста изолята на основании изменения цвета индикатора в сравнении с контрольной лункой, не содержащей препарат, при визуальной оценке. Оценку результатов проводили в соответствии с рекомендациями CDC (США) по тестированию и интерпретации противогрибковой чувствительности для *C. auris* (амфотерицин В ≥ 2 мкг/мл, флуконазол ≥ 32 мкг/мл, анидулафунгин ≥ 4 мкг/мл, каспофунгин ≥ 2 мкг/мл и микафунгин ≥ 4 мкг/мл). Для остальных препаратов в настоящее время пограничные значения МПК не определены [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Штаммы *C. auris* (79) из 5 локальных микробиологических лабораторий в референс-центре были ре-идентифицированы методом MALDI TOF MS, идентификация подтверждена в 100% случаев. При идентификации 60 штаммов *Candida* spp., которые поступили из лаборатории одного центра-участника, были обнаружены: *C. auris* (n=1), *C. albicans* (n=56), *C. glabrata* (n=2), *C. tropicalis* (n=1) (табл.1). Таким образом, точная идентификация *C. auris* в микробиологической лаборатории может быть проблематичной, особенно если основываться на фенотипических характеристиках. Видовая идентификация *C.auris* была проведена также с помощью ITS секвенирования. Все штаммы были идентифицированы как *C. auris*.

Таблица 1

Результаты ре-идентификации *Candida* spp.

Первичная идентификация	Ре-идентификация	
n=139	MALDI TOF MS (диапазон Score Value 1.754-2,114), n=139.	ITS-идентификация, n=80
<i>C. auris</i> (n=79)	<i>C. auris</i> (n=79)	<i>C. auris</i> (n=79)
<i>Candida</i> spp.(n=60)	<i>C. auris</i> (n=1)	<i>C. auris</i> (n=1)
	<i>C. tropicalis</i> (n=1)	н о*
	<i>C. glabrata</i> (n=2)	н о
	<i>C. albicans</i> (n=56)	н о

*н о – не определяли

Структура биологического материала, из которого были выделены изоляты *C. auris*, представлена на рисунке 1. Основной вид материала – моча (n=53), на втором месте по частоте – кровь (n=22).

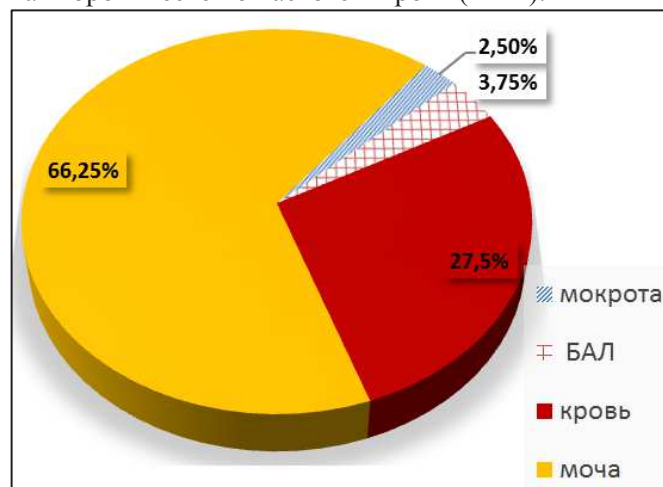


Рис. 1. Виды клинического материала, из которых был выделен *C.auris*

В мировой литературе в основном опубликованы данные о кандидемии, вызванной *C. auris*. Однако в ряде публикаций сообщается о выделении *C. auris* из мочи. Так, в ретроспективном исследовании авторы из Пакистана сообщают об обнаружении инфекций мочевыводящих путей (ИМП), вызванных *C. auris*, у 19 пациентов без кандидемии. Противогрибковую терапию не проводили у 5 из 19 больных, 2 из них умерли в течение 24 часов после высева культуры *C. auris* из мочи. Устойчивость изолятов к флуконазолу составляла 100% [13]. Другие авторы рекомендуют при выявлении *C. auris* из нестерильных локусов делать повторные высевы [14].

Учитывая высокую летальность (до 60%) при инвазивном кандидозе, решающее значение в предотвращении тяжелых грибковых инфекций у больных COVID-19 имеет ограничение распространения *C.auris* – патогена с множественной устойчивостью к антимикотикам. Следовательно, для предотвращения распространения *C.auris* в стационарах необходимо идентифицировать изоляты *Candida* spp. до вида из всех биосубстратов от пациентов с COVID-19 в отделениях ОРИТ.

При определении чувствительности к флуконазолу клинических изолятов, выделенных от пациентов с коронавирусной инфекцией, вне зависимости от локуса, все изоляты были отнесены к категории «резистентные» с МПК ≥ 32 -256 мкг/мл. К двум противогрибковым препаратам (амфотерицин В и флуконазол) были резистентны 12% штаммов (табл. 2). В соответствии с рекомендованными ориентировочными пограничными значениями МПК, все протестированные штаммы *C. auris* были чувствительны к эхинокандинам, что позволяет на данный момент использовать этот класс противогрибковых препаратов в качестве первой линии терапии. Распределение

значений МПК для анидулафунгина, каспофунгина и микафунгина представлены на рисунках 2,3,4. Пунктирные линии указывают на ориентировочные пограничные значения МПК.

