

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 25 №4



Problems in medical mycology

Vol.25 №4

2023

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. 25, № 4, 2023

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, иммунология, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 25, № 4, 2023

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)

Заведующая 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.м.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), Шулгина 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, immunology, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Хостелиди С.Н.</i> Инвазивные микозы у реципиентов трансплантатов внутренних органов (обзор литературы).....	3
<i>Рябинин И.А.</i> Краткий очерк экологии микроскопических грибов.....	15
<i>Сварваль А.В., Макарова М.А., Кафтырева Л.А.</i> Инфекции <i>Helicobacter pylori</i> . Некоторые аспекты лабораторной диагностики (обзор литературы).....	23

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ И ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЯ

<i>Хостелиди С.Н., Харитонов Н.Н., Шадривова О.В., Куликов А.Н., Кольбин А.А., Качерович П.А., Гасанов Р.Р., Богомолова Т.С., Чилина Г.А., Оганесян Э.Г., Тараскина А.Е., Борзова Ю.В., Васильева Н.В.</i> Микотический эндофтальмит (описание клинического случая и обзор литературы).....	29
<i>Игнатьева С.М., Козлова О.П., Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Шадривова О.В., Соболев А.В., Смирнов С.А., Успенская О.С., Лыкова Е.П., Морозова Ю.А., Васильева Н.В.</i> Определение (1,3)- β -D-глюкана в сыворотках крови больных инвазивным кандидозом в ОРИТ.....	39
<i>Корнищева В.Г., Мирзоян В.Л., Кулекова Д.</i> Микроспория волосистой части головы под маской рубцующей алопеции у женщины 84 лет.....	46

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

<i>Босак И.А., Выборнова И.В., Н.С., Чилина Г.А., Оганесян Э.Г., Венчакова В.В., Паршикова Е.Г., Богомолова Т.С., Ковыршин С.В., Авдеенко Ю.Л., Карпов С.А., Павлова И.Э., Васильева Н.В.</i> Вирулентность и особенности патогенеза диссеминированного кандидоза, обусловленного штаммами <i>Candida auris</i> с различной фосфолипазной активностью, в экспериментальной модели.....	52
<i>Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Храмов М.В.</i> Разработка питательных сред для энтерококков, рекомендованных нормативными документами, при проведении анализа проб воды.....	59

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Khostelidi S.N.</i> Invasive mycoses in recipients of solid organ transplants (literature review).....	3
<i>Ryabinin I.A.</i> Brief outline of the ecology of microscopic fungi.....	15
<i>Svarval A.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A.</i> <i>Helicobacter pylori</i> infections. Some aspects of laboratory diagnostics (literature review).....	23

CLINICAL MYCOLOGY AND DERAMATOVENEREOLOGY

<i>Khostelidi S.N., Kharitonova N.N., Shadrivova O.V., Kulikov A.N., Kol'bin A.A., Kacherovich P.A., Gasanov R.R., Bogomolova T.S., Chilina G.A., Oganesyanyan E.G., Taraskina A.E., Borzova Yu.V., Vasileva N.V.</i> Mycotic endophthalmitis (clinical case description and literature review).	29
<i>Ignatieva S.M., Kozlova O.P., Khostelidi S.N., Borzova Yu.V., Shadrivova O.V., Sobolev A.V., Smirnov S.A., Uspenskaya O.S., Lykova E.P., Morozova Yu.A., Vasileva N.V.</i> Determination of (1,3)- β -D-glucan in the blood serum of patients with invasive candidiasis in the ICU.....	39
<i>Kornisheva V.G., Mirzoyan V.L., Kulekova D.</i> Microsporia under the mask of scarring alopecia in an 84-year-old woman ...	46

EXPERIMENTAL MICROBIOLOGY

<i>Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Oganesyanyan E.G., Venchakova V.V., Parshikova E.G., Bogomolova T.S., Kovyrshin S.V., Avdeenko Y.L., Karpov S.A., Pavlova I.V., Vasilyeva N.V.</i> Virulence and pathogenesis features of disseminated candidiasis caused by <i>Candida auris</i> strains with different phospholipase activities in an experimental model.....	52
<i>Domotenko L.V., Morozova T.P., Khramov M.V.</i> Development of nutrient media for enterococci recommended by regulatory documents when analyzing water samples.....	59



Для цитирования: Хостелиди С.Н. Инвазивные микозы у реципиентов трансплантатов внутренних органов (обзор литературы). Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 3-14. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-3-14

For citation: Khostelidi S.N. Invasive mycoses in recipients of solid organ transplants (literature review). Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 3-14. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-3-14

ИНВАЗИВНЫЕ МИКОЗЫ У РЕЦИПИЕНТОВ ТРАНСПЛАНТАТОВ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Хостелиди С.Н. (доцент; ведущий консультант Центра телемедицинских консультаций)*

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

Трансплантация внутренних органов (ТВО) – это вмешательство, спасающее жизни пациентов с терминальной стадией органной недостаточности. В 2022 г. в России было выполнено 2555 трансплантаций органов, что на 10% больше чем в предыдущем году. С ростом числа проведенных трансплантаций возрастает и число иммунокомпрометированных пациентов, которые входят в группу высокого и среднего риска развития инвазивных микотических инфекций. В настоящей статье рассматриваются эпидемиология инвазивных микозов у реципиентов внутренних органов, основные клинические формы, методы диагностики и стратегии антимикотической терапии.

Ключевые слова: антимикотическая терапия, инвазивный кандидоз, инвазивные микозы, инвазивный аспергиллез, мукормикоз, криптококкоз, пневмоцистоз, трансплантация внутренних органов

INVASIVE MYCOSES IN RECIPIENTS OF SOLID ORGAN TRANSPLANTS (LITERATURE REVIEW)

Khostelidi S.N. (associate professor; leading consultant of the Center for Telemedicine Consultations)

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

Solid organ transplantation (SOT) is a life-saving intervention for patients with end-stage organ failure. In 2022, 2,555 organ transplants were performed in Russia, which is 10% more than in the previous year. With the increase in the number of transplants performed, the number of immunocompromised patients who are at high and intermediate risk of developing invasive mycotic infections also increases. This article discusses the epidemiology of invasive mycoses in recipients of internal organs, the main clinical forms, diagnostic methods and antifungal therapy strategies.

Key words: antimycotic therapy, invasive candidiasis, invasive mycoses, invasive aspergillosis, mucormycosis, cryptococcosis, pneumocystosis, solid organ transplantation

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация внутренних органов (ТВО) – это вмешательство, спасающее жизни пациентов с терминальной стадией органной недостаточности. Число трансплантаций органов в РФ растет ежегодно. В 2022 г. было проведено 2555 трансплантаций (почки – 1562, печени – 659, сердца – 310) [1], из них 258 пересадок органов выполнено детям. Общее число трансплантаций органов, проведенных в 2022 г., было на 10,2% больше чем в предыдущем году (+237). В регистр реципиентов трансплантатов внутренних органов РФ на декабрь 2022 г. включено 21 969 человек. При этом число пациентов с трансплантированной почкой составляет 13 721 чел. (94,3 на 1 млн.); печени – 4294 (29,5 на 1 млн.); сердцем – 1916 (13,2 на 1 млн.) [1]. Рост числа выполненных трансплантаций внутренних органов и увеличение числа реципиентов отмечают во всех странах мира [2].

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

Функциональное состояние трансплантата в первую очередь связано с эффективностью посттрансплантационной иммуносупрессивной терапии. В то же время применение иммуносупрессивной терапии приводит к подавлению активности иммунной системы реципиентов и, как следствие, они становятся более восприимчивы к оппортунистическим инфекциям. В настоящее время именно инфекции являются основной причиной смерти реципиентов внутренних органов. Основная часть инфекционных осложнений в посттрансплантационном периоде приходится на бактериальные инфекции. При этом новые подходы к иммуносупрессивной терапии привели к более частому развитию инвазивных микозов у данной когорты пациентов [3].

В октябре 2022 г. ВОЗ опубликовала первый список приоритетных грибковых патогенов, четко выделив реципиентов трансплантатов внутренних органов (solid organ transplantation – SOT) в качестве групп риска для инвазивных грибковых инфекций [4]. Инвазивные грибковые инфекции (ИГИ) являются одним из наиболее важных осложнений в этой популяции пациентов, оказывая огромное влияние на течение посттрансплантационного периода и смертность [5]. Кумулятивная заболеваемость ИГИ у реципиентов трансплантата печени колеблется от 5% до 42% (летальность – от 25% до 80% [6,7]), при трансплантации легких кумулятивная частота ИГИ составляет от 3% до 19% в течение первого года [7-13]. Эти показатели уступают только реципиентам трансплантата тонкой кишки среди всех видов трансплантаций [7, 9, 10]. В настоящей статье рассматриваются основные нозологические формы инвазивных микотических инфекций у реципиентов внутренних органов.

Цель исследования: провести анализ опубликованных данных для определения основных факторов риска, этиологии, клинических проявлений и результатов лечения инвазивных микозов у реципиентов внутренних органов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск информации осуществляли на платформах PubMed, ClinicalKey и e-library (на ноябрь 2023 г.) с помощью следующих ключевых слов: антимикотическая терапия, инвазивный кандидоз, инвазивные микозы, инвазивный аспергиллез, мукомикоз, криптококкоз, пневмоцистоз, трансплантация внутренних органов. Авторы научных публикаций для постановки диагноза «инвазивный микоз» использовали критерии EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer /Mycoses Study Group criteria), 2020 [14].





ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Эпидемиология и этиология инвазивных микозов у реципиентов трансплантатов органов.

Инфекции являются основной причиной смерти пациентов в течение года после трансплантации внутренних органов (ТВО) и составляют 32-35% от всех летальных исходов в этой группе больных. Кроме того, инфекции вызывают дисфункцию и отторжение трансплантата [5, 6]. Восприимчивость реципиентов солидных органов к инфекциям зависит от множества факторов, включая предтрансплантационные характеристики (т.е. предшествующие иммунные и неиммунные состояния, критические заболевания), тип трансплантируемого органа, интраоперационные характеристики (т.е. длительность холодовой ишемии, более длительная продолжительность процедуры трансплантации и потребность в переливании крови) и посттрансплантационные факторы (т.е. степень иммуносупрессии, профилактика и цитомегаловирусная инфекция). Тяжелые инфекции могут возникать в течение трех периодов: послеоперационного (<4 недели), периода максимальной иммуносупрессии (1-12 месяцев) и последующего наблюдения или реабилитации (> 12 месяцев) (табл. 1).

Таблица 1

Периоды инфекционных осложнений у реципиентов трансплантатов органов

Виды трансплантаций	Посттрансплантационный период		
	Ранний ≤ 4 недели	Поздний ≤12 месяцев	Реабилитация >12 месяцев
	Candida spp.	Aspergillus spp.	Aspergillus spp.
		Mucorales spp.	Mucorales spp.
		Scedosporium spp.	Scedosporium spp.
		Pneumocystis jirovecii	Pneumocystis jirovecii

В течение первого месяца после трансплантации инфекции возникают в результате хирургических осложнений, донорских инфекций, ранее существовавших инфекций реципиента и внутрибольничных инфекций [15]. Риск выше для реципиентов трансплантата сердца, легких и печени по сравнению с трансплантацией почки. В этот период, наряду с бактериальным сепсисом, наиболее часто отмечают развитие инвазивного кандидоза.

Инфекции, возникающие позже (от 1 до 12 месяцев после трансплантации), в основном обусловлены реактивацией латентных инфекций (цитомегаловирус, вирус простого герпеса, вирус ветряной

оспы) и условно-патогенных микроорганизмов (*Aspergillus* spp., *Pneumocystis jirovecii*, *Mucorales* spp., *Toxoplasma gondii*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacteria* spp., *Nocardia* spp.).

Инфекционные осложнения, возникающие после 12 месяцев, включают внебольничные и внутрибольничные инфекции и зависят от степени иммуносупрессии. Наиболее часто среди возбудителей инвазивных микозов в этот период выделяют *Aspergillus* spp., *Mucorales* spp., *P. jirovecii*, *Cryptococcus neoformans*, *Scedosporium* spp. [16].

Распространенность различных нозологических форм микотических инфекций у реципиентов трансплантатов органов составляет около 5% и зависит от типа трансплантации [17, 18]. Риск развития ИГИ наиболее высокий при трансплантации тонкой кишки (11,6%) и легких (8,6%). Менее часто инвазивные микозы развиваются при трансплантации печени (4,7%), сердца (4%), поджелудочной железы (3,4%) и почек (1,3%) [5, 19].

Преобладающая нозологическая форма различна у пациентов с разными видами трансплантации органов. Например, инвазивный кандидоз наиболее распространен у реципиентов трансплантатов печени и кишечника, на его долю приходится 50-60% инфекций. Прежде всего, это связано с тем, что *Candida* spp. являются частыми колонизаторами желудочно-кишечного, дыхательного, репродуктивного тракта и кожи [9, 10, 19]. Второй по распространенности у этой группы пациентов – инвазивный аспергиллез (20-25%). Кумулятивная заболеваемость ИГИ у реципиентов трансплантата печени колеблется от 5% до 42%, при этом летальность составляет от 25% до 80% [6, 19].

В то же время у реципиентов трансплантатов легких наиболее часто выявляют инвазивный аспергиллез (до 44% больных), инвазивный кандидоз (до 23%). Реже диагностируют мукомикоз (3%), криптококкоз (2%), пневмоцистоз (2%). Основным патогеном, выделяемым у этой когорты пациентов, является *Aspergillus fumigatus* (от 2% до 30%) [20]. В недавних исследованиях показан рост частоты выделения из биосубстратов больных других плесневых грибов, не относящихся к *Aspergillus* (например,

Scedosporium apiospermum, *Fusarium* spp., *Mucorales* spp., *Paecilomyces* spp. и *Penicillium* spp.), на долю которых приходится 28% всех ИГИ [20]. ИГИ, вызванные не-*Aspergillus* микромицетами, чаще распространены у реципиентов трансплантатов легких, по сравнению с реципиентами других внутренних органов и связаны с более высокими показателями смертности до 63% [21]. У этой когорты больных в течение первого месяца после трансплантации также наиболее часто развивается инвазивный кандидоз, однако общее преимущество остается за инвазивными плесневыми инфекциями в течение первых 6 месяцев [22]. Были зарегистрированы случаи инвазивных микозов и через 3 года после трансплантации. Помимо инфекций, вызванных *Candida* и *Aspergillus*, реципиенты внутренних органов также подвержены заболеваниям, обусловленным возбудителем пневмоцистоза, *S. neoformans* и других прорывных инфекций [23] на фоне длительной противогрибковой профилактики [24]. При этом сцедоспориоз и мукомикоз чаще возникают через 12 и 26 месяцев после трансплантации; *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Exophiala* и др. – через 16 месяцев [20, 25].

По данным зарубежных исследователей, реципиенты трансплантатов почки страдают от ИГИ в 6,1% случаев. Наиболее частыми видами инфекции были криптококкоз (42%), кандидоз (37%), мукомикоз (11%), аспергиллез (5,5%), сочетанная инфекция (5,5%). Выживаемость составила 70% [17].

Факторы риска.

Риск развития ИГИ повышают следующие факторы: обсеменённость спорами грибов объектов окружающей среды и/или колонизация микромицетами внутренних органов; тип хирургического вмешательства; полное парентеральное питание; использование противогрибковой профилактики и заместительной почечной терапии, включая другие факторы, такие как применение антибиотиков широкого спектра действия или переливание крови и ее компонентов (табл. 2) [5].

Таблица 2

Факторы риска, связанные с инвазивными грибковыми инфекциями

Факторы риска	Публикация	ОШ (95% ДИ, <i>p</i> -значение)
Хирургия		
Любое хирургическое вмешательство	Blumberg et al., 2001	7,3 (1–53,8, <i>p</i> = 0,05)
Множественные хирургические вмешательства	McKinnon et al., 2001	Не сообщается, <i>p</i> ≤ 0,05
Повторные операции на брюшной полости	Nagao et al., 2016	5,2 (1–25,7, <i>p</i> = 0,046)
Операция при поступлении в отделение интенсивной терапии	León et al., 2006	2,71 (1,5–5,1, <i>p</i> < 001)
Плановая хирургия	Jordà-Marcos et al., 2007	2,75 (1,2–6,5, <i>p</i> = 0,02)
Общая абдоминальная хирургия	Agvald-Öhman et al., 2008	60,7 (7,3-бесконечность, <i>p</i> = 0,001)
- // -	Chow et al., 2008	2,24 (1,5–3,4, <i>p</i> < 0,001) ^β
Холедохоеюностомия	Collins et al., 1994; Viehmann et al., 2016	1,4, <i>p</i> = не сообщается 2,02 (0,45–9,07, <i>p</i> = 0,3) ^б 1,81 (0,99–3,32, <i>p</i> = 0,1) ^с