Таблица 2

Чувствительность *S. auris* к противогрибковым препаратам.

Противогрибковые препараты	Диапазон МПК (мкг/мл)	Пограничные значения МПК* (мкг/мл)	Резистентность штаммы, %
Полиены			
Амфотерицин В	0,12-2	≥2	12% (МПК=2мкг/мл)
Азолы			
Вориконазол	0,06 -8	н о	-
Итраконазол	0,12-16	н о	-
Позаконазол	0,06-8	н о	-
Флуконазол	32-256	≥32	100% МПК=32 (2,5%) МПК=256 (97,5%)
Эхинокандины			
Анидулафунгин	0,015-2	≥4	0
Каспофунгин	0,06-1	≥2	0
Микафунгин	0,06-1	≥4	0
Флуоропиримидины			
5-флуцитозин	≤ 0,06-0,12	н о	-

* Ориентировочные пограничные значения МПК, предложенные CDC (США), н о – не определяли

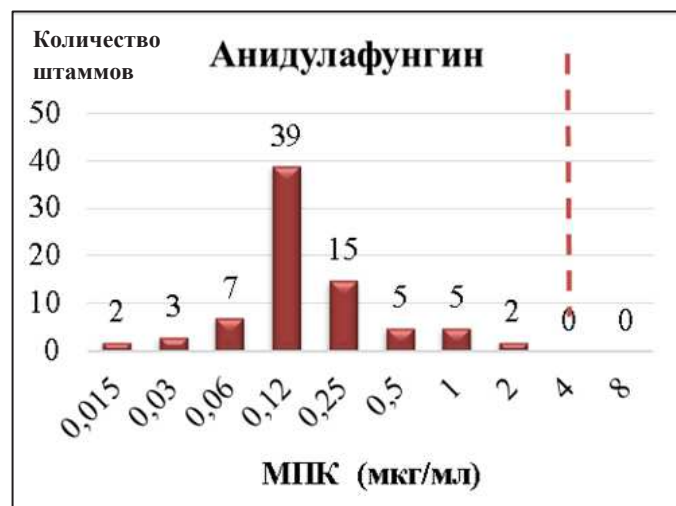


Рис. 2. Распределение значений МПК анидулафунгина для изученных изолятов *S. auris* (n=80).



Рис. 3. Распределение значений МПК каспофунгина для изученных изолятов *S. auris* (n=80).

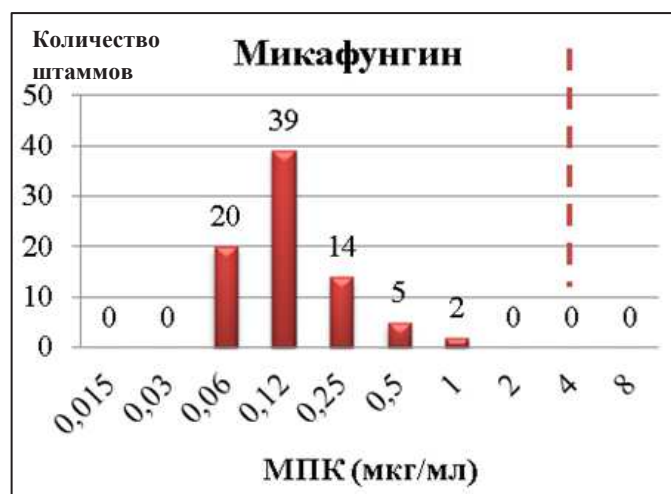


Рис. 4. Распределение значений МПК микафунгина для изученных изолятов *S. auris* (n=80).

Ahmad S. с соавторами описывали профиль чувствительности *S. auris* от пациентов (n=126) в различных больницах (n=8) Кувейта в течение 2014-2018 гг. Определение чувствительности проводили с помощью E-теста. Устойчивость была выявлена к амфотерицину В – 27,1%, флуконазолу – 100%, вориконазолу – 41,1% и микафунгину – 1,7%. Изоляты, устойчивые к флуконазолу, содержали мутацию Y132F или K143R в ERG11. Изоляты с мутацией K143R были дополнительно устойчивы к вориконазолу. Изоляты, устойчивые к микафунгину, содержали мутацию S639F в FKS1 [15]. На основе молекулярно-генетических исследований показано, что у *S. auris*, как и в случае с *S. albicans*, устойчивость к флуконазолу и другим азолам опосредуется мутациями в гене ERG11 и потенциально усиливается сверхэкспрессией CDR1 [16, 17].

В систематическом обзоре с помощью метаанализа Sekyere J. и соавт. показали, что среди 742 изолятов *S. auris* 111 были устойчивы к амфотерицину В

(15,46%) [18]. Эти данные коррелируют с полученными в настоящем исследовании.