Время операции трансплантации (ч) 9–10,9 ≥11	Collins et al., 1994 Viehmann et al., 2016	0,9, $p =$ не сообщается 2,8, $p =$ не сообщается $p = 0,55$ не сообщается, $p < 0,01$
Острая печеночная недостаточность	Patel et al., 1996 Shi et al., 2008	3,0 (1,1–7,9, $p = 0,030$) Не сообщается, $p = 0,002$
ЦМВ-инфекция		
ЦМВ-инфекция	Badley et al., 1996	5,6 (2,5–12,7, $p < 0,01$)
Донор ЦМВ+/реципиент ЦМВ-	George et al., 1997	4,8 (2,0–11,8, $p = 0,001$)
ЦМВ-инфекция	George et al., 1997	5,8 (1,8–18,4, $p = 0,003$)
ЦМВ-инфекция	Fortún et al., 2002	9,4 (1,21–89,6, $p = 0,01$)
Полное парентеральное питание		
	Blumberg et al., 2001	3,8 (1,9–7,6, $p < 0,001$)
	León et al., 2006	2,5 (1,2–5,3, $p < 0,001$)
	Jordà-Marcos et al., 2007	3,9 (1,7–8,8, $p = 0,001$)
Общая продолжительность парентерального питания/ дни	Chow et al., 2008	11 (5,5–21,7, $p < 0,01$) ^α
Грибковая колонизация		
Скорректированный индекс колонизации видов <i>Candida</i>	Pittet et al., 1994	4,0 (2,2–7,5, $p < 0,001$)
Колонизация ЖКТ	Ibáñez-Nolla et al., 2004	20,2 (6,1–67,0, $p < 0,001$)
Не- <i>Candida albicans</i> на скрининге	Ibáñez-Nolla et al., 2004	11,7 (1,9–70,6, $p = 0,007$)
Колонизация органов дыхания	Ibáñez-Nolla et al., 2004	6,6 (1,3–34,3, $p = 0,026$)
Колонизация <i>Candida spp.</i>	León et al., 2006	3,0 (1,5–6,4, $cmp < 0,001$)
Колонизация <i>Candida spp.</i>	Jordà-Marcos et al., 2007	4,1 (1,8–9,3, $p = 0,001$)
Индекс колонизации $\geq 0,5$	Agvald-Öhman et al., 2008	19,1 (2,4–435, $p = 0,017$)
Заместительная почечная терапия		
Гемодиализ	Papitou et al., 2005	5,4 (2,5–11,8, $p = 0,029$)
Гемодиализ / Гемофильтрация	Nagao et al., 2016 Jordà-Marcos et al., 2007	8,1 (2,4–27,6, $p = 0,001$) 2,0 (1,1–3,6, $p = 0,032$)
Продолжительность/количество дней гемодиализа	Chow et al., 2008	3,8 (1,8–8,4, $p < 0,001$) ^α 6,2 (2,7–14,4, $p < 0,001$) ^β
Инфекция / сепсис	Michalopoulos et al., 2003	9,4 (2,5–48,3, $p < 0,001$)
Тяжелый сепсис	León et al., 2006	7,7 (4,1–14,2, $p < 0,001$)
Кишечная бактериемия	Chow et al., 2008	3,5 (1,4–8,6, $p < 0,01$) ^α
Искусственная вентиляция		
Искусственная вентиляция легких после 3-го дня	McKinnon et al., 2001	Не сообщается, $p \leq 0,05$
Искусственная вентиляция легких > 10 дней	Michalopoulos et al., 2003	28,2 (3,6–119,5, $p < 0,001$)
Диабет		
Сахарный диабет 1 тип /2 тип	Michalopoulos et al., 2003	2,4 (1,3–13,5, $p < 0,01$)
Сахарный диабет 1 тип /2 тип	Papitou et al., 2005	2,8 (1,6–4,7, $p = 0,053$)
Оценка APACHE		
Оценка APACHE II	Pittet et al., 1994	1,0 (1,0–1,1, $p = 0,007$)
Оценка APACHE III	Ibáñez-Nolla et al., 2004	1,0 (1,0–1,1, $p = 0,004$)
Время искусственного кровообращения > 120 мин	Michalopoulos et al., 2003	8,1 (2,9–23,6, $p < 0,01$)
Острая почечная недостаточность	Blumberg et al., 2001	4,2 (2,1–8,3, $p < 0,001$)
Оценка терминальной стадии заболевания печени		
Оценка MELD	Alexander et al., 2006	1,0 (1,0–1,1, $p = 0,003$)
Оценка MELD 20–30	Saliba et al., 2013	2,1 (1,2–3,7, $p = 0,012$)
Оценка MELD ≥ 30	Saliba et al., 2013	3,1 (1,6–6,0, $p < 0,001$)
Оценка MELD ≥ 26	Utsumi et al., 2019	16,0 (3,0–118,3, $p = 0,001$)
Антибиотики широкого спектра действия	Papitou et al., 2005	3,0 (1,8–5,0, $p = 0,028$)
Переливание эритроцитарной взвеси	Chow et al., 2008	2,0 (1,0–4,0, $p = 0,06$) ^α
Противогрибковые препараты		
Противогрибковые препараты	Blumberg et al., 2001	0,3 (0,1–0,6, $p < 0,001$)
Предварительное применение противогрибковой терапии	Kim et al., 2019	13,6 (3,0–61,0, $p < 0,001$)
Центральные венозные катетеры	McKinnon et al., 2001	Не сообщается, $p \leq 0,05$
Использование периферического катетера	McKinnon et al., 2001	Не сообщается, $p \leq 0,05$

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; CMV – цитомегаловирусная инфекция; MELD: Model for End-Stage Liver Disease.

Многие исследователи отмечают, что один из основных факторов риска развития ИГИ – это грибковая колонизация, особенно в пищеварительном тракте или дыхательных путях. Колонизация дыхательных путей является обязательным условием для последующих ИГИ как ранних, так и поздних после ТВО. Кумулятивная частота колонизации дыхательных путей плесневыми микромицетами колеблется от 20% до 50% [26]. *Aspergillus* spp. являются наиболее распространенными: до 23% реципиентов трансплантатов легких имеют колонизацию респираторного тракта этими микромицетами [27]. Скорость колонизации аспергилл значительно выше среди пациентов с муковисцидозом. В одном исследовании у 70% больных муковисцидозом была определена колонизация *Aspergillus* до трансплантации, а у 39% эти грибы были обнаружены интраоперационно в бронхоальвеолярной жидкости [26].

На развитие инвазивного микоза, безусловно, влияют длительность пребывания в ОРИТ и заместительная почечная терапия, включая ее продолжительность [7]. Значимыми являются степень полиорганной недостаточности (шкала APACHE), более длительное время искусственного кровообращения, острая почечная недостаточность, использование антибиотиков широкого спектра действия и наличие периферических или центральных венозных катетеров (табл. 2). У реципиентов трансплантата печени отмечают значимость печеночной недостаточности по шкале «Модели терминальной стадии заболевания печени» (MELD), пороговый балл которой коррелирует с повышенным риском развития ИГИ. При этом диапазон баллов указывается различным, например, Saliba F. и соавторы сообщили о 20 или более баллах по шкале MELD [28], в то время как Utsumi M. и др. обнаружили, что оценка 26 или выше увеличивает риск развития ИГИ [29]. Таким образом, мы можем только заключить, что чем выше показатель MELD, тем выше риск ИГИ.

Другие зарегистрированные факторы риска включают генерализованную бактериальную инфекцию/сепсис, а также искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), сахарный диабет и т.д. (табл. 2).

В период пандемии COVID-19 у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов, отмечали более тяжелое течение и увеличение риска ИГИ. В ретроспективном исследовании были проанализированы данные реципиентов трансплантатов внутренних органов, госпитализированных с COVID-19, из которых 59% перенесли трансплантацию почки, 17% – легкого, 11% – сердца или печени и 2% – тонкой кишки. Среди этих пациентов у 8% развился инвазивный микоз в течение 90 дней после COVID-19. 90-дневная летальность после постановки диагноза COVID-19 была выше у реципиентов

органов с ИГИ по сравнению с больными без микотических осложнений (57% vs 20%) [30].

Основным фактором риска развития инфекционных осложнений у реципиентов ТВО является применение различных иммуносупрессивных препаратов с целью профилактики отторжения трансплантатов. Схемы иммуносупрессивной терапии были разработаны в соответствии с наиболее эффективным сочетанием лекарственных средств с различными механизмами действия. Золотой стандарт иммуносупрессивной терапии для реципиентов ТВО включает в себя использование нескольких препаратов, нацеленных на различные механизмы подавления иммунного ответа реципиента: (1) ингибиторы кальциневрина (циклоsporин и такролимус), (2) ингибиторы рапамицина (сиролимус и эверолимус), (3) антипролиферативные препараты, такие как азатиоприн и производные микофеноловой кислоты, (4) глюкокортикостероиды, (5) биологические иммунодепрессанты [31]. Современные протоколы, как правило, включают тройную лекарственную терапию, состоящую из ингибиторов кальциневрина, кортикостероидов и антипролиферативных препаратов. Кроме того, в индукционной терапии часто используются моно- или поликлональные антитела [32]. Циклоsporин А (ЦсА) и такролимус – наиболее часто применяемые средства, действие которых основано на ингибировании кальциневрина, предотвращении активации Т-клеток, что приводит к иммуносупрессии. ЦсА биохимически представляет собой циклический пептид, состоящий из одиннадцати аминокислот. Его метаболизм в основном происходит через ферментную систему цитохрома Р (СYP) 450 А3 [33]. Ингибирование кальциневрина происходит путем создания комплекса с иммунофилином FK 506, который, в свою очередь, препятствует транслокации NF-AT, в конечном итоге подавляя пролиферацию Т-хелперов, опосредованную IL-2 [34]. В группу ингибиторов-мишеней рапамицина (mTOR) входят сиролимус и эверолимус. Эти препараты препятствуют пролиферации и дифференцировке Т- и В-клеток, выработке антител, а также пролиферации неиммунных клеток, включая фибробласты, эндотелиальные клетки, гепатоциты и гладкомышечные клетки [35]. Наряду с азатиоприном, микофеноловая кислота и два ее клинически применяемых производных (микофенолат натрия и микофенолат мофетил) являются одними из наиболее часто используемых иммунодепрессантов. Они играют ключевую роль в ингибировании пролиферации лимфоцитов, предотвращая отторжение трансплантатов [36]. Нередко используют и глюкокортикостероиды, применение которых в дозе более 0,3 мг/кг/сутки 21 день и более является высоким риском развития инвазивных микозов [14, 36].

Клинические варианты инвазивных микозов у реципиентов трансплантатов органов.

Возбудители инвазивных микозов у реципиентов после трансплантации могут поражать практически любой орган. Тем не менее выявлены приоритетные клинические варианты, характерные для каждого вида возбудителя.

Инвазивный кандидоз чаще всего протекает в виде кандидемии, кандидозного перитонита и гепатолиенального кандидоза. Кандидемия может развиваться не только из-за формирования биопленки в сосудистых катетерах, но и в результате транслокации микроорганизмов через поврежденную слизистую оболочку кишечника [19]. Кандидемия является причиной большинства ИГИ у пациентов с трансплантированной печенью. В ретроспективном многоцентровом исследовании среди интраабдоминальных инфекций наиболее распространенными были перитонит и абсцессы брюшной полости (38,9% в обоих случаях), реже – инфекции желчевыводящих путей (16,7%) [37].

Ингазирование спор *Aspergillus* в первую очередь приводит к поражению дыхательных путей. Наиболее распространенными клиническими формами аспергиллеза являются инвазивный аспергиллез легких (до 74%-78%) и аспергиллезный трахеобронхит (5% до 25%) [18, 38]. Реже встречаются другие формы инвазивного аспергиллеза.

Поражение дыхательных путей выявляют, прежде всего, у реципиентов трансплантатов легких. При проведении бронхоскопии возможно обнаружение язвенных или некротических поражений бронхов, наличие псевдомембран, отделяющихся с образованием язвенного дефекта. Наиболее часто подобные дефекты слизистых оболочек возникают вокруг линии шва анастомоза. Обструкция центральных дыхательных путей является формой грибкового трахеобронхита, при которой клинически у пациентов наблюдается быстрое снижение объема форсированного выдоха, а на бронхоскопии обнаруживают фибриновые слизистые пробки, содержащие гифы *Aspergillus* [18]. Наиболее тяжелый вариант – некротизирующая псевдомембранозная форма инвазивного грибкового трахеобронхита, характеризующаяся отслоением некротического эпителия и подслизистого слоя. Это заболевание способно привести к быстрой инвазии и распространению микотической инфекции. Инвазивный трахеобронхиальный аспергиллез (ИТБА) может протекать бессимптомно и выявляться случайно при контрольной бронхоскопии. Такое течение инвазивного аспергиллеза ассоциируется с более благоприятным исходом при трансплантации легких, чем у других реципиентов внутренних органов. Своевременная диагностика с помощью рутинной бронхоскопии позволяет диагностировать инвазивный микоз раньше появления жалоб у этой

категории пациентов и, соответственно, начать антимикотическую терапию. Наиболее частые осложнения трахеобронхиального аспергиллеза: бронхомаляция, стеноз бронхов, расхождение швов, кровотечение и распространение в паренхиму легкого с дальнейшей диссеминацией [18, 38].

Мукормикоз у реципиентов трансплантатов органов чаще всего протекает по типу инвазивного синусита (преимущественно у реципиентов трансплантатов почки) или пневмонии (при трансплантации легких). Возможны поражения центральной нервной системы, желудочно-кишечного тракта, костные деструкции и эндофтальмиты. При сохранении влияния факторов риска инфекция быстро прогрессирует, распространяясь с током крови в любые органы и системы [18, 38, 39].

Достаточно часто микотическое поражение проявляется пневмоцистозом с поражением легких, особенно у пациентов со сниженным числом CD4+ клеток (менее $0,2 \cdot 10^9$ /л). Клинически пневмоцистоз проявляется острой дыхательной недостаточностью со значительным снижением сатурации. Данное состояние требует проведения дифференциальной диагностики с вирусными пневмониями [40].

Клинические симптомы криптококковой инфекции у реципиентов внутренних органов разнообразны и зависят от очага локализации. Преимущественно развиваются менингиты, сопровождаемые длительной головной болью, изменениями психического состояния, лихорадкой, реже – фотофобия и ригидность затылочных мышц [41]. У пациентов с поражением легких клинические формы варьируют от бессимптомной колонизации до пневмонии с дыхательной недостаточностью. Симптомы неспецифические и включают лихорадку, озноб, кашель, недомогание, ночную потливость, одышку [41]. Часто криптококковая инфекция диссеминирует, поражая и легкие, и ЦНС (до 50%-75%) [42]. Опубликованные данные свидетельствуют, что у реципиентов трансплантатов органов диссеминированный криптококкоз развивается до 61%, поражение легких – 54%, поражение кожи, мягких тканей или зева – до 8,1%. Были описаны криптококковые поражения предстательной железы, печени, почек, костей и суставов [41, 42].

Диагностика инвазивных микозов у реципиентов трансплантатов внутренних органов.

Диагноз инвазивного микоза у реципиентов трансплантатов органов основан на выявлении факторов риска развития микотической инфекции в совокупности с клиническими проявлениями и лабораторными данными.

Основным радиологическим методом диагностики является компьютерная томография в режиме высокого разрешения. На компьютерной томогра-

фии (КТ) легких наиболее часто наблюдают периваскулярное поражение по типу «матового стекла» (50-60%) в первые 3-5 суток заболевания [5, 9, 11, 43]. Повреждения по типу «матового стекла», обычно прогрессирующие до плотных очагов и инфильтратов с формированием зоны деструкции, более характерны для мукормикоза. Вокруг инфильтратов может формироваться «ореол» перифокального воспаления, но это неспецифический признак с зарегистрированной частотой от 19% до 53% [11, 14, 43]. При поражении околоносовых пазух визуализируют наличие участков плоскани, зоны остеодеструкции. При поражении ЦНС используют магнитно-резонансную томографию (МРТ), визуализируя очаги поражения головного мозга [14-16, 20, 43].

Микологические методы диагностики подразделяют традиционные (микроскопия, посев, гистология), серологические и культуральные, а также молекулярные методы исследования.

Проводят микроскопию как нативных, так и окрашенных препаратов. Наиболее часто мазок окрашивают по Граму, гематоксилин-эозином, по Цилю-Нильсону, тушью, калькофлюором белым. С учетом быстрого прогрессирования инфекции, прямая микроскопия с окраской калькофлюором белым и просмотром в люминесцентном микроскопе является наиболее оперативным методом диагностики [5, 14, 38, 44]. Выявление характерного мицелия грибов в стерильных в норме биосубстратах и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) в сочетании с факторами риска, клиническими и инструментальными данными является одним из основных критериев постановки диагноза. Культуральное исследование наиболее актуально у пациентов с подозрением на фунгемию. Отметим, что хранение материала в холодильнике, гомогенизация его перед посевом могут уменьшать вероятность выделения микромицетов в культуре. Идентификацию культур проводят на основании макроморфологических и микроморфологических признаков микромицетов, а также молекулярных методов. Гистологическое исследование с использованием специфических красителей (метенамин-серебра по Грокотту (GMS) и применение реактива Шиффа (ПАС-реакция)) позволяют визуализировать элементы грибов в тканях и демонстрируют степень инвазии (наличие воспаления, некроза).

По данным ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), для диагностики инвазивных микозов рекомендованы некультуральные серологические методы. Для диагностики кандидемии у взрослых предложены два метода: комбинированное выявление маннана и антител к нему, а также количественное определение 1-3-β-D глюкозана (БДГ). Выявление маннана и антиманнана считается специфичным для идентифика-

ции *Candida* spp. в образцах сыворотки крови. У реципиентов трансплантатов внутренних органов тест на БДГ в сыворотке крови показал чувствительность 56% и специфичность 73% в отношении инвазивного кандидоза [45-47]. При трансплантации печени при пороговой концентрации БДГ 80 пг/мл сообщалось о чувствительности и специфичности 58%-75% и 65%-83% соответственно. При трансплантации легких чувствительность и специфичность теста для диагностики ИГИ колеблются от 71% до 80% и от 59% до 70% соответственно [38]. Ограничения данного подхода обусловлены недостаточной специфичностью для выявления инвазивного кандидоза: ложноположительные результаты были описаны у больных с бактериемией *Pseudomonas aeruginosa*, а также у лиц, проходивших курс лечения антибиотиками, полученными из грибов, внутривенными иммуноглобулинами или альбумином, а также при контакте с марлей или другими материалами, содержащими глюкозаны [48].

В последнее десятилетие было разработано несколько перспективных методов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления *Candida* spp. в клинических образцах [49]. Опубликованный мета-анализ, включающий 963 случая инвазивного кандидоза, показал чувствительность 95% к методам на основе ПЦР [50]. В проспективном исследовании, в котором 20% пациентов были реципиентами трансплантата, чувствительность и специфичность ПЦР для диагностики инвазивного кандидоза составили 80% и 70% соответственно [51].

Действующие руководящие принципы, выпущенные ESCMID и EORTC/MSG, не рекомендуют использовать для постановки диагноза только методы, основанные на ПЦР, поскольку не проводили независимые исследования для выработки общих стандартов применения и валидности единой методики. Однако в нескольких публикациях показана высокая эффективность этих методов для выявления кандидозных инфекций, в основном в ОРИТ. Амплификация ДНК, по-видимому, более полезна, чем другие методы, для раннего выявления кандидоза и видовой идентификации [14, 49]. Методы, основанные на ДНК, имеют чувствительность >90% у пациентов ОРИТ с инвазивным кандидозом после операций на органах брюшной полости [49].

Выявление галактоманнана (ГМ) является одним из некультуральных тестов, который в наибольшей степени способствует диагностике ИА. По данным мета-анализа, чувствительность теста на ГМ у реципиентов органов составляет 30% [52]. Специфичность теста снижается за счет потенциальных ложноположительных результатов, которые обычно связаны с применением β-лактамов. Поэтому ГМ не следует использовать для рутинной диагностики или мониторинга лечения. Наиболее значи-

мым тестом для диагностики ИА является обнаружение ГМ в БАЛ, чувствительность теста – 60% и специфичность – 95-98% [52]. Разработаны ПЦР-тесты для амплификации ДНК *Aspergillus*. ПЦР обычно проводится на образцах сыворотки и БАЛ. Важно отметить, что тест ПЦР в респираторном образце неспособен отличить колонизацию от заболевания, особенно при сердечно-сосудистых заболеваниях и у реципиентов трансплантатов органов грудной клетки, что может дать ложноположительный результат и, как следствие, гипердиагностику ИА [53].

Тест на криптококковый антиген спинномозговой жидкости (СМЖ) и сыворотки является критерием диагностики криптококкоза. Чувствительность и специфичность обнаружения криптококкового антигена в сыворотке крови и СМЖ при криптококковом менингите очень высоки – около 80 и 90% соответственно [52]. Титры сывороточного криптококкового антигена выше при внелегочных, диссеминированных и неврологических заболеваниях. Диагностика пневмоцистоза основана на исследовании БАЛ с использованием теста РЈ-ДНК: Eazyplex *Pneumocystis jirovecii* (Amplex Genie II, AmplexDiagnostics, GmbH, Gars am Inn, Германия) [40, 54].

Идентификацию микромицетов осуществляют с помощью матричного лазерного масс-спектрометра (MALDI-TOF) [14, 52, 53] для уточнения вида возбудителя и назначения антифунгальной терапии с учетом природной резистентности патогена к противогрибковым препаратам.

Стратегии лечения инвазивных микозов у реципиентов трансплантатов органов.

На основании высокого риска смерти от инвазивных микозов у реципиентов трансплантатов внутренних органов разработаны критерии назначения антимикотической профилактики.

Первичную антимикотическую профилактику назначают всем пациентам с массивной колонизацией микромицетами слизистых оболочек дыхательного и желудочно-кишечного тракта в послеоперационном периоде. Эмпирическая антимикотическая

терапия рекомендована при наличии клинических признаков локальной или генерализованной инфекции без ответа на стандартную антибактериальную терапию в течение 96 часов. Этиотропное лечение проводят после получения результатов диагностических тестов с учетом выявленного возбудителя и нозологической формы [14, 55].

Было показано, что противогрибковая профилактика при трансплантации печени значительно снижает риск доказанного инвазивного микоза (ОШ 0,37, 95% ДИ 0,19–0,72, $p = 0,003$). При использовании антимикотической профилактики смертность в специализированных отделениях от грибковых инфекций значительно снижается (ОШ 0,32, 95% ДИ 0,10–0,83, $p = 0,02$), хотя это не приводит к снижению смертности от всех причин (ОШ 0,87, 95% ДИ 0,54–1,39, $p = 0,55$). При отсутствии противогрибковой профилактики ИГИ возникают у 36% пациентов, перенесших трансплантацию [5]. Поэтому рекомендуется целенаправленная профилактика противогрибковыми препаратами, активными против *Candida* spp. и *Aspergillus* spp. В клинической практике флуконазол является наиболее часто используемым препаратом первой линии. Однако в связи с широким применением этого лекарственного средства у больных повышается риск развития инфекции, вызванной флуконазол-резистентными микромицетами [56]. Пациентам после трансплантации печени или тонкой кишки рекомендуется профилактика анидулафунгином, микафунгином или каспофунгином в стандартной дозе, а после трансплантации легких при наличии колонизации дыхательных путей *Aspergillus* spp. – назначение вориконазола. Кроме того, может быть рассмотрено применение липидной формы амфотерицина В. Оптимальная продолжительность целенаправленной профилактики до сих пор не установлена, в большинстве центров она проводится в течение 14-21 дней [38].

Этиотропную антимикотическую терапию назначают с учетом нозологической формы, возможных токсических эффектов антимикотиков и их взаимодействия с другими лекарственными препаратами (табл.3) [38].

Таблица 3

Сравнение спектра активности, основных токсичностей и лекарственных взаимодействий системных противогрибковых препаратов у реципиентов трансплантата печени

Агент	Спектр деятельности	Высокая токсичность	Взаимодействие с иммунодепрессантами	Комментарии
Азолы				
Флуконазол	Кандидоз Криптококкоз Кокцидиоидомикоз	Гепатотоксичность, удлинение интервала QT	Повышает уровень ИКН и ИМТ	Пероральные и внутривенные препараты; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Изавуконазол	Аспергиллез Мукормикоз	Возможна гепатотоксичность	Повышает уровень ИКН и ИМТ	Пероральные и внутривенные препараты; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ

Итраконазол	Кандидоз Аспергиллез	Гепатотоксичность, удлинение интервала QT, отрицательный инотропный эффект	Повышает уровень ИКН и ИМТ	Только пероральная форма; раствор сиропа лучше усваивается по сравнению с таблетками; более высокие затраты; ТЛМ может быть полезен; целевой минимальный уровень >0,5–1 мг/л
Позаконазол	Кандидоз Аспергиллез Эндемичные микозы Редкие и новые плесневые грибы	Непереносимость желудочно-кишечного тракта, гепатотоксичность, удлинение интервала QT	Повышает уровень ИКН и ИМТ	Только пероральная форма (сироп); задержка на несколько дней для достижения устойчивого уровня; ТЛМ может быть полезен. Целевой уровень лечения >1 мг/л (предпочтительно >1,25 мг/л)
Вориконазол	Кандидоз Аспергиллез Редкие и новые плесневые грибы	Гепатотоксичность, удлинение интервала QT, психозы, изменения зрения, дерматиты	Повышает уровень ИКН и ИМТ, осторожность при приеме сиролимуса	Пероральные и внутривенные препараты; ТЛМ может быть полезен; целевой уровень минимального минимума для лечения составляет >1 мг/л; уровень 1–5,5 мг/л считается адекватным для большинства пациентов; более высокий целевой показатель (например, 2–6 мг/л) следует использовать, если имеется заболевание с неблагоприятным прогнозом (например, инфекция ЦНС, объемное заболевание, мультифокальная инфекция)
Полиены				
Дезоксихолат амфотерицин В	Кандидоз Аспергиллез Эндемичные микозы Редкие и новые плесневые грибы	Почечная, электролитная и инфузионная токсичность	Повышенная нефротоксичность	Аэрозольные и внутривенные препараты; редко применяется при СOT из-за нефротоксичности; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Липидные формы АмВ	Кандидоз Аспергиллез Эндемичные микозы Редкие и новые плесневые грибы	Почечная, электролитная и инфузионная токсичность, но меньше, чем у дезоксихолата	Повышенная нефротоксичность, но меньше, чем при использовании дезоксихолата	Аэрозольные и внутривенные препараты; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Эхинокандины				
Анидулафунгин	Кандидоз Аспергиллез	Довольно редко, сыпь, гепатотоксичность	Циклоспорин повышает уровень анидулафунгина	Только внутривенная формулировка; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Каспофунгин	Кандидоз Аспергиллез	Довольно редко, сыпь, гепатотоксичность	Снижение уровня такролимуса, Циклоспорин повышает уровень каспофунгина	Только внутривенная формулировка; в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Микафунгин	Кандидоз Аспергиллез	Довольно редко, сыпь, гепатотоксичность	Повышение уровня циклоспорина и сиролимуса	Только внутривенная формулировка; вызывает опухоли печени у крыс (предупреждение «черного ящика» в Европе); в настоящее время недостаточно доказательств в поддержку рутинного использования ТЛМ
Другие				
Флуцитозин	Криптококкоз (в комбинации с АмВ)	Токсичность для костного мозга и печени	Усиление миелосупрессии при приеме сиролимуса и микофенолата мофетила	Только пероральная форма; уровни препарата пропорциональны дозе и почечной дисфункции; ТЛМ может быть полезен

Сокращения: АмВ: амфотерицин В; ИКН: ингибиторы кальциневрина (например, такролимус и циклоспорин); ЖКТ: желудочно-кишечный; в/в: внутривенно; ИМТ: ингибиторы mTOR (например, сиролимус и эверолимус); ТВО: трансплантация внутренних органов; ЦНС: центральная нервная система; ТЛМ: терапевтический лекарственный мониторинг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реципиенты трансплантатов внутренних органов имеют значительный риск развития инвазивных грибковых заболеваний. Наиболее часто у этой категории пациентов развиваются инвазивный кандидоз, инвазивный аспергиллез, пневмоцистоз, криптокок-

коз и мукормикоз. Клинические проявления инвазивных микозов неспецифичны и требуют повышенной микологической настороженности врачей для своевременной диагностики и адекватной антимикотической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Готье С.В., Хомяков С.М. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2022 году. XV сообщение регистра Российского трансплантологического общества. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2023; 25 (3): 8-30. [Gautier S.V., Khomyakov S.M. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2022. 15th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs. 2023; 25 (3):8-30. (In Russ.)]. doi.org/10.15825/1995-1191-2023-3-8-30
2. World Health Organization Human Organ and Tissue Transplantation. Report. [(accessed on 6 October 2023)];2022. Available online: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA75/A75_41-en.pdf
3. Kajdas A.A., Szostak-Węgierek D., Dąbrowska-Bender M., et al. Immunosuppressive therapy and nutritional status of patients after kidney transplantation: a protocol for a systematic review. J. Clin. Med. 2023; 12 (21): 6955. doi: 10.3390/jcm12216955
4. WHO Fungal Priority Pathogens list to guide research, development and public health action. 2022. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241> (accessed on 27 February 2023).
5. Senoner T., Breitkopf R., Trembl B., Rajsic S. Invasive fungal infections after liver transplantation. J. Clin. Med. 2023; 12 (9): 3238. doi: 10.3390/jcm12093238
6. Scolari M., Jorgenson M., Saddler C., Smith J. Fungal infections in liver transplant recipients. J. Fungi. 2021; 7: 524. doi:10.3390/jof7070524
7. Nagao M., Fujimoto Y., Yamamoto M., et al. Epidemiology of invasive fungal infections after liver transplantation and the risk factors of late-onset invasive aspergillosis. J. Infect. Chemother. 2016; 22: 84-89. doi:10.1016/j.jiac.2015.11.005
8. Barchiesi F., Mazzocato S., Mazzanti S., et al. Invasive aspergillosis in liver transplant recipients: Epidemiology, clinical characteristics, treatment, and outcomes in 116 cases. Liver Transpl. 2015; 21 (2): 204-12. doi: 10.1002/lt.24032
9. Andes D.R., Safdar N., Baddley J.W., et al. The epidemiology and outcomes of invasive *Candida* infections among organ transplant recipients in the United States: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). Transpl. Infect. Dis. 2016; 18 (6): 921-931. doi: 10.1111/tid.1261
10. Kauffman C.A., Freifeld A.G., Andes D.R., et al. Endemic fungal infections in solid organ and hematopoietic cell transplant recipients enrolled in the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). Transpl. Infect. Dis. 2014; 16 (2): 213-24. doi: 10.1111/tid.12186
11. Husain S., Sole A., Alexander B.D., et al. The 2015 International Society for Heart and Lung Transplantation Guidelines for the management of fungal infections in mechanical circulatory support and cardiothoracic organ transplant recipients: Executive summary. J. Heart Lung Transplant. 2016; 35: 261-82. doi:10.1016/j.healun.2016.01.007
12. Baker A.W., Maziarz E.K., Arnold C.J., et al. Invasive fungal infection after lung transplantation: epidemiology in the setting of antifungal prophylaxis. Clin. Infect. Dis. 2020; 70: 30-9. doi:10.1093/cid/ciz156
13. Clark N.M., Weigt S.S., Fishbein M.C., et al. Fungal infections complicating lung transplantation. Semin. Respir. Crit. Care Med. 2018; 39: 227-54. doi:10.1055/s-0037-1617443
14. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. 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: 1367-1376. doi:10.1093/cid/ciz1008
15. Dorschner P., McElroy L.M., Ison M.G. Nosocomial infections within the first month of solid organ transplantation. Transpl. Infect. Dis. Off J. Transplant. Soc. 2014; 16: 171-187. doi:10.1111/tid.12203
16. Timsit J.F., Sonnevile R., Kalil A.C., et al. Diagnostic and therapeutic approach to infectious diseases in solid organ transplant recipients. Intensive Care Med. 2019; 45 (5): 573-591. doi:10.1007/s00134-019-05597-y
17. Patel M.H., Patel R.D., Vanikar A.V., et al. Invasive fungal infections in renal transplant patients: a single center study. Ren. Fail. 2017; 39 (1): 294-298. doi: 10.1080/0886022X.2016.1268537
18. Samanta P., Clancy C.J., Nguyen M.H. Fungal infections in lung transplantation. J. Thorac. Dis. 2021; 13 (11): 6695-6707. doi: 10.21037/jtd-2021-26
19. Shoham S., Marr K.A. Invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. Future Microbiol. 2012; 7 (5): 639-655. doi: 10.2217/fmb.12.28
20. Peghin M., Monforte V., Martin-Gomez M.T., et al. Epidemiology of invasive respiratory disease caused by emerging non-*Aspergillus* molds in lung transplant recipients. Transpl. Infect. Dis. 2016; 18: 70-8. doi:10.1111/tid.12492
21. Park B.J., Pappas P.G., Wannemuehler K.A., et al. Invasive non-*Aspergillus* mold infections in transplant recipients, United States, 2001-2006. Emerg. Infect. Dis 2011; 17: 1855-64. doi:10.3201/eid1710.110087
22. Kennedy C.C., Razonable R.R. Fungal infections after lung transplantation. Clin. Chest. Med. 2017; 38: 511-20. doi:10.1016/j.ccm.2017.04.011

23. George I.A., Santos C.A.Q., Olsen M.A., et al. Epidemiology of cryptococcosis and cryptococcal meningitis in a large retrospective cohort of patients after solid organ transplantation. *Open Forum Infect. Dis.* 2017; 4. doi:ofx004. 10.1093/ofid/ofx004
24. Lamothe F., Chung S.J., Damonti L., et al. Changing epidemiology of invasive mold infections in patients receiving azole prophylaxis. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64: 1619-21. doi:10.1093/cid/cix130
25. Sharma M., Rudramurthy S.M. & Chakrabarti A. Epidemiology of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients: an Indian perspective. *Curr. Fungal. Infect. Rep.* 2022; 16: 179-187. doi.org/10.1007/s12281-022-00446-w
26. Luong M.L., Chaparro C., Stephenson A., et al. Pretransplant *Aspergillus* colonization of cystic fibrosis patients and the incidence of post-lung transplant invasive aspergillosis. *Transplantation.* 2014; 97 (3): 351-7. doi: 10.1097/01
27. Aguilar C.A., Hamandi B., Fegbeutel C., et al. Clinical risk factors for invasive aspergillosis in lung transplant recipients: Results of an international cohort study. *J. Heart Lung Transplant.* 2018; 37: 1226-34. doi:10.1016/j.healun.2018.06.008
28. Saliba F., Delvart V., Ichai P., et al. Fungal infections after liver transplantation: Outcomes and risk factors revisited in the MELD era. *Clin. Transpl.* 2013; 27 (4): E454-61. doi: 10.1111/ctr.12129
29. Utsumi M., Umeda Y., Yagi T., et al. Risk analysis for invasive fungal infection after living donor liver transplantation: which patient needs potent prophylaxis? *Dig. Surg.* 2019; 36 (1): 59-66. doi: 10.1159/000486548
30. Alameer R., Nguyen M., Samanta P. Invasive fungal infections associated with COVID-19 infections in solid organ transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 2022; 22 (Suppl. S3): 645.
31. Favi E., Molinari P., Alfieri C., Castellano G., et al. Case report: Eculizumab Plus obinutuzumab induction in a deceased donor kidney transplant recipient with DEAP-hus. *Front. Immunol.* 2022; 13: 1073808. doi:10.3389/fimmu.2022.1073808
32. Szumilas K., Wilk A., Wiśniewski P., et al. Current status regarding immunosuppressive treatment in patients after renal transplantation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24:10301. doi:10.3390/ijms241210301
33. Yu M., Liu M., Zhang W., Ming Y. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics of Tacrolimus in kidney transplantation. *Curr. Drug Metab.* 2018; 19: 513-522. doi:10.2174/1389200219666180129151948
34. Bauer A.C., Franco R.F., Manfro R.C. Immunosuppression in kidney transplantation: State of the art and current protocols. *Curr. Pharm. Des.* 2020; 26: 3440-3450. doi:10.2174/1381612826666200521142448
35. Kajiwara M., Masuda S. Role of mTOR inhibitors in kidney disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 975. doi:10.3390/ijms17060975
36. Meneghini M., Bestard O., Grinyo J.M. Immunosuppressive drugs modes of action. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2021; 54-55: 101757. doi:10.1016/j.bpg.2021.101757
37. Bassetti M., Peghin M., Carnelutti A., et al. Invasive *Candida* infections in liver transplant recipients: clinical features and risk factors for mortality. *Transpl. Direct.* 2017; 3 (5): e156. doi: 10.1097/TXD.0000000000000673
38. Husain S., Camargo J.F. Invasive Aspergillosis in solid-organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin. Transplant.* 2019; 33 (9): e13544. doi: 10.1111/ctr.13544
39. Branch of Organ Transplantation of Chinese Medical Association. Technical specification for clinical diagnosis and treatment for invasive fungal disease in organ transplant recipients. *J. Organ Transplantation.* 2019, 10 (3): 227-236. doi: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.03.002
40. Ju C., Lian Q., Xu X., et al. Epidemiology and prognosis of invasive fungal disease in chinese lung transplant recipients. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 718747. doi: 10.3389/fmed.2021.718747
41. Baddley J.W., Forrest G.N., *AST Infectious Diseases Community of Practice.* Cryptococcosis in solid organ transplantation-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin. Transplant.* 2019; 33 (9): e13543. doi: 10.1111/ctr.13543
42. Gassiep I., McDougall D., Douglas J., et al. Cryptococcal infections in solid organ transplant recipients over a 15-year period at a state transplant center. *Transpl. Infect. Dis.* 2017; 19 (1). doi: 10.1111/tid.12639
43. Varotto A., Orsatti G., Crimi F., et al. Radiological assessment of paediatric fungal infections: a pictorial review with focus on PET/MRI. *In vivo.* 2019; 33 (6): 1727-1735. doi.org/10.21873/invivo.11663
44. Terrero-Salcedo D., Powers-Fletcher M.V. Updates in laboratory diagnostics for invasive fungal infections. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58 (6): e01487-19. doi.org/10.1128/JCM.01487-19
45. Cuenca-Estrella M., Verweij P.E., Arendrup M.C., et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18 Suppl 7: 9-18. doi: 10.1111/1469-0691.12038