В ряде публикаций отмечено, что примерно 40% изолятов *C. auris* могут быть устойчивы к двум классам противогрибковых препаратов, при этом имеется несколько сообщений о панрезистентных штаммах *C. auris* [19].

ВЫВОДЫ

1. Для предотвращения распространения *C. auris* в отделениях интенсивной терапии и реанимации необходимо идентифицировать изоляты *Candida* spp. надежными методами до вида из биосубстратов от

пациентов с COVID-19 и объектов окружающей среды.

2. Клинические изоляты *C. auris*, выделенные от пациентов с коронавирусной инфекцией в Санкт-Петербурге, в 100% устойчивы к флуконазолу, 12% штаммов резистентны к двум противогрибковым препаратам (флуконазолу и амфотерицину В).

3. Все исследованные изоляты *C. auris* чувствительны к эхинокандинам, что позволяет использовать этот класс противогрибковых препаратов в качестве первой линии терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Satoh K., Makimura K., Hasumi Y., et al. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol. Immunol.* 2009; 53: 41-44. doi.org/10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x
2. *CDC Tracking Candida auris*. Centers for Disease Control and Prevention; Atlanta, GA, USA. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html> [accessed 15 Sep 2021]; 2021.
3. Lockhart S.R., Etienne K.A., Vallabhaneni S., et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 15;64(2):134-140. doi: 10.1093/cid/ciw691.
4. De Jong A.W., Dieleman C., Carbia M., et al. Performance of two novel chromogenic media for the identification of multidrug-resistant *Candida auris* compared with other commercially available formulations. *J. Clin. Microbiol.* 2021; 59. doi.org/10.1128/JCM.03220-20
5. Ambaraghassi G., Dufresne P.J., Dufresne S.F., et al. Identification of *Candida auris* by use of the Updated Vitek 2 Yeast Identification System, Version 8.01: A multilaboratory evaluation study. *J. Clin. Microbiol.* 2019; 57: 00884-19. doi.org/10.1128/JCM.00884-19
6. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/identification.html>
7. Villanueva-Lozano H., et al. Outbreak of *Candida auris* infection in a COVID-19 hospital in Mexico. *Clinical Microbiology and Infection.* 2021; 27 (5): 813-816. doi.org/10.1016/j.cmi.2020.12.030
8. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED) <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>
9. Chowdhary A., et al. Multidrug-resistant *Candida auris* infections in critically ill coronavirus disease patients, India, April–July 2020. *Emerging Infectious Diseases.* 2020; 26 (11):2694-2696. doi: 10.3201/eid2611.203504
10. *Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation* <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>
11. Приказ Минздрава России от 24.12.2020 N 1366 «Об утверждении перечня референс-центров по отдельным видам медицинской деятельности в целях обеспечения системного мониторинга распространения антимикробной резистентности» [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 12/24/2020 No. 1366 "On approval of the list of reference centers for specific types of medical activities in order to ensure systematic monitoring of the spread of antimicrobial resistance" (In Russ)].
12. Раух Е.Р. Особенности возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.: СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2015. – 22 с. [*Rausch E.R.* Features of nosocomial invasive candidiasis causative agents: Abstract of the MD dissertation. St. Petersburg: SZGMU n.a. I.I. Mechnikov, 2015. – 22 p. (In Russ.)].
13. Sayeed M.A., Farooqi, J., Jabeen, K., et al. Clinical spectrum and factors impacting outcome of *Candida auris*: A single center study from Pakistan. *BMC Infect. Dis.* 2019;19:384. doi.org/10.1186/s12879-019-3999-y
14. Bradley S.F. What is known about *Candida auris*. *JAMA.* 2019; 322: 1510. doi.org/10.1001/jama.2019.13843
15. Ahmad S., Khan Z., Al-Sweih N., et al. *Candida auris* in various hospitals across Kuwait and their susceptibility and molecular basis of resistance to antifungal drugs. *Mycoses.* 2020; 63: 104-112. doi.org/10.1111/myc.13022
16. Healey K.R., Kordalewska M., Jimenez Ortigosa C., et al. Limited ERG11 mutations identified in isolates of *Candida auris* directly contribute to reduced azole susceptibility. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018; 62:e01427-18. doi.org/10.1128/AAC.01427-18
17. Rybak J.M., et al. Abrogation of triazole resistance upon deletion of CDR1 in a clinical isolate of *Candida auris*. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2019; 63 (4): e00057-19. doi.org/10.1128/AAC.00057-19

18. *Osei Sekyere J. Candida auris: A systematic review and meta-analysis of current updates on an emerging multidrug-resistant pathogen. Microbiologyopen. 2018; 7: e00578. doi.org/10.1002/mbo3.578*
19. *Shawn R. Lockhart, Kizee., et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant Candida auris on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. Clinical Infectious Diseases. 2017; 64 (2): 134-140. doi.org/10.1093/cid/ciw691*

Поступила в редакцию журнала 26.11.2021

Рецензент: Н.Н. Климко