46. Held J., Kohlberger I., Rappold E., et al. Comparison of (1->3)- β -D-glucan, mannan/anti-mannan antibodies, and Cand-Tec Candida antigen as serum biomarkers for candidemia. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (4): 1158-64. doi: 10.1128/JCM.02473-12
47. Li Y., Gao Y., Niu X., et al. A 5-year review of invasive fungal infection at an academic medical center. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 553648. doi: 10.3389/fcimb.2020.553648
48. León C., Ruiz-Santana S., Saavedra P., et al. Value of β -D-glucan and Candida albicans germ tube antibody for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in patients with severe abdominal conditions. *Intensive Care Med.* 2012; 38 (8): 1315-25. doi: 10.1007/s00134-012-2616-y
49. Fortun J., Meije Y., Buitrago M., et al. Clinical validation of multiplex quantitative real-time PCR (RT-PCR) for Invasive candidiasis (ic) in patients (pts) admitted in intensive care unit (ICU). Preliminary analysis. 23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2013; April 27-30; Berlin. Abstract # P1050.
50. Koehler F.C., Cornely O.A., Wisplinghoff H., et al. Candida-reactive T cells for the diagnosis of invasive Candida infection— a prospective pilot study. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1381. doi: 10.3389/fmicb.2018.01381
51. Leach L., Zhu Y., Chaturvedi S. Development and validation of a real-time PCR assay for rapid detection of *Candida auris* from surveillance samples. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56 (2):e01223-17. doi: 10.1128/JCM.01223-17
52. Gavalda J., Meije Y., Fortin J., et al. Invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20 Suppl 7: 27-48. doi: 10.1111/1469-0691
53. Haidar G., Falcione B.A., Nguyen M.H. Diagnostic modalities for invasive mould infections among hematopoietic stem cell transplant and solid organ recipients: performance characteristics and practical roles in the clinic. *Journal of Fungi.* 2015; 1 (2): 252-276. doi: 10.3390/jof1020252
54. Burzio C., Balzani E., Corcione S., et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia after heart transplantation: two case reports and a review of the literature. *Pathogens.* 2023; 12 (10): 1265. doi: 10.3390/pathogens12101265
55. Bitterman R., Marinelli T., Husain S. Strategies for the prevention of invasive fungal infections after lung transplant. *J. Fungi.* 2021;7 (2): 122. doi.org/10.3390/jof7020122
56. Fisher M.C., Alastruey-Izquierdo A., Berman J., et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2022; 20: 557-571. doi.org/10.1038/s41579-022-00720-1

Поступила в редакцию журнала 20.11.2023

Принята к печати: 24.11.23



Для цитирования: Рябинин И.А. Краткий очерк экологии микроскопических грибов. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 15-22. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-15-22

For citation: Ryabinin I.A. Brief outline of the ecology of microscopic fungi. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 15-22. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-15-22

КРАТКИЙ ОЧЕРК ЭКОЛОГИИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Рябинин И.А. (ассистент кафедры, н.с.)*

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

Микроскопические грибы являются неотъемлемым компонентом практически любых экосистем, выполняя в них различные функции. В обзоре представлены краткие сведения об экологии микроскопических грибов, особое внимание уделено микромицетам – возбудителям болезней человека. Рассмотрены следующие экосистемы: (1) почва; (2) атмосферный воздух вне помещений; (3) пресные водоемы; (4) соленые водоемы; (5) сточные воды и свалки твердых коммунальных отходов; (6) растительные макроорганизмы; (7) животные макроорганизмы; (8) лечебно-профилактические учреждения. В завершении помещен раздел о роли микромицетов в биодеструкции. Обзор составлен с учетом классических представлений об экологии микроскопических грибов, а также на основании современных исследований в этой сфере. Сообщение предназначено для широкого круга специалистов, чья деятельность связана с медицинской и санитарной микологией.

Ключевые слова: микромицеты, микробная экология, микробные сообщества, медицинская экология

BRIEF OUTLINE OF THE ECOLOGY OF MICROSCOPIC FUNGI

Ryabinin I.A. (assistant of the department, scientific researcher)

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

Microscopic fungi are an integral component of almost any ecosystem, performing various functions in them. The review provides brief information about the ecology of microscopic fungi, with special attention paid to micromycetes which are causative agents of human diseases. The following ecosystems were considered: (1) soil; (2) outdoor air; (3) fresh water; (4) salt water; (5) wastewater and municipal solid waste dumps; (6) plant macroorganisms; (7) animal macroorganisms; (8) medical institutions. At the end of the review there is a section on the role of micromycetes in biodegradation. The review is compiled taking into account classical concerns about the ecology of microscopic fungi, as well as on the basis of modern research in this area. The message is intended for a wide range of specialists whose activities are related to medical and sanitary mycology.

Key words: micromycetes, microbial ecology, microbial communities, medical ecology

МИКРОМИЦЕТЫ ПОЧВЫ

Почва является наиболее разнообразным по видовому составу местом обитания грибов, основным их резервуаром на планете.

В почвах Кольского полуострова находили микромицеты *Acremonium kiliense*, *Alternaria alternata*, *A. botrytis*, *Amorphotheca resinae*, *Aspergillus fumigatus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. sydowi*, *A. versicolor*, *Aureobasidium pullulans*, *Cephalotrichum stemonitis*, *Chaetomium bostrychodes*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. oxysporum*, *C. herbarum*, *Clonostachys rosea*, *Gibberella (Fusarium) fujikuroi*, *Fusarium oxysporum*, *Haematonectria haematococca*, *Gongronella butleri*, *Lecanicillium lecanii*, *Mucor hiemalis*, *M. racemosus*, *Myxotrichum cancellatum*, *M. deflexum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. canescens*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. decumbens*, *P. glabrum*, *P. janthinellum*, *P. miczynskii*, *P. purpurogenum*, *P. simplicissimum*, *P. spinu-*

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

Iosum, *Phoma glomerata*, *P. eupyrena*, *P. herbarum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhodotorula* sp., *Sarocladium strictum*, *Scopulariopsis brumptii*, *S. communis*, *Stachybotrys chartarum*, *Trichoderma viride* и *T. koningii* [1].

Почва является резервуаром огромного количества видов условно-патогенных и патогенных микромицетов. Диморфные грибы – возбудители первично инвазивных микозов из родов *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Blastomyces*, *Emergomyces*, *Talaromyces* (*T. marneffei*) мицелиальную фазу своего жизненного цикла проводят в почве эндемичных территорий. Споротрихоз, вызываемый диморфным грибом умеренных широт *Sporothrix schenckii*, считают профессиональной патологией работников земледелия, в частности промышленного цветоводства. Почвы населены многими видами семейства *Arthrodermataceae* – геофильными дерматомицетами, включая представителей родов *Nannizzia*, *Arthroderma*, *Ctenomyces* и *Guarromyces*. Иногда эти микромицеты поражают наружные покровы человека и животных. Одним из наиболее вирулентных геофильных дерматомицетов считают *Nannizzia gypsea*. Помимо этого, в почве обитает большинство видов мицелиальных грибов – возбудителей оппортунистических микозов (значительная часть мукоморомицетов, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* spp., *Scedosporium* spp., *Trichoderma* spp., *Scopulariopsis* spp. и многих других).

Среди почвенных дрожжей и дрожжеподобных грибов также имеются возбудители оппортунистических микозов: *Rhodotorula* spp., *Cryptococcus* spp. (редкие возбудители – *C. uniguttulatus* = *Filobasidium uniguttulatum*, *C. laurentii* = *Papiliotrema laurentii*), грибы, размножающиеся атроспорами – *Trichosporon* spp., *Geotrichum* spp., *Magnusiomyces* spp., *Saprochaete* spp., *Arthrographis* spp.

МИКРОМИЦЕТЫ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ (ВНЕ ПОМЕЩЕНИЙ)

В воздух микромицеты попадают в основном из почв за счет переноса с ветром. Более того, у многих грибов спорообразование в принципе нацелено на распространение пропагул воздушным путем, так переносятся споры из спорангиев, конидиом (конидиеносцев), базидиом (плодовых тел или их функциональных аналогов у базидиомицетов). Летучими могут быть и споры аском. Споры микромицетов часто имеют яркую окраску, ее обуславливают пигменты, предохраняющие их от действия солнечного ультрафиолета (меланин, каротиноиды, антрахиноиды и многие другие). Некоторые группы аскомицетов в ходе эволюции приобрели способность к гиперпродукции меланина. В медицинской микологии их называют опакогифомицеты (по Н.П. Елинову) или феогифомицеты (по Л. Айелло). И колонии, и

элементы микроскопического строения опакогифомицетов окрашены меланином в коричневые и черные цвета. Споры устойчивы к экстремальным физическим воздействиям (высушиванию, гиперосмолярной среде) за счет более толстой клеточной стенки, чем у других вегетативных образований гриба, а также ее особой химической композиции. Так, у грибов рода *Aspergillus* споры снаружи покрыты слоем гидрофобинов («rodlets») – белков, состоящих в основном из β-складчатых структур. Слой гидрофобинов выдерживает многие химические воздействия, он начинает слущиваться с клетки только под действием сильных минеральных кислот. «Летучесть» спор микромицетов очень сильно варьирует: она высока у мелких спор диаметром 2-3 мкм и слабо выражена у крупных спор, например диктиоспор грибов семейства *Pleurosporaceae* (рода *Alternaria*, *Ulocladium*, *Epicoccum*, *Stemphylium* и других), их длина может составлять несколько десятков микрометров. Слабой летучестью обладают споры грибов, выделяющих в месте спорообразования клейкие полисахариды (некоторые виды родов *Acremonium*, *Fusarium* и других).

Наряду с конидиями мицелиальных грибов, летучестью могут обладать и дрожжевые клетки. Так, А.А. Степановой был установлен необычный факт биологии возбудителя криптококкоза – *Cryptococcus neoformans* [2]. Как удалось обнаружить с помощью сканирующего электронного микроскопа, при старении культуры и ее высыхании крупная слизистая капсула дрожжевых клеток *C. neoformans* раскрывается и несколько отстает от клеточной стенки. Таким образом, дрожжевая клетка оказывается в своего рода «чаше», откуда ее может легко вынести воздушный поток. По-видимому, аналогичный процесс происходит в отложениях голубинового помета, в результате дрожжевые клетки криптококков попадают в пылевой аэрозоль и могут быть ингалированы человеком.

Состав микобиоты воздуха непостоянен, он определяется главным образом почвенной микобиотой конкретной местности и параметрами «розы ветров» в регионе, другими климатическими факторами, в ряде случаев – хозяйственной деятельностью человека.

В воздухе Санкт-Петербурга часто встречаются споры грибов *Alternaria alternata*, *A. botrytis*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium culmorum*, *F. roseum*, *F. sporotrichioides*, *F. fujikuroi*, *F. oxysporum*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium spinulosum*, *P. thomii*, *P. chrysogenum*, *Trichoderma viride*, *Rhizopus stolonifer*, а также неидентифицированных феогифомицетов [3]. *P. chrysogenum* и *F. oxysporum* являются наиболее распространенными видами. Микобиота городского воздуха отличается в «зеленых» территориях и местах промышленных загрязнений. Приме-

чательно, что среди этих видов фигурируют индукторы микогенной аллергии (*A. alternata*, *C. cladosporioides*, *P. chrysogenum*), а также токсигенные грибы (в частности, классические продуценты трихотеценов – *F. sporotrichioides* и *F. fujikuroi*) [4]. Перемещаясь с током воздуха, эти медицински значимые грибы получают возможность колонизировать жилые и промышленные помещения.

МИКРОМИЦЕТЫ В ПРЕСНЫХ ВОДОЕМАХ

В воды рек и озер микроскопические грибы попадают, как правило, благодаря вымыванию их спор из прибрежных почв и ила. Хотя известны и истинно пресноводные грибы, среди которых классическими считают представителей рода *Tricladium*, а также близких ему родов – *Fontanospora*, *Variocladium* и *Varicosporium* и некоторых других. Особенно типично для пресноводных гифомицетов образование ставроконидий (стаурокоидии) – особых экзогенных спор, чаще многоклеточных, имеющих звездчатую (отростчатую) форму. Вариации в строении ставроконидий имеют родо- и видоспецифические особенности. Так, у представителей рода *Dendrospora* образуются конидии с максимальным числом лучей, *Gyoeffiyella* spp. размножаются с помощью уникальных конидий, у которых каждая ветвь имеет изгиб по длинной оси; у видов из родов *Culicidospira*, *Clavariopsis* и *Laridospira* ставрокоидии имеют более крупное центральное тело из нескольких клеток и тонкие отростки. *Varicosporium* образует ставрокоидии с очертаниями без четкой лучевой симметрии, напоминая тонкие веточки [5, 6].

Наряду с истинными грибами, в воде пресных водоемов можно обнаружить очень близких грибам паразитов водорослей из группы «*Aphelidiomycota*» (или просто «*Aphelida*», афелиды), описанных отечественными исследователями. Их обнаружили всего чуть более десятка видов, принадлежащих к 4-м родам (*Aphelidium*, *Paraphelidium*, *Amoebaphelidium* – пресноводные, *Pseudaphelidium* – морской). Афелиды поражают зеленые и желто-зеленые водоросли, а также диатомеи. Когда мигрирующая форма афелид (зооспора) встречается с клеткой водоросли, она прикрепляется к ней и образует трубочку, пронзающую клеточную стенку. Через нее клетка афелиды оказывается внутри клетки водоросли, где превращается в трофонт, питающийся внутренним содержимым. В отличие от грибов, афелиды способны к фагоцитозу, так они поглощают материал клеток инфицированных водорослей. Со временем трофонт превращается в плазмодий, занимающий весь объем пораженной водорослевой клетки. Плазмодий имеет несколько ядер, большую центральную вакуоль и резидуальное (эксcretорное) тельце. Зрелый плазмодий (спорангий) делится на множество одноядерных

клеток, которые превращаются в зооспоры. Зооспоры выходят из водоросли через трещины или разрывы клеточной стенки, но иногда они остаются внутри на некоторое время в покоящейся форме (спорциста). Зооспоры афелид, в отличие от спор грибов, способны к активному передвижению, они плавают в воде с помощью жгутика либо ползают по поверхности субстрата, совершая амебовидные движения с помощью псевдоподий. Афелиды вместе с микроспоридиями и криптомицетами образуют группу «*Opisthosporidia*», формирующую наиболее близкую к настоящим грибами эволюционную ветвь [7].

Микроскопические грибы пресных вод участвуют в обрастании и биодеградации материалов набережных. Так, на гранитных набережных Санкт-Петербурга выявили разнообразную микобиоту, включая *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *Coniosporium* sp., *Epicoccum nigrum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp., *Hormonema dematioides*, *Mucor hiemalis*, *Mucor plumbeus*, *Mucor racemosus*, *Purpureocillium lilacinum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. decumbens*, *P. herquei*, *P. purpurogenum*, *Phaeosclera* sp., *Phoma herbarum*, *Rhizopus stolonifer*, *Scytalidium lignicola*, *Trichoderma koningii*, *T. viride*, и *Ulocladium chartarum* [8].

МИКРОМИЦЕТЫ СОЛЕННЫХ ВОД

Хотя вода морей и океанов не является типичным местом обитания грибов, на данный момент известно почти 1,7 тысяч видов «морских» микромицетов. Эта группа включает представителей отделов *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, подотдела *Mucoromycotina* [9, 10]. Одни виды встречаются в разных биотопах, другие – более специфичны для соленых вод, в частности, представители семейства *Halosphaeriaceae* (сордариомицеты) – самая большая таксономическая группа грибов морей. Вообще сордариевые аскомицеты, по видимому, больше других адаптировались к условиям соленых вод.

Наибольшего разнообразия микромицеты достигают в водах мангровых лесов. Так, например, в манграх островов Индийского океана находили аскомицеты *Aigialus mangrovei*, *Astrosphaeriella striatopora*, *Eutypa bathurstensis*, *Halorosellinia oceanica*, *Rimora mangrovei*, *Savoryella lignicola*, *Torpedospora radiata*, *Trematosphaeria mangrovei*, *Verruculina enalia* и *Zopfiella marina* [11]. В этом перечне особого внимания заслуживает *Halorosellinia oceanica* (сем. ксилляриевые, класс сордариомицеты) – самый частый обитатель мангр, широко распространенный на водных древесных растениях экваториального и тропического пояса. У этого гриба обычно наблюдают только

половое размножение. На поверхности дерева (обычно с утраченной корой) появляются шаровидной формы черные тела – псевдостромы диаметром 0,4-0,8 мм, которые располагаются одиночно или группами. Внутри псевдостром находится рыхлое сплетение гиф и фрагменты древесины, а снаружи она покрыта микроскопическими плодовыми телами – перитециями (до 30), которые как бы «вмурованы» в ее оболочку, а их устья (остиолы) обращены кнаружи. У зрелых псевдостром поверхность становится черной из-за высвобождения из перитециев аскоспор. Аскоспоры эллиптические, темно-оливковые или тускло-коричневые созревают, как у всех сордариевых, в удлинённых (цилиндрических) сумках. На питательных средах колонии белые до бело-серых, в них свободно формируются аски с аскоспорами. Анаморфу этого гриба видели редко, образование конидиеносцев не характерно, если они появляются, то имеют древовидную форму (как у большинства представителей семейства), где одноклеточные конидии образуются из выростов конидиеносных гиф группами.

В морских отложениях, где скапливаются трудно разрушаемые органические соединения, большую роль в их разложении и дальнейшей минерализации играют траухитриды – грибоподобные простейшие, ранее относимые к хитридиомицетам.

Как ни странно, богато населены грибами даже наиболее глубокие области Мирового Океана, где живые организмы довольно разрежены. Так, в водах Марианской впадины, как оказалось, наиболее частыми представителями микобиоты являются (по мере уменьшения частоты обнаружения) *Malassezia globosa*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium herbarum*, *Emericellopsis maritima*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Hortaea werneckii*, *Aspergillus penicillioides*, *Talaromyces purpureogenus*, *Sarocladium kiliense*, *Rhodotorula mucilaginoso*, *Sporidiobolus pararoseus* и *Candida etchellsii* [12]. В этом видовом составе большинство представителей – довольно обычные дрожжевые и мицелиальные грибы почв, а *M. globosa* хорошо известна как колонизатор кожи и возбудитель заболеваний человека. После внедрения некультуральных, молекулярно-генетических методов изучения микробных сообществ – приемов метагеномики, малассезий, столь прихотливых по питательным потребностям грибов, высоко адаптированных паразитов животных начали обнаруживать «вне хозяина» в совершенно нетипичных биотопах, например, в арктических зонах и высокогорье. Однако культуральные исследования пока не позволили получить такие уникальные экстремофильные штаммы *Malassezia* spp.

Встречаются микромицеты и в живых сообществах гидротермальных источников на дне океанов. В донных отложениях выявили аскомицеты из родов *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Capronia*, *Diaporthe*,

Engyodontium, *Exophiala*, *Graphium*, *Helicoon*, *Hortaea*, *Nadsionella*, *Penicillium*, *Phaeococcomyces*, *Phaeotrichum*, *Phialophora*, *Pochonia*, *Rhinocladiella*, *Spilocaea*, *Tolypocladium*, *Tricodelitschia* и *Tritirachium*; базидиомицеты: *Auricularia*, *Bullera*, *Cryptococcus*, *Exidia*, *Fellomyces*, *Fibulorhizoctonia*, *Filobasidium* и *Kockovaella*; хитридиомицеты: *Chytridium*, *Kappamyces*, *Monoblepharella*, *Powellomyces*, *Rhizophlyctis*, *Rhizophyidium*, и *Spizellomyces* [13].

На морских пляжах Средиземноморья находили представителей родов условно-патогенных грибов *Aspergillus*, *Candida*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Phialemonium*, *Rhodotorula*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis*, *Scytalidium* и *Stachybotrys*, а также патогенных дерматомицетов *Trichophyton* spp. и *Microsporum* spp. [14]. В прибрежных регионах Красного моря выявили *Alternaria brasicae*, *Aspergillus caespitosus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. (Emericella) nidulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium thapsinum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. oxalicum*, *Scytalidium hyalinum* и *Thielavia hyalocarpa* [15]. Примечательно, что некоторые из этих грибов, особенно *P. chrysogenum* и *A. terreus*, способны расти на среде с нефтью [16].

МИКРОМИЦЕТЫ СТОЧНЫХ ВОД И СВАЛОК

Микобиота свалок твердых бытовых отходов формируется из микромицетов почв и доставленных предметов и материалов. В своем роде она является «отражением» хозяйственной деятельности человека. На свалках твердых бытовых отходов находили аскомицеты из родов *Acaulium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Dimergeris*, *Enterocarpus*, *Epi-sporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Helminthosporium*, *Hetersporium*, *Lichtheimia*, *Malbranchea*, *Melanocarpus*, *Microascus*, *Monascus*, *Mortierella*, *Mucor*, *Mycothermus*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Petriella*, *Pythium*, *Rasamsonia*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Scedosporium*, *Scopulariopsis*, *Sercospora*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thermomyces*, *Triangularia*, *Trichoderma*, *Tricomycetes* и *Ulocladium* [17]. Среди таких грибов в силу своеобразной химической композиции этого биотопа обнаруживают изоляты с необычными свойствами. В частности, штаммы *A. niger* из твердых коммунальных отходов обладают толерантностью к высоким концентрациям солей тяжелых металлов – меди, свинцу и кадмию. В несколько меньшей степени к этим соединениям устойчивы *A. flavus*, *A. terreus*, *Penicillium chrysogenum*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus* и *Trichoderma viride* [18]. Многие микромицеты, колонизирующие компосты из твердых коммунальных отходов, являются термофильными. Микромицеты и грибово-бактериальные сообщества рассматривают как пер-

спективных агентов биологической переработки трудно утилизируемых отходов для превращения их в природно безопасные субстанции, а иногда даже в полезные продукты [19].

МИКРОМИЦЕТЫ – КОЛОНИЗАТОРЫ И ВРЕДИТЕЛИ РАСТЕНИЙ

В ходе эволюции сформировалось довольно развитое, многостороннее взаимодействие представителей растительного и грибного царств. Растения являются «удобными» объектами для колонизации в силу выделения их тканями и органами (в особенности – цветами и плодами) соединений, оптимальных для питания микромицетов. Многие дрожжевые грибы, например представители родов *Candida* и *Saccharomyces*, колонизируют цветки (питаются их нектаром) и кожицу фруктов. С другой стороны, растения и грибы на уровне ризосферы вступают в сложные симбиотические отношения, которые выражаются в формировании **микоризы** – особого образования, разнообразного по структуре, возникающего благодаря оплетению мицелием и проникновением гиф в межклеточные пространства корней растений. Микориза является обоюдно необходимым «органом». Так, большинство орхидей не способны существовать (и даже прорасти из семени) без своего микромицета – симбионта (чаще всего базидиомицета). Исключительным примером тесного неразрывного симбиоза грибов и водорослей (а также цианобактерий) является появление в эволюции особой группы живых организмов – **лишайников**. С другой стороны, растения, содержащие в химической композиции своих тканей множество углеводов, часто подвергаются болезнетворному воздействию фитопатогенных грибов. Материал растений и их экстракты часто используют целиком для культивирования микромицетов и поддержания их в коллекциях культур («глицеринизированные овощи» по П.Н. Кашкину, сенной агар, картофельный агар, картофельно-морковный агар, среда «V8» и другие). Некоторые фитопатогенные грибы обладают довольно сложным циклом развития, к таким относят головневых и пукциниевых, или «ржавчинных» грибов (*Basidiomycota*). Примечательно, что среди фитопатогенных грибов многие являются в то же время возбудителями микозов человека (типичными или редкими) и микотоксинообразователями – это представители родов *Fusarium*, *Verticillium* (*Lecanicillium*), *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Claviceps* и других. Некоторые возбудители болезней растений питаются содержимым их клеток с помощью специальных видоизмененных гиф – **гаусториев** (например, у *Phytophthora infestans* и *Hyaloperonospora arabidopsidis*, их ранее относили к грибам класса *Oomycota*, теперь эти очень близкие грибам организмы, и сам таксон

перенесен в царство *Chromista*). Грибы способны разрушать даже древесину как живых, так и мертвых растений. Живые древесные растения нередко становятся объектом для колонизации трутовыми грибами (*Basidiomycota*), например, *Trametes hirsuta* (трутовик жестковолокнистый), *Fomes fomentarius* (трутовик настоящий), *Fistulina hepatica* (печеночный гриб). Интересно, что представителей первых двух видов в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина выделяли из бронхоальвеолярного лаважа пациентов онкогематологического профиля. Однако физиологическая и патофизиологическая роль базидиомицетов в микробиоте органов дыхания еще до конца не ясна. Печеночный гриб – съедобный трутовик. Один из видов трутовиков, *Inonotus obliquus* (трутовик скошенный), вернее, его гигантский склероций (чага), используют в фитотерапии для лечения заболеваний органов пищеварения. На мертвом растительном материале в дикой природе, а также методом промышленного выращивания на своеобразных «плантациях» получают плодовые тела съедобных базидиомицетов – опят (*Armillaria* spp. и других родов) и вешенок (*Pleurotus* spp.). Такие базидиомицеты являются примерами «грибов белой гнили» – биодеструкторов, питающихся лигнином, но не использующих целлюлозу. Среди базидиомицетов, колонизирующих преимущественно мертвую древесину, выделяются виды-космополиты – щелелистник обыкновенный (*Schizophyllum commune*) и бьеркандера опаленная (*Bjerkandera adusta*). Эти грибы (иногда даже при сохранном иммунном статусе) вызывают у людей поражения верхних и нижних дыхательных путей (неинвазивный риносинусит; аллергические поражения, сопровождающиеся хроническим кашлем; инфекции легких). Кроме того, эти два вида тоже являются примерами «грибов белой гнили» [20]. В противоположность им, «грибы бурой гнили» (*Leucogyrophana* spp., *Gloeophyllum* spp. и многие другие) разрушают целлюлозу, оставляя лигнин нетронутым. Иногда гниющую древесину колонизируют и используют и дрожжевые грибы. Среди них *Cryptococcus gattii* – возбудитель криптококкоза в тропиках и субтропиках, колонизатор гниющей древесины эвкалипта. В настоящее время регистрируют появление очагов распространения *C. gattii* в Европе. В отличие от наиболее частого возбудителя криптококкоза умеренных широт – *C. neoformans*, *C. gattii* может вызывать инфекции даже у людей с нормальным иммунным статусом. Часть грибов, разрушающих мертвую древесину в природе, в той же степени может разрушать ее в древесных постройках. Такими свойствами, в частности, обладают представители рода *Trichoderma* (*Ascomycota*) – возбудители «трухлявой гнили». Эти грибы являются активными продуцентами целлюлазы, которую получают из культуры штаммов триходерм промышленным путем. С

другой стороны, штаммы некоторых видов триходерм (*T. viride*, *T. asperellum*, *T. lignorum*) используют как грибы – антагонисты фитопатогенов (например, *Fusarium* spp., *Sclerotinia* spp.) для обработки плодово-овощных культур. Иногда *Trichoderma* spp. фигурируют как возбудители инвазивных микозов у людей с иммуносупрессией. Для тех же целей применяют препараты *Gliocladium catenulatum* (известен случай поражения глаза, вызванный этим микромицетом). Следует обратить внимание, что некоторые представители этих двух родов являются продуцентами микотоксина глиотоксина, вызывающего иммуносупрессию, поэтому необходим контроль над производством препаратов, получаемых из этих грибов [21].

Микромицеты могут поражать плоды растений как до сбора, так и после. В частности, непосредственно на растении различные плоды овощных (в том числе корнеплоды) и фруктовых культур поражает *Botrytis cinerea* – возбудитель серой гнили. Среди грибов, поражающих плоды после сбора, можно отметить вредителей цитрусовых – *Penicillium digitatum* и *P. italicum*, вредителя яблок – *Penicillium expansum* (теперь встречается редко в силу обработки яблок дифенилом).

МИКРОМИЦЕТЫ – КОЛОНИЗАТОРЫ И ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖИВОТНЫХ

Эта обширная группа грибов чрезвычайно актуальна для медицинской микологии, поскольку некоторые возбудители болезней животных, в частности млекопитающих, являются патогенными грибами и для человека. В этом аспекте особенно важны дерматомицеты – представители семейства *Arthrodermataceae* – облигатные патогены, поражающие кожу и ее придатки. Зоофильные виды этих грибов обычно специфичны для определенных групп «хозяев»: *Microsporium canis* – домашние собаки и кошки, *Lophophyton gallinae* – куры, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. erinacei* – грызуны и мелкие млекопитающие (насекомоядные, зайцеобразные), *T. benhamiae* – морские свинки, *Trichophyton equinum*, *T. bullosum*, *Nannizzia praecox* – лошади, *T. verrucosum* – крупный рогатый скот, свиньи – *Nannizzia nana*, полевки – *Nannizzia persicolor*, обезьяны – *T. simii*.

Один из возбудителей энтомофторомикоза человека – *Basidiobolus ranarum* колонизирует кишечник некоторых рыб, земноводных и рептилий. Важнейший возбудитель криптококкоза – *Cryptococcus neoformans* колонизирует кишечник голубей и сохраняет свою жизнеспособность в голубином помете.

Примечательно, что некоторые условно-патогенные микромицеты, в естественных условиях поражающие членистоногих, могут вызывать инва-

зивные микозы человека. Среди таких грибов – представители родов *Paecilomyces*, *Metarrhizium* и *Purpureocillium*. Это аскомицеты, имеющие кистевидные конидиеносцы (типа *Penicillium* spp., но без четкой ярусности и с иными по форме фиалидами с характерной суженной «шейкой»). В почве они образуют особые сплетения гиф – «ловчие сети», в которые попадают мелкие почвенные черви, колемболы, почвенные насекомые. Застрявшее насекомое оплетает мицелий, затем ферменты растворяют его ткани, таким образом эти грибы восполняют для своих пищевых потребностей дефицит азота в почве. Также арахнопатогенные (поражающие паукообразных) и энтомопатогенные грибы, встречающиеся в медицинской практике, относят к родам *Beauveria* и *Engiodontium*. Для них типичен симподиальный бластический конидиогенез с формированием зигзагообразных гиф (рахисов) в мутовках. Редкие арахнопатогенные грибы *Gibellula* spp. являются своего рода «двойниками» *Aspergillus* spp. Они образуют очень похожие конидиеносцы, но на довольно крупных коремиях, вырастающих прямо из тела пораженной особи. В отличие от аспергиллов заболевания человека они не вызывают.

ПРОБЛЕМА МИКРОМИЦЕТОВ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ

Наряду с глобальным отсутствием общепринятых норм содержания микромицетов в жилище и рабочих помещениях (кроме биотехнологических), нет таких показателей и для лечебно-профилактических учреждений. Фактически для ЛПУ на данном этапе действуют те же нормирующие документы по забору проб воздуха, что и для замкнутых помещений вообще, но вопросы кратности, временных интервалов, трактовки результатов исследования остается решить в самом ближайшем будущем. При рассмотрении больничной среды как источника возбудителей микозов следует обратить внимание, что оппортунистические микозы, в силу тяжёлых фоновых патологий пациентов из группы риска, часто являются госпитальными инфекциями (в частности, мукомикоз и инвазивный аспергиллез органов дыхания). В переносе возбудителей инвазивного кандидоза и некоторых других системных микозов, вызываемых дрожжами, значительную роль играют руки медицинского персонала. В распространении микромицетов в госпитальной среде имеет значение их способность колонизировать, обрабатывать различные субстраты, в том числе различные резины и пластики, стекло (инструменты и перевязочный материал). Особого внимания над распространением микромицетов требуют отделения онкологического, онкогематологического, трансплантологического, комбустиологического профилей, а

также отделения реанимации и интенсивной терапии вне зависимости от специфики.

МИКРОМИЦЕТЫ КАК БИОДЕСТРУКТОРЫ ЗДАНИЙ, СООРУЖЕНИЙ, ПРЕДМЕТОВ

Поскольку микромицеты обладают широкими адаптивными возможностями, позволяющими им приспособиваться к самым разным условиям существования в природе, они в той же степени эволюционно приобрели способности колонизировать и повреждать строительные материалы жилища человека и технические постройки, а также различные изделия. Конструктивные и строительные материалы из минеральных компонентов микромицеты разрушают с помощью органических кислот, обычно выделяемых в качестве продукта «ответвлений» из цикла Кребса. К таким следует отнести фумаровую кислоту (*Rhizopus oryzae*), щавелевую (*Penicillium oxalicum*, *Aspergillus niger*), итаконовую (*A. terreus*), лимонную (*A. niger*) и другие. Под действием грибов могут разрушаться даже крайне инертные материалы, например базальт. Отдельные микромицеты, в частности *Geomyces pannorum*, способны разрушать оптическое стекло (телескопов и микроскопов). *Chaetomium* spp. хорошо известны как биодеструкторы гипсокартона. Установлена способность микромицетов колонизировать минеральную вату, хотя они редко могут повреждать ее. Материалы из природных и синтетических полимеров разрушаются с помощью экзоферментов. Древесные конструкции повреждают возбудители бурой, белой, трухлявой и мозаичной гнили, о которых говорили ранее. Некоторые из них весьма специфичны для жилища человека, например *Serpula lacrimans* – «плачущий» домовый гриб.

Органические полимеры линейного строения используются клетками грибов по пути бета-окисления. Хуже всего грибы (и микроорганизмы в целом) разрушают разветвленные и галогензамещенные синтетические полимеры. Хотя удалось обнаружить даже деструкторов поливинилхлорида (*Aspergillus tamarii*) [22]. Микромицеты часто действуют не одиночно, а в составе сообщества с уча-

стием бактерий. В некоторых случаях в таких сообществах поселяются микроскопические клещи (они часто являются микофагами) и иногда – простейшие (амебы). Амебы появляются в составе таких сообществ обычно при высокой влажности (бассейны, затопленные подвалы нежилых зданий и др.), это представители родов *Naegleria*, *Balamuthia*, *Acanthamoeba*, *Limax* и другие. Своеобразное взаимоотношение можно наблюдать между клещами-микофагами (*Tarsonemus* spp.) и микромицетами на питательной среде [23]. Основные «поселения» клещей обычно локализуется в самих колониях грибов. Там имаго и личинки выедают пещеристые ходы. Выходя за пределы колонии, клещи переносят на себе массы пропагул поедаемого гриба, поэтому на поверхности агара поражённой культуры появляются мелкие вторичные колонии, расположенные «дорожкой». По-видимому, яйца клещей обладают некоторой летучестью, поскольку клещевые поражения грибов иногда бывают в посевах воздуха.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном кратком обзоре помещены примечательные факты по экологии микроскопических грибов в различных экологических нишах. Значительная часть микозов человека является экзогенными инфекциями, которые в одних случаях связаны с животными, но гораздо чаще в аспекте наиболее значимых оппортунистических микозов – с неживыми объектами. Мукормикоз и инвазивный аспергиллез, хронический аспергиллез легких и другие подобные заболевания вызывают микромицеты, которыми пациент заражается в условиях госпитальной среды или жилого помещения, куда они в свою очередь попадают из различных окружающих экосистем, претерпевающих урбанистическое воздействие в том или ином виде. Поэтому понимание микробной экологии, в том числе экологии условно-патогенных и патогенных микроскопических грибов, следует считать неотъемлемым элементом в подготовке современных специалистов в сфере медицинской микробиологии и эпидемиологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чапоргина А.А., Корнейкова М.В., Фокина Н.В. Деструкционная активность углеродоксилирующих микромицетов, выделенных из почв Кольского полуострова. Микология и фитопатология. 2019; 53 (1): 36-45. [Chaporgina A.A., Korneikova M.V., Fokina N.V. The destructive activity of hydrocarbon-oxidizing micromycetes isolated from soils of the Kola Peninsula. Mycology and Phytopathology. 2019; 53 (1): 36-45. (In Russ)]. doi:10.1134/s0026364819010057
2. Степанова А.А., Васильева Н.В., Ямагучи М., Чибана Х. Ультраструктура стареющих и обезвоженных клеток *Cryptococcus neoformans*. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (4): 47-52. [Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., Chibana H. Cellular pattern of morphogenesis, ultrastructure of senescent and desiccated in vitro growing yeast cells of *Cryptococcus neoformans*. Problems in Medical Mycology. 2016; 18 (4): 47-52. (In Russ)].
3. Иванова А.М., Курцидели И.Ю. Микромицеты в воздушном бассейне Санкт-Петербурга. Новости систематики низших растений. 2005; 39: 136-141. [Ivanova A.M., Kirtsideli I.Yu. Microfungi from air at St. Petersburg. News of the systematics of lower plants. 2005; 39: 136-141. (In Russ)].

4. Егорова Л.Н., Шихова Н.С., Ковалева Г.В. Структура сообществ микромицетов в почвах городских зеленых насаждений Владивостока. Вестник ДВО РАН. 2015; 1: 58-62. [Egorova L.N., Shikhova N.S., Kovaleva G.V. The structure of microfungal communities in soils of the urban green plantations in Vladivostok environment. Bulletin of the FEB RAS. 2015; 1: 58-62. (In Russ)].
5. Campbell J., Marvanová L., Gulis V. Evolutionary relationships between aquatic anamorphs and teleomorphs: *Tricladium* and *Varicosporium*. Mycol. Res. 2009; 113 (11): 1322-1334. doi.org/10.1016/j.mycres.2009.09.003
6. Descals E., et al. Aquatic Hyphomycetes. BMS Workshop [Electronic resource]. 1986. Mode of access: <http://www.ascofrance.com/uploads/document/1989DescalsAquaticHyphos-0001.pdf>
7. Karpov S.A., Mamkaeva M.A., Benzerara K., et al. Molecular phylogeny and ultrastructure of *Aphelidium aff. melosirae* (Aphelida, Opisthosporidia). Protist. 2014; 165 (4): 512-526. doi: 10.1016/j.protis.2014.05.003
8. Попова Т.А., Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Панова Е.Г. Биообрастание гранитных набережных Санкт-Петербурга. Вестник СПбГУ. 2014; 3 (2): 30-40. [Popova T.A., Vlasov D.Yu., Zelenskaya M.S., Panova E.G. Biofouling of granite embankments in Saint Petersburg. Bulletin of St. Petersburg State University. 2014; 3 (2): 30-40. (In Russ)].
9. *Marine Fungi* [Electronic resource]. 2023. Mode of access: <http://www.marinefungi.org/>
10. Raghukumar C. Biology of Marine Fungi. Springer Science & Business Media, 2012; 336 pp. doi.org/10.1007/978-3-642-23342-5
11. Cholake J.B., Aher R.K. Ascomycetes from Mangrove ecosystem of Wandoor-Andaman (India). Int. J. of Life Sciences. 2017; 5(4): 599-605.
12. Wang Z.P., Liu Z.Z., Wang Y.L., Bi W.H., et al. Fungal community analysis in seawater of the Mariana Trench as estimated by Illumina HiSeq. RSC Adv. 2019; 9 (12): 6956-6964. doi: 10.1039/c8ra10142f
13. Le Calvez T., Burgaud G., Mahé S., et al. Fungal diversity in deep-sea hydrothermal ecosystems. Appl. Environ. Microbiol. 2009; 75 (20): 6415-21. doi.org/10.1128/AEM.00653-09
14. Segal E., Brandão J. Exploring fungal contamination in the sand and water around the Mediterranean Sea and other water bodies of Europe – relevance to human health and wellbeing [Electronic resource]. 2023. Mode of access: <https://www.ecmm.info/working-groups/working-group-on-fungal-contamination-in-the-sand-and-water-around-the-mediterranean-sea-and-other-water-bodies-of-ecmm-countries/>
15. Alwakeel S.S. Molecular identification of fungi isolated from coastal regions of Red Sea, Jeddah, Saudi Arabia. Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences. 2017; 24: 115-119. doi: 10.1016/j.jaubas.2016.10.001
16. Abdel-Azeem A.M., El-Morsy E.M., Nour El-Dein M.M., Rashad H.M. Occurrence and diversity of mycobiota in heavy metal contaminated sediments of Mediterranean coastal lagoon El-Manzala, Egypt. Mycosphere. 2015; 6 (2): 228-240. doi.org/10.5943/mycosphere/6/2/12
17. Rebollido R., Martinez J., Aguilera Y., et al. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. Applied Ecology and Environmental Research. 2008; 6 (3): 61-67. doi.org/10.15666/aeer/0603_061067
18. Al-Sohaibani S.A. Heavy metal tolerant filamentous fungi from municipal sewage for bioleaching. Asian Journal of Biotechnology. 2011; 3: 226-236. doi.org/10.3923/ajbkr.2011.226.236
19. Atalia K.R., Buha D.M., Joshi J.J., Shah N.K. Microbial Biodiversity of Municipal Solid Waste of Ahmedabad. J. Mater. Environ. Sci. 2015; 6 (7): 1914-1923.
20. *Болезни древесины: белая и бурая гниль*. СК БрусДом [Электронный ресурс]. 2023. Режим доступа: http://sk-brusdom.com/static/bolezni_drevesiny_belaya_i_buraya_gnil/ [Diseases of wood: white and brown rot. SK BrusDom [Electronic resource]. 2023. Access mode: http://sk-brusdom.com/static/bolezni_drevesiny_belaya_i_buraya_gnil/ (In Russ)].
21. Jayalakshmi R., Oviya R., Premalatha K., et al. Production, stability and degradation of *Trichoderma* gliotoxin in growth medium, irrigation water and agricultural soil. Sci. Rep. 2021; 11 (1): 16536. doi: 10.1038/s41598-021-95907-6
22. Носенко Т.Н., Рябинин И.А., Фокина М.И. и др. Особенности организации колоний *Aspergillus* spp. при росте в присутствии поливинилхлорида. Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (1): 25-32. [Nosenko T.N., Ryabinin I.A., Fokina M.I., et al. Features of the organization of *Aspergillus* spp. colonies at growth in the presence of polyvinyl chloride. Problems in Medical Mycology. 2018; 20 (1): 25-32. (In Russ)].
23. Свидовый В.И., Рябинин И.А., Васильев О.Д. Микрофлора, ассоциированная с анатомическим бальзамированием, как вредный фактор трудового процесса. Гигиена и санитария. 2011; 2: 51-54. [Svidovoy V.I., Ryabinin I.A., Vasiliev O.D. The microflora associated with anatomical embalming as a harmful factor of the working process. Hygiene and sanitation. 2011; 2: 51-54. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 20.11.23

Принята к печати: 28.11.23

Для цитирования: Сварваль А.В., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Инфекции *Helicobacter pylori*. Некоторые аспекты лабораторной диагностики (обзор литературы). Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 23-28. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-23-28

For citation: Svarval A.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A. *Helicobacter pylori* infections. Some aspects of laboratory diagnostics (literature review). Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 23-28. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-23-28

ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI*. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Сварваль А.В. (с.н.с.)*, ^{1,2}Макарова М.А. (зав. лаб.; в.н.с.; доцент), ^{1,2}Кафтырева Л.А. (в.н.с.; зав. отделом микробиологии; руководитель группы эпидемиологии брюшного тифа; профессор кафедры)

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра медицинской микробиологии), Санкт-Петербург, Россия

*Множество фенотипических проявлений инфекции, обусловленной *Helicobacter pylori*, требуют дифференцированного подхода к назначению диагностических исследований в зависимости от клинической формы, стадии развития инфекции, приема лекарственных препаратов, а также эпидемической ситуации в каждой конкретной популяции населения. *H. pylori*-инфекция может быть диагностирована с помощью целого ряда разных методов: бактериологически, гистологически, молекулярно-генетическими методами, серологическим доказательством иммунного ответа и биохимическим анализом, основанным на характерной метаболической активности. Но ни один из них не является «золотым стандартом» для идентификации *H. pylori*. В данном обзоре освещены некоторые вопросы о возможностях и ограничениях существующих тестов для выбора оптимальных клинико-диагностических решений.*

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, гастрит, диагностика, методы

HELICOBACTER PYLORI INFECTIONS. SOME ASPECTS OF LABORATORY DIAGNOSTICS (LITERATURE REVIEW)

¹Svarval A.V. (senior scientific researcher), ^{1,2}Makarova M.A. (head of the laboratory; leading scientific researcher; associate professor), ^{1,2}Kaftyreva L.A. (leading scientific researcher; head of the department of Microbiology; head of the typhoid epidemiology group; professor of the department)

¹St. Petersburg Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur; ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Department of Medical Microbiology), St. Petersburg, Russia

*Many phenotypic manifestations of infection caused by *Helicobacter pylori* require a differentiated approach to the appointment of diagnostic studies, depending on the clinical form, stage of infection, medication intake, as well as the epidemic situation in each specific population. *H. pylori* infection can be diagnosed using a number of different methods: bacteriological, histological, molecular genetic methods, serological evidence of an immune response and biochemical analysis based on characteristic metabolic activity. But none of them is the "gold standard" for the identification of *H. pylori*. This review highlights some questions about the possibilities and limitations of existing tests for choosing optimal clinical and diagnostic solutions.*

Key words: *Helicobacter pylori*, gastritis, diagnostics, methods

Helicobacter pylori (*H. pylori*) – микроорганизм, который связан с этиопатогенезом острых и хронических форм гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, карциномы желудка, MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) – лимфомы желудка, а также «внежелудочных» заболеваний: невыявленной железодефицитной анемии, дефицита витамина В12, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры [1-7]. Инфекция, обусловленная *H. pylori*, продолжает оставаться одной из самых распространенных бактериальных инфекций у людей [8, 9]. Причины, определяющие различные исходы инфекции *H. pylori*, недостаточно понятны,

* Контактное лицо: Сварваль Алена Владимировна, e-mail: sa17e007@szgmu.ru

но факторы вирулентности этого микроба могут вызывать повреждение эпителия желудка, что приводит к изъязвлению или неопластической трансформации [2, 6]. Риск развития заболевания может быть связан с различиями в экспрессии специфических бактериальных факторов, вариациями воспалительного ответа хозяина или специфическими взаимодействиями между хозяином и микробом. В ходе эволюции *H. pylori* достиг баланса, при котором иммунная система организма хозяина стимулируется достаточно, чтобы вызвать воспаление и повреждение клеток в месте заражения и при этом избежать своего уничтожения. *H. pylori* уклоняется от иммунных ответов хозяина с помощью различных механизмов, ведущих к длительной колонизации и хроническому активному воспалению [2, 4, 6]. Значительные усилия ученых всего мира сосредоточены на определении этих механизмов.

H. pylori – грамотрицательные мелкие бактерии, имеют вид палочек слегка изогнутой или спиральной формы, длиной до 3 мкм и диаметром 0,5-1 мкм. Они обладают подвижностью за счет однополярно расположенных жгутиков (до пяти на каждую бактерию). Жгутики покрыты чехлом, имеют концевое утолщение (луковицу). Наличие жгутиков обеспечивает подвижность *H. pylori* в жидких и гелеобразных средах. Наряду с палочковидной формой, существует коккоидная форма *H. pylori*, которую микроорганизм принимает при «старении» культуры, ее хранении, воздействии неблагоприятных факторов внешней среды. Эта форма определяется и в биоптатах слизистой оболочки, и в условиях культивирования.

Микроорганизм относится к микроаэрофилам, в условиях культивирования растет при концентрации кислорода 5%. Культуры требовательны к составу питательной среды, оптимальными в настоящее время считаются кровяные питательные среды со специальными стимулирующими добавками и антибиотиками для подавления посторонней микрофлоры.

Характерная особенность биохимических свойств *H. pylori* – экстраординарная продукция фермента уреазы (расщепляющей мочевины до аммиака и CO₂), что широко используется для индикации микроорганизма и его дифференциации от бактерий иных видов [10, 11].

Основная экологическая ниша *H. pylori* – слизистая оболочка желудка. До 98% колонизирующей популяции находится в подслизистом пространстве, на поверхности клеток секреторного эпителия и около 2% – внутриклеточно. Вероятность нахождения жизнеспособных *H. pylori* в других локализациях и биологических материалах очень низка, что необходимо учитывать при бактериологическом исследовании. Часть бактериальной популяции эвакуируется из желудка и выделяется с испражнениями, где у

инфицированных пациентов легко детектировать антиген или фрагменты генома *H. pylori*, но его жизнеспособных клеток недостаточно для успешного культивирования, хотя, по всей вероятности, достаточно для реализации фекально-орального пути передачи инфекции [10, 11].

Основным принципом, касающимся тестирования на *H. pylori*, является то, что обусловленная этим микробом инфекция вызывает хроническое прогрессирующее повреждение слизистой оболочки желудка, которое у 10-15% людей связано со значительным риском развития язвенной болезни и рака желудка [5, 12, 13]. Общее обязательное показание для диагностики инфекции, обусловленной *H. pylori*, в клинической практике – это предполагаемая антихеликобактерная терапия [5, 12, 13]. В эпидемиологической практике показаниями для диагностики *H. pylori*-инфекции являются мониторинговые исследования ее распространенности в популяции населения, что необходимо для обоснования лечебной тактики и профилактики рака желудка в каждой стране (и, даже, в каждом ее регионе).

Множество фенотипических проявлений данной инфекции требуют дифференцированного подхода к назначению диагностического исследования в зависимости от клинической формы, стадии развития инфекции, приема лекарственных препаратов, а также эпидемической ситуации в каждой конкретной популяции населения. *H. pylori*-инфекция может быть диагностирована с помощью целого ряда разных методов: бактериологически, гистологически, молекулярно-генетическими методами, серологическим доказательством иммунного ответа и биохимическим анализом, основанным на характерной метаболической активности [10, 11, 14-17]. Но ни один из них не является «золотым стандартом» для идентификации *H. pylori*.

В литературе, а также в официальных документах международных объединений специалистов утверждено деление тестов диагностики и детекции *H. pylori* на «инвазивные» (требующие для своего осуществления специальной процедуры – гастродуоденоскопии и взятия биоптата слизистой оболочки желудка) и «неинвазивные» (не связанные с гастродуоденоскопией и биопсией, но предусматривающие исследование других биологических материалов от больных: крови, мочи, слюны, выдыхаемого воздуха, пробы стула) [10, 11, 14-17].

Используемые методики могут быть прямыми или непрямими. Прямые методы (исследование культуры, микроскопия) позволяют непосредственно выявить *H. pylori*, а косвенные методы (определение уреазы, нахождение антигена в кале, наличие антител в сыворотке крови) регистрируют не саму бактерию, а последствия ее персистенции в организме (табл. 1).

Таблица 1

Методы выявления инфекции, обусловленной *H. pylori*

Методы диагностики, требующие эндоскопического исследования	<ul style="list-style-type: none"> • Быстрый уреазный тест (БУТ) • Гистологические исследования • Культуральное исследование • Молекулярно-биологические методы определения генома <i>H. pylori</i> в биоптате <ul style="list-style-type: none"> а) ПЦР для детекции генов вирулентности <i>H. pylori</i> б) Молекулярные методы определения мутаций в геноме <i>H. pylori</i>, ответственных за резистентность к антибиотикам
Методы диагностики, не требующие эндоскопического исследования	<ul style="list-style-type: none"> • Тест определения антигена <i>H. pylori</i> в стуле • Уреазный дыхательный тест (УДТ) • ПЦР-методы определения генома <i>H. pylori</i> в желудочном соке, кале, слюне • Методы иммунологические (определение антител к <i>H. pylori</i> в сыворотке крови)

Факторы, влияющие на достоверность результата при диагностике *H. pylori*-инфекции.

К настоящему времени накоплен большой опыт применения всего арсенала методов диагностики *H. pylori*-инфекции для целей клинических, эпидемиологических и научных исследований. Он позволяет определить ряд факторов, влияющих на достоверность положительного и (или) отрицательного результата диагностического теста:

- чувствительность и специфичность метода диагностики;
- locus и условия получения биологического материала для исследования;
- условия и длительность хранения биологического материала и выполнения диагностического теста;
- клиническая форма и стадии инфекции *H. pylori*;
- прием пациентами ряда лекарственных средств, на фоне или после которого выполняется диагностическое исследование;
- возраст обследуемых лиц.

Зависимость результата от чувствительности и специфичности метода диагностики. Этот вопрос постоянно находится в поле зрения международных объединений специалистов. Результаты многочисленных сравнительных исследований представлены в таблице 2, которая также содержит сравнительные данные об экономичности тестов, что следует учитывать при назначении исследования [10, 11, 13- 17]. Конечный выбор диагностического теста определяется клиническими или эпидемиологическими показаниями.

Таблица 2

Сравнения диагностических тестов выявления инфекции, обусловленной *H. pylori*

Диагностический тест	Чувствительность	Специфичность	Достоинства	Недостатки
Быстрый уреазный тест	90%	90%	Быстрый и дешевый	Чувствительность снижается после лечения (тест не может обнаружить колонизацию с меньшей плотностью, чем 10 ⁴ бактериальные клетки в образце)
Гистология	80-95%	99%	Удобство хранения и транспортировки образцов, возможность проведения ретроспективного анализа, оценка степени обсемененности <i>H. pylori</i> и состояния слизистой оболочки желудка	Во многом зависит от правильного выполнения биопсии, приготовления препаратов и их окраски, квалификации патолога
Культуральный метод	30-90%	100%	Высокая специфичность; дает возможность изучения штаммов <i>H. pylori</i> другими методами, в том числе определение антибиотикорезистентности	Низкая чувствительность, высокая цена, часто недоступный, длительный
Молекулярно-биологические методы	95 %	95%	Чувствительные и специфичные методы; дают возможность определения отдельных генов для оценки патогенности <i>H. pylori</i> , наличия мутаций, определяющих резистентность к антибиотикам; быстрота получения результата	Не способны выявить активную инфекцию; не рекомендованы для контроля эрадикации
Серологическое исследование методом ELISA	76-84%	79-90%	Дешевый и доступный, рекомендован для диагностики до лечения	Не способен выявить активную инфекцию; низкая диагностическая значимость у детей; нельзя использовать для контроля эрадикации
Дыхательный тест с мочевиной 13C	95%	96%	Неинвазивный, высокая специфичность, чувствительность, точность и воспроизводимость; рекомендован для диагностики до и после лечения; может быть использован у детей	Дорогой, требуется специальная аппаратура, на результат влияет прием антисекреторных препаратов
Определение антигена <i>H. pylori</i> в кале	95%	97%	Неинвазивный; простота получения материала; рекомендуется для диагностики до и после лечения	Не дает оценить активность инфекции

Зависимость результата от локуса и условий получения биологического материала. Основная экологическая ниша *H. pylori* – слизистая оболочка желудка, оптимальные условия для его существования и размножения представлены в подслизистом слое, на поверхности клеток железистого эпителия [1]. При атрофии железистого эпителия и замещении его эпителием кишечного типа уменьшается (вплоть до полного исчезновения) колонизация желудка *H. pylori*. Участки слизистой оболочки с атрофией, таким образом, непригодны для получения биоптата с целью диагностики инфекции *H. pylori*. В соответствии с рекомендациями Маастрихтских соглашений, оптимальным является получение биоптатов слизистой оболочки малой кривизны желудка, его пилорического отдела и тела [13]. Последний локус для биопсии обязателен, так как на фоне антисекреторного лечения язвенной болезни или гастрита воспалительный процесс в большей или меньшей степени смещается из антрального отдела в тело желудка. Другие биологические материалы от больных: желудочный сок, биоптаты слизистой оболочки ротовой полости. Рвотные массы малопригодны для диагностики, так как дают высокий процент ложноотрицательных результатов (до 60%). Исключения составляют пробы стула, в которых успешно определяются антигены *H. pylori* (при строгом соблюдении условий хранения материала перед исследованием) [11, 17].

Зависимость результата от условий хранения образцов перед исследованием. Строгое соблюдение правил хранения образцов обеспечивает корректность результатов детекции *H. pylori*, что обусловлено выраженной нестабильностью этого патогена вне экологической ниши. Несоблюдение правил и сроков хранения образцов являются частой причиной ложноотрицательных результатов диагностики инфекции *H. pylori* [10, 11, 14].

Зависимость результата от клинической формы и стадии инфекции *H. pylori*. Бактериальная нагрузка *H. pylori* различна при разных клинических формах инфекции. Как правило, она максимальна при хронических гастритах. У молодых пациентов бактериальная нагрузка снижается, что понижает чувствительность «инвазивных» и «неинвазивных» тестов (за исключением серологического анализа) при следующих состояниях: язвенное кровотечение, атрофический гастрит, предраковое состояние, злокачественные новообразования (карцинома желудка, MALT-лимфома) [13, 14].

Зависимость результата от приема пациентами лекарственных средств. Противомикробные препараты при лечении гастроудоденальных и иных (сопутствующих) болезней резко понижают бактериальную нагрузку *H. pylori*, в большинстве случаев – до неприемлемого в диагностике уровня. В связи с

этим рекомендуется прекратить прием противомикробных средств за 4 недели до лабораторной детекции *H. pylori* с помощью «инвазивных» и «неинвазивных» тестов, за исключением серологического исследования, результаты которого не зависят от приема данных препаратов [5, 12, 13]. Антисекреторные средства (ингибиторы протонной помпы (ИПП) и в меньшей степени – ингибиторы H₂-рецепторов) также уменьшают бактериальную нагрузку, поскольку снижают кислотность желудочного содержимого, и это сказывается на размножении *H. pylori*. По этой причине прием антисекреторных препаратов пациентам рекомендуют прекратить за 2 недели до лабораторной диагностики *H. pylori*-инфекции [5, 12, 13]. В случаях, когда отмена противомикробных и антисекреторных средств невозможна по клиническим показаниям, меняют тактику диагностики: отрицательный результат «инвазивных» и «неинвазивных» тестов обязательно подтверждают с помощью определения антихеликобактерных IgG-антител в сыворотке крови пациента.

Зависимость результата от возраста обследуемых лиц. При обследовании детей предпочтение отдается «неинвазивным» методам диагностики. При этом следует иметь в виду два момента: во-первых, содержание антихеликобактерных антител у детей ниже, чем у взрослых, поэтому отрицательный результат серологического анализа еще не означает отсутствия *H. pylori*-инфекции; во-вторых, у детей чаще встречается состояние «избыточного роста» различной микробиоты в желудочно-кишечном тракте, что может приводить к ложноположительным результатам уреазных тестов, поскольку некоторые виды стрептококков и стафилококков продуцируют уреазу (хотя и с меньшей интенсивностью, чем хеликобактерии) [13].

У пациентов пожилого возраста, в связи с частой атрофией железистого эпителия желудка и наличием сопутствующих заболеваний, а также лечебными мерами против них, повышена вероятность ложноотрицательных результатов. Исследования показывают, что тесты на уреазу дают 50% ложноотрицательных результатов у лиц старше 60 лет. В связи с этим отрицательные данные «инвазивных» и «неинвазивных» тестов должны быть подтверждены серологическим анализом [13].

Как видно из вышесказанного, для диагностики *H. pylori*-инфекции используется достаточно большое количество тестов, но стоит проблема выбора «золотого стандарта», поскольку ни один из представленных тестов не отвечает полностью этим требованиям. Для оценки неинвазивных методов обычно используют инвазивные тесты. Как правило, случай *H. pylori*-инфекции считается положительным, если выделен штамм *H. pylori* при бактериологическом обследовании или *H. pylori* не найден бактерио-

логически, но положительны и гистологический, и уреазный тесты. Инвазивные методы являются высокоспецифичными, но они отражают только малую часть поверхности слизистой оболочки желудка. Наличие атрофии и кишечной метаплазии уменьшает площадь обсемененности *H. pylori*. В таких случаях серологический метод предпочтительнее, чем дыхательный уреазный и тест определения *H. pylori* антигена в стуле.

Достоверная диагностика *H. pylori*-инфекции требует квалифицированного подхода к выбору наиболее адекватного метода с учетом его доступности, клинической картины, возраста обследуемого и т.д. Существенные проблемы для прямых методов детекции *H. pylori* создают труднодоступность его экологической ниши и наличие целого ряда факторов, занижающих чувствительность методов. Кроме того, имеет место значительная инертность в развитии иммунного ответа на антигены *H. pylori*, что также необходимо учитывать в диагностических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время происходит большой прогресс в создании новых, все более чувствительных тестов, основанных на молекулярно-биологическом подходе. Можно прогнозировать, что подобные методы будут сначала дополнять, а затем теснить методы классического бактериологического анализа и другие диагностические тесты. Единого «золотого стандарта» для референс-диагностики *H. pylori*-инфекции нет, и на основе современных знаний об этой инфекции можно утверждать, что такой метод невозможен. Различные клинические формы, а главное – эволюция гастрита как базового процесса, делают более информативными методы определения патогена в одних случаях и методы определения антител к нему – в других. Рекомендации различных международных соглашений по поводу диагностики *H. pylori*-инфекции дают хорошую основу для стандартизации подходов и в то же время требуют клинического мышления и рациональных решений при различных патологических состояниях. Точная диагностика *H. pylori* является важным шагом в успешном лечении этой инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blaser M., Atherton J. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. J. Clin. Invest. 2004; 113: 321-333. doi.org/10.1172/JCI20925
2. Bernardini G., Braconi D., Lusini P., Santucci A. *Helicobacter pylori*: immunoproteomics related to different pathologies. Expert Rev. Proteomics. 2007; 4 (5): 679-689. doi.org/10.1586/14789450.4.5.679
3. Correa P., Piazuelo M.B. *Helicobacter pylori* infection and gastric adenocarcinoma. US Gastroenterol. Hepatol. Rev. 2011; 7 (1): 59-64. PMID: 21857882
4. Martin M.E., Solnick J.V. The gastric microbial community, *Helicobacter pylori* colonization, and disease. Gut Microbes. 2014; 5: 345-350. doi.org/10.4161/gmic.28573
5. Fallone C.A., Chiba N., van Zanten S.V., et al. The Toronto consensus for the treatment of *Helicobacter pylori* infection in adults. Gastroenterology. 2016; 151: 51-69. doi.org/10.1053/j.gastro.2016.04.006
6. Naumann M., Sokolova O., Tegtmeyer N., Backert S. *Helicobacter pylori*: a paradigm pathogen for subverting host cell signal transmission. Trends in Microbiology. 2017; 25 (4). doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.004
7. Malfertheiner P., Megraud F., Rokkas T., et al. Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maas-tricht VI/Florence Consensus Report. Gut. 2022. doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327745
8. Hooi J.K.Y., Lai W. Y., Khoo Ng W., et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: systematic review and meta-analysis. J. Gastroenterology. 2017; 153: 420-429. doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022
9. Zamani M., Ebrahimitabar F., Zamani V., et al. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. Aliment. Pharmacol. Ther. 2018; 47: 868-876. doi.org/10.1111/apt.14561
10. Mitchell H., Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2002; 7: 1-8. doi.org/10.1046/j.1523-5378.7.s1.10.x
11. Mégraud F., Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin. Microbiol. Rev. 2007; 20 (2): 280-322. doi.org/10.1128/CMR.00033-06
12. El-Serag H.B., Kao JY., Kanwal F., et al. Houston consensus conference on testing for *Helicobacter pylori* Infection in the United States. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2018; 16 (7): 992-1002. doi.org/10.1016/j.cgh.2018.03.013
13. Megraud F., Bruyndonckx R., Coenen S., et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community. Gut. 2021; 70: 1815-1822. doi.org/10.1136/gutjnl-2021-324032
14. Жебрун А.Б. Инфекция *Helicobacter pylori*. СПб.: Феникс, 2006; 380 с. [Zhebrun A.B. Infection of *Helicobacter pylori*. St. Petersburg: Phoenix, 2006; 380 p. (In Russ)].

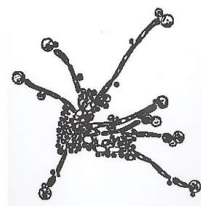
15. Успенский Ю.П., Суворов А.Н., Барышникова Н.В. Инфекция *Helicobacter pylori* в клинической практике. СПб.: ИнформМед, 2011; 572 с. [Uspensky Yu.P., Suvorov A.N., Baryshnikova N.V. Infection of *Helicobacter pylori* in clinical practice. St. Petersburg: InformMed, 2011; 572 p. (In Russ)].

16. Pohl D., Keller P.M., Bordier V., Wagner K. Review of current diagnostic methods and advances in *Helico-bacter pylori* diagnostics in the era of next generation sequencing. World J. Gastroenterol. 2019; 25 (32): 4629-4660 doi.org/10.3748/wjg.v25.i32.4629

17. Sabbagh P., Mohammadnia-Afrouzi M., Javanian M., et al. Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection: ideals, options, and limitations. Eur. J. of Clin. Microbiol. & Infect. Dis. 2019; 38: 55-66. doi.org/10.1007/s10096-018-3414-4

Поступила в редакцию журнала 17.11.23

Принята к печати: 24.11.23



Для цитирования: Хостелиди С.Н., Харитоновна Н.Н., Шадривова О.В., Куликов А.Н., Кольбин А.А., Качерович П.А., Гасанов Р.Р., Богомоллова Т.С., Чилина Г.А., Оганесян Э.Г., Тараскина А.Е., Борзова Ю.В., Васильева Н.В. Микотический эндофтальмит (описание клинического случая и обзор литературы). Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 29-38. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-29-38

For citation: Khostelidi S.N., Kharitonova N.N., Shadrivova O.V., Kulikov A.N., Kol'bin A.A., Kacherovich P.A., Gasanov R.R., Bogomolova T.S., Chilina G.A., Oganesyanyan E.G., Taraskina A.E., Borzova Yu.V., Vasileva N.V. Mycotic endophthalmitis (clinical case description and literature review). Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 29-38. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-29-38

МИКОТИЧЕСКИЙ ЭНДОФТАЛЬМИТ (ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Хостелиди С.Н. (доцент)*, ²Харитоновна Н.Н. (доцент), ¹Шадривова О.В. (доцент), ²Куликов А.Н. (начальник кафедры), ²Кольбин А.А. (преподаватель кафедры), ²Качерович П.А. (преподаватель кафедры), ²Гасанов Р.Р. (клин. ординатор), ¹Богомоллова Т.С. (зав. лаб.), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ¹Оганесян Э.Г. (ассистент кафедры), ¹Тараскина А.Е. (зав. лаб.), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

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

Эндофтальмит – это тяжелая офтальмологическая патология, угрожающая слепотой, сопровождающаяся воспалением оболочек и содержимого глазного яблока. Наиболее распространенная этиология инфекционного эндофтальмита, как правило, бактериальная или грибковая. Основные пути проникновения инфекции в глазное яблоко: экзогенный (например, травма, проникающее ранение глаза или осложнение хирургического вмешательства на глазном яблоке) либо эндогенный (диссеминация инфекции при септических процессах любой локализации или гематогенное распространение из локальных очагов). Основные возбудители микотического эндофтальмита – *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* и *Fusarium spp.* Чаще всего пациенты отмечают потерю зрения, но возможны и другие признаки воспаления. Лечение включает использование этиотропных антимикотиков и хирургических методов. В статье представлен клинический случай микотического эндофтальмита, обусловленного *Fusarium spp.*, и анализ публикаций из баз данных PubMed, WoS, Wiley Interscience и e-library на октябрь 2023 г.

Ключевые слова: *Fusarium spp.*, антимикотическая терапия, вориконазол, позаконазол, микотический эндофтальмит, фузариоз, эндофтальмит

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

MYCOTIC ENDOPHTHALMITIS (CLINICAL CASE DESCRIPTION AND LITERATURE REVIEW)

¹Khostelidi S.N. (associate professor), ²Kharitonova N.N. (associate professor), ¹Shadrivova O.V. (associate professor), ²Kulikov A.N. (head of department), ²Kol'bin A.A. (lecturer of the departments), ²Kacherovich P.A. (lecturer of the department), ²Gasanov R.R. (clinical resident), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ¹Oganesyanyan E.G. (assistant of the department), ¹Taraskina A.E. (head of the laboratory), ¹Borzova Yu.V. (head of the clinic), ¹Vasileva N.V. (director of the Institute, head of the department)

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

Endophthalmitis is a severe ophthalmological pathology threatening blindness, accompanied by inflammation of the membranes and contents of the eyeball. The most common etiology of infectious endophthalmitis is usually bacterial or fungal. The main ways of infection penetration into the eyeball: exogenous (for example, trauma, penetrating wound of the eye or complication of surgical intervention on the eyeball) or endogenous (dissemination of infection in septic processes of any localization or hematogenous spread from local foci). The most common pathogens of mycotic endophthalmitis are *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* and *Fusarium spp.* Most often, patients report loss of vision, but other signs of inflammation are also possible. Treatment includes the use of etiotropic antibiotics and surgical methods. The article presents a clinical case of mycotic endophthalmitis caused by *Fusarium spp.*, and an analysis of publications from the databases PubMed, WoS, Wiley Interscience and e-library for October 2023.

Key words: *Fusarium spp.*, antimycotic therapy, voriconazole, posaconazole, mycotic endophthalmitis, fusarium, endophthalmitis

ВВЕДЕНИЕ

Эндофтальмит является тяжелым офтальмологическим заболеванием, несущим высокий риск необратимой потери зрения. При эндофтальмите поражаются оболочки и внутренние структуры глазного яблока, симптоматика характеризуется выраженной воспалительной экссудативной реакцией, болевым синдромом, резким снижением зрения [1]. Возбудитель может проникнуть в глаз извне (экзогенный эндофтальмит, обычно посттравматический или послеоперационный). Также эндофтальмит может развиваться вследствие гематогенной диссеминации из других первичных очагов инфекции (эндогенный эндофтальмит). Посттравматический эндофтальмит, обусловленный открытой травмой глаза, составляет 25-30% всех случаев заболевания [2, 3]. По данным литературы, этиологическими факторами экзогенных эндофтальмитов чаще являются бактериальные и грибковые инфекции. При микотическом эндофтальмите возбудителями могут быть как дрожжеподобные, так и мицелиальные микромицеты. Клинические симптомы и тяжесть течения зависят от пути проникновения инфекции, патогенного потенциала возбудителя, иммунного статуса организма, а также от времени с момента инфицирования до постановки диагноза и начала терапии.

Диагностика и лечение микотических эндофтальмитов в настоящее время не имеют единых алгоритмов из-за трудоемкости выполнения диагностических процедур и ограниченной доступности антимикотических препаратов для интраокулярного введения. Относительная редкость микотических эндофтальмитов привела к тому, что отсутствуют доказательства 1-го уровня, которыми можно было бы руководствоваться при его терапии [4, 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В статье представлен клинический случай микотического эндофтальмита, вызванного *Fusarium* spp. Для постановки диагноза инвазивного микоза использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые EORTC/ MSGERC, 2020 (European Organization for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group Education & Research Consortium) [6].

Авторы провели анализ данных научной литературы в базах PubMed, WoS, Wiley Interscience и e-library (на октябрь 2023 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова: *Fusarium* spp., antifungal therapy, voriconazole, posaconazole, mycotic endophthalmitis, fusariosis, endophthalmitis.

Клинический случай.

Пациент Т., 32-х лет, обратился в офтальмологическую клинику ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» в сентябре 2023 г. с жалобами на снижение остроты зрения, светобоязнь, слезотечение, болезненность в области правого глаза.

Из анамнеза выяснено, что пациент считает себя больным с 29.07.23 г., когда, находясь в командировке в Сирийской Арабской республике, после сна отметил ощущение инородного тела в правом глазу и его покраснение. В связи с данными жалобами обратился в медпункт. Получал инстилляцию глазных капель ципрофлоксацином (0,3% раствор). В течение нескольких дней на фоне лечения положительного эффекта не наблюдал. 05.08.23 г. отметил снижение остроты зрения, светобоязнь, отёк века правого глаза. При очередном обращении к офтальмологу был госпитализирован, получал местную консервативную терапию: тетрациклиновая мазь и гель декспантенол 5% (корнерегель). 17.08.23 г. санитарной авиацией доставлен в г. Москву, госпитализирован в офтальмологическое отделение одного из центральных госпиталей МО РФ, где находился на обследовании и стандартном антибактериальном местном лечении в течение 2-х дней. Для продолжения терапии был переведен в офтальмологическое отделение окружного госпиталя МО РФ, где внутривенно получал ванкомицин, субконъюнктивально – амикацин, дексаметазон, парабульбарно триамцинолон, внутримышечно кетопрофен, инстилляцию тобрамицин, левофлоксацин, моксифлоксацин, бензилдиметилмиристоиламино-пропиламмоний (окомистин), хлоргексидин без положительной динамики. Спустя 3 недели пациент направлен в клинику офтальмологии ВМА им. С.М. Кирова с целью определения тактики дальнейшего лечения.

При осмотре состояние удовлетворительное. Со стороны других органов и систем без патологии. Пациент предъявлял жалобы на выраженные боли в правом глазу. Офтальмологический статус: правый глаз – острота зрения соответствует движению руки у лица, веки умеренно отёчны, выраженный блефароспазм, смешанная инъекция глазного яблока. При исследовании слезоотводящих путей нарушения проходимости не выявлено, при промывании через верхнюю и нижнюю слезные точки жидкость свободно вытекает через нос. Роговица диффузно отёчна, в оптической зоне округлый инфильтрат диаметром около 7 мм, поверхность дезэпителизирована, покрыта трудноотделяемым налетом беловато-желтого цвета, чувствительность роговицы снижена. Влага передней камеры мутная, в нижних отделах – гипопион высотой до 4 мм. Радужка в цвете и рисунке не изменена. Зрачок округлой формы

около 3 мм в диаметре, реакции на свет сохранены. Глазное дно не офтальмоскопируется (Рис.1).

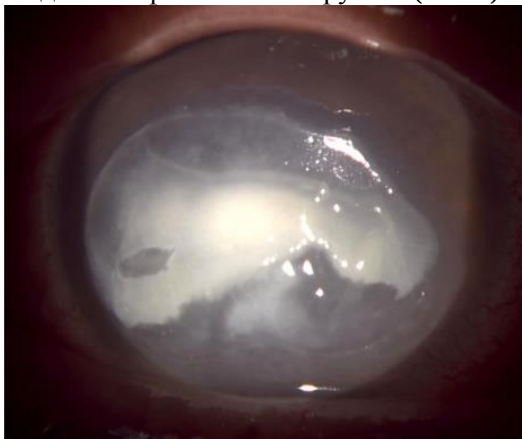


Рис.1. Биомикроскопическая картина при поступлении в клинику офтальмологии ВМА.

Левый глаз: острота зрения = 0,3 с коррекцией сферой -2,0 Дптр = 1,0. Вспомогательные органы глаза без патологии. Преломляющие среды глаза прозрачные. Зрачок округлой формы около 3 мм в диаметре, реакции на свет сохранены. На глазном дне диск зрительного нерва округлой формы, бледно-розовый с четкими контурами, ход и калибр сосудов не изменен. В макулярной зоне и на периферии без видимой патологии. Поля зрения не сужены.

На основании жалоб, анамнеза, оценки локального статуса и инструментальных методов исследования выставлен предварительный диагноз: кератит неустановленной этиологии правого глаза, миопия 2,0 диоптрий левого глаза. Провели дополнительное обследование. При конфокопии (09.09.23 г.): в передних слоях роговицы визуализирован мицелий грибов (Рис. 2).



Рис. 2. Результат конфокопии роговицы правого глаза. Мицелий грибов выявлен в передних слоях роговицы.

При цитологическом исследовании соскоба роговицы правого глаза (08.09.23 г.) наблюдали деструктивно-воспалительный процесс микотической природы. В крови (10.09.23 г.) выявлены иммуноглобулины G к вирусам герпеса IV и V типов

(Эпштейна-Барр и цитомегаловирус) в совокупности с обнаруженными в развернутой иммунограмме (08.09.23 г.) изменениями, характерными для перенесенной вирусной инфекции.

На компьютерной томографии (КТ) глазниц и околоносовых пазух от 12.09.23 г.: слезная железа справа увеличена в размерах, неоднородной структуры с наличием единичных гиперденсных включений; уплотнение мягких тканей верхнего века справа; пристеночное утолщение слизистой оболочки клеток решетчатого лабиринта, обеих верхнечелюстных и основной пазух; небольшое количество тяжистого содержимого в левой верхнечелюстной пазухе (Рис. 3).

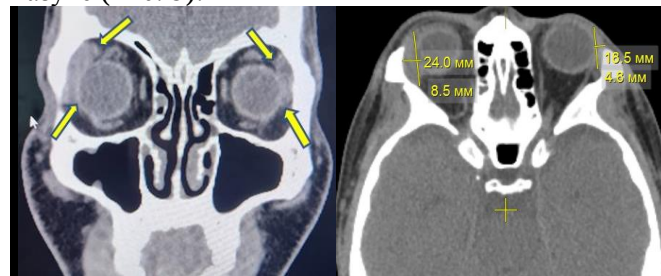


Рис. 3. КТ глазниц, асимметрия размеров правой и левой слезных желез, размеры правой слезной железы в 1,5 раза больше размеров левой слезной железы.

Назначена и проведена терапия флуконазолом (400 мг внутривенно) и противовирусным препаратом валацикловир (по 1 г 2 раза в день внутрь), местно: частые инстилляции раствора флуконазола для внутривенного применения, антисептиков пиклоксидина и повидон-йода 1%, а через неделю – пиобактериофага поливалентного. При поступлении и каждые 3 дня забирались посевы из конъюнктивальной полости и с поверхности глазного яблока на микробиоту. По результатам первого посева получен единичный рост *Lysinibacillus fusiformis*, а в четырех последовательных посевах роста микробиоты не было, в связи с чем верифицировать возбудителя и определить чувствительность к антибактериальному или антимикотическому препарату не представлялось возможным. В дальнейшем при посевах от 20.09.23 г. обнаружен рост *Staphylococcus epidermidis* из среды накопления, чувствительного в амикацину.

На фоне проводимой терапии наблюдали незначительную положительную динамику в виде уменьшения отека роговицы, краевой эпителизации инфильтрата на 0,5-1 мм, уменьшения гипопиона и незначительного ослабления болевого синдрома. По результатам конфокопии от 13.09.23 г.: массивы воспалительных клеток; рыхлая соединительная ткань; новообразованные сосуды; мицелий грибов не найден. При цитологическом исследовании соскобов роговицы правого глаза (19.09.23 г. и 20.09.23 г.) микробиота не обнаружена. С учетом отсутствия четкой положительной динамики назначена комбинированная терапия – флуконазол с амикацином.

Несмотря на терапию, участок некроза роговицы сохранялся, в связи с чем принято решение о хирургическом лечении, и 28.09.23 г. выполнена некрэктомия. Курс флуконазола был завершён в связи с отрицательными повторными посевами. Антибактериальная терапия амикацином была продолжена. Состояние пациента прогрессировало: гипопион увеличился, болевой синдром усилился. В связи с отсутствием эффекта от проводимого лечения 03.10.23 г. было принято решение выполнить парацентез передней камеры с целью забора содержимого для микологического исследования. После оперативного вмешательства нарастала интенсивность инъекции глазного яблока, увеличение инфильтрата роговицы и объёма гипопиона. В заднем сегменте глаза, по данным В-сканирования, изменений не наблюдали (Рис. 4).

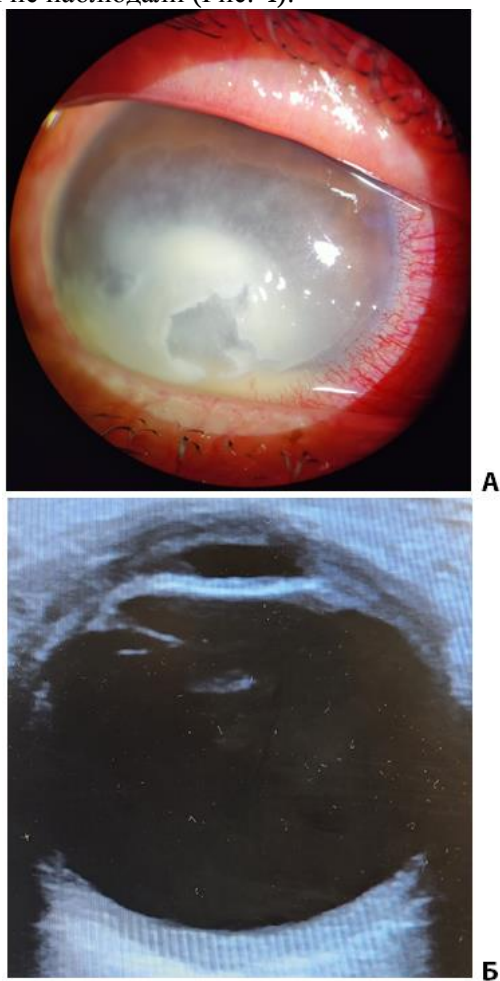


Рис. 4. Состояние глаза на фоне отмены флуконазола перед парацентезом и забором влаги передней камеры. А) Биомикроскопическая картина переднего сегмента правого глаза; Б) УЗ-сканограмма глаза.

При микроскопии содержимого передней камеры и соскоба из язвы роговицы от 03.10.23 г. визуализирован мицелий, сходный с мукоромицетами (Рис. 5). Микропрепараты направлены для консультации в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина.

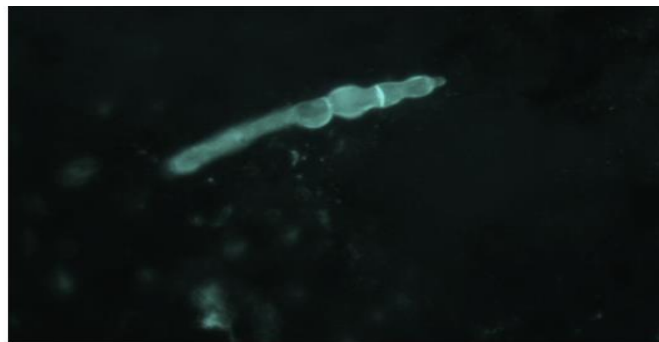


Рис. 5. Соскоб из язвы роговицы. Флуоресцентная микроскопия с калькофлюором белым. Септированный мицелий со вздутиями. Увеличение 400х.

06.10.23 г. во время осмотра произошла самопроизвольная перфорация роговицы в зоне истончения инфильтрата. Веки умеренно отёчны, выраженный блефароспазм, интенсивный болевой синдром. Определяется смешанная инъекция глазного яблока, из конъюнктивальной полости – обильное гнойное отделяемое. Дефект роговицы после перфорации в оптической зоне диаметром около 4 мм, в месте перфорации выявлен конгломерат отделяемого белесовато-жёлтого цвета творожистой консистенции, роговица диффузно отёчна. Глазное дно не офтальмоскопируется (Рис.6).



Рис. 6. А) Интенсивная смешанная инъекция глазного яблока, роговица диффузно отёчна, обширный рыхлый инфильтрат роговицы, в верхних отделах щелевидная зона перфорация с обильным желтоватым отделяемым из передней камеры. Б) Состояние после перфорации роговицы на 09.10.23 г.

По решению консилиума врачей-офтальмологов, проведена энуклеация правого глазного яблока в связи с высоким риском генерализации микоза. Глазное яблоко было направлено на гистологическое исследование, содержимое глазного яблока – на микроскопическое и микробиологическое исследование.

Пациент консультирован сотрудниками кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Диагностирован микотический эндофтальмит не уточненной этиологии. Рекомендовано: идентификация культуры микромицетов и определение чувствительности к антимикотикам; антимикотическая терапия позаконазолом (600 мг в сутки).

По результатам дообследования, культура микромицетов из передней камеры правого глаза определена как *Fusarium spp.* (Рис.7).

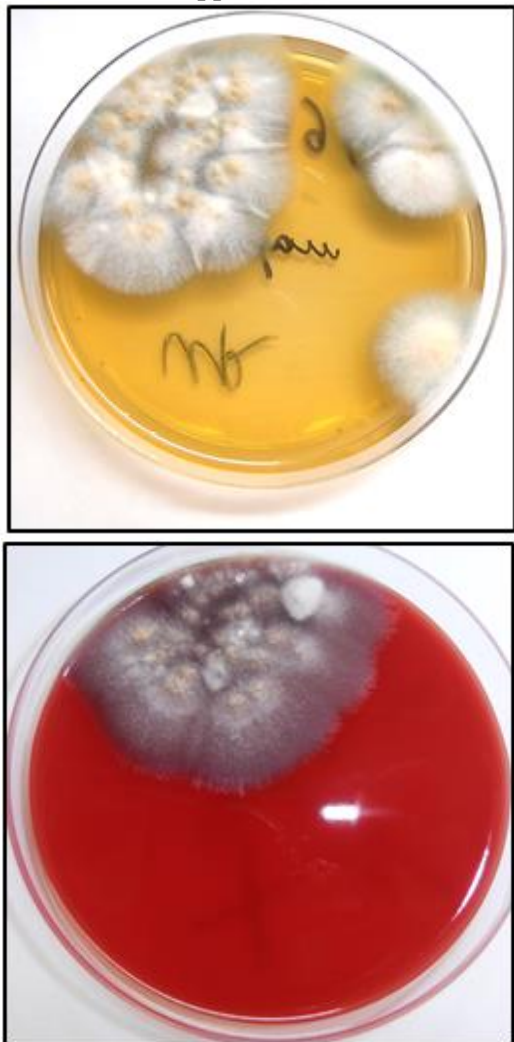


Рис. 7. Рост *Fusarium solani* на питательных средах (среда Сабуро и кровяной агар).

Провели секвенирование локуса большой рибосомальной субъединицы (D1/D2): культура идентифицирована как *Fusarium solani* (процент идентичности – 99,82-99,44%, размер локуса, вошедшего в анализ, – NL1 – 531 п.о., NL4-556 п.о.), секве-

нирование гена β -тубулина: процент идентичности – 100-99,64%, размер локуса, вошедшего в анализ, – Vt2A – 279 п.о., Vt2b – 232 п.о.). При определении чувствительности к антимикотикам выявлена резистентность к флуконазолу и вориконазолу.

По данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) от 24.10.23 г.: состояние после правосторонней энуклеации, МРТ-признаки послеоперационных и умеренных отечных изменений периорбитальных тканей справа, увеличение размеров и отечность тканей слезной железы справа (Рис.8).

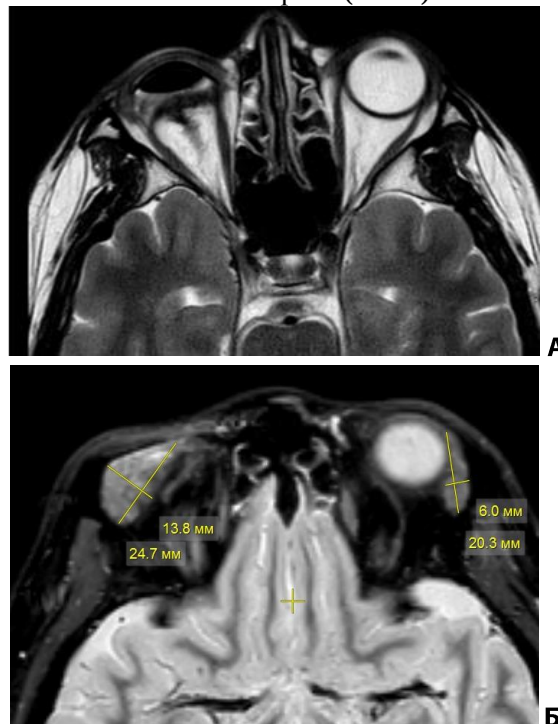


Рис. 8. МРТ от 24.10.23 г. А) Анофтальм справа. Б) Увеличенная слезная железа с гиперденсными включениями справа в сравнении с симметричной стороной.

По результатам гистологического исследования: глазное яблоко с отеком зрительного нерва, очаговым некрозом стенки, полнокровными сосудами с мелкоочаговыми кровоизлияниями, выраженной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией. Вдоль сосудистой оболочки визуализировано скопление гифов грибов. Морфологическая картина соответствует клиническому диагнозу «мукомикоз глазного яблока». Продлен прием позаконазола. Общая длительность антимикотической терапии составила 6 недель. В настоящее время продолжается динамическое наблюдение за пациентом, контрольные посевы и соскобы содержимого конъюнктивальной полости с поверхности опорно-двигательной культы глазного яблока, запланировано контрольное МРТ-исследование глазницы. При отсутствии данных за прогрессирование грибковой инфекции планируется вторичная имплантация орбитального вкладыша и косметическое индивидуальное протезирование.

ОБСУЖДЕНИЕ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Эндофтальмит – это редкое, но тяжелое заболевание, с поражением стекловидного тела, внутренних сред и тканей глаза, которое может привести к полной потере зрения. Грибковый эндофтальмит может развиваться как в результате проникающих травм и операций, так и гематогенного распространения инфекции. Крайне вариабельная клиническая картина грибкового эндофтальмита представляет собой диагностическую проблему, поскольку симптомы заболевания сходны с бактериальной, неинфекционной и опухолевой этиологией.

Этиология.

Экзогенный эндофтальмит был впервые описан в 1933 г. Rychener R.O [7]. На долю экзогенного эндофтальмита приходится до 80% случаев всех описанных эндофтальмитов [1, 2, 8, 9]. Возбудителями экзогенных эндофтальмитов, по данным разных исследователей, преимущественно являются грибы родов *Candida*, *Fusarium* и *Aspergillus*. Так, Silva R.A. et al. при анализе 47 изолятов от пациентов с экзогенным грибковым эндофтальмитом определили, что в 29,8% случаев он был вызван *Candida* spp., в 21,3% – *Fusarium* spp. и в 17,0% – *Aspergillus* spp. [10]. По результатам наших исследований, грибковые кератиты также часто предшествуют микотическому эндофтальмиту, и большинство из них связаны с *Fusarium* spp. [11]. Наиболее распространены посттравматические кератиты в тропических странах с теплым и влажным климатом [4]. Основными возбудителями эндофтальмитов и кератитов в Китае были виды *Fusarium* (37,2%) и *Aspergillus* (30,7%). [12, 13]. Xie L. и коллеги обнаружили, что грибковый кератит составил 61,9% случаев тяжелого инфекционного кератита за шестилетний период в Китае [14]. Факторами риска были травмы роговицы (51,4% пациентов), а основными возбудителями – виды *Fusarium* (73,3%) и *Aspergillus* (12,1%).

Другие авторы [15] при изучении культур-позитивного экзогенного грибкового эндофтальмита обнаружили, что 44% случаев связаны с предшествующим грибковым кератитом, 24% – результат проникающей травмы глаза, а 32% – после внутриглазной операции. Прежде всего, микотический эндофтальмит был связан с оперативным лечением катаракты.

Грибковый эндофтальмит после интравитреальных инъекций встречается очень редко (от 0,02 до 0,5%) [16]. Сообщалось о вспышках заболевания после интравитреальных инъекций, контаминированных *Vipolaris hawaiiensis* [17], но в последние годы количество таких случаев уменьшилось в связи с появлением стандартизованных форм антимикотических препаратов в виде глазных капель и мазей.

Эндогенный эндофтальмит развивается у 2-15% пациентов с эндофтальмитом и часто имеет двусторонний характер (до 27%) [4]. В серии случаев эндогенного эндофтальмита, опубликованных за последние 5 лет, от 6% до 50% имели грибковое происхождение [18-23]. Частота эндогенного эндофтальмита составляет 15-20% от всех случаев. Чаще всего осложнение развивается в результате гематогенного распространения инфекции у иммунокомпromетированных больных или пациентов ОРИТ с фунгемией. Наиболее распространенной причиной эндогенного грибкового эндофтальмита являются *Candida* spp. – 71,4% (*Candida albicans* – 59%) [23, 24].

В большинстве случаев грибковый эндофтальмит не имеет острой клинической картины. По данным исследования [25], медианы продолжительности латентного периода составляли 7 дней для посттравматического, 20 дней – для послеоперационного и 30 дней – для эндогенного эндофтальмита. В ретроспективной серии посттравматических эндофтальмитов у пациентов из Восточного Китая время от травмы до постановки диагноза эндофтальмита составляло 2-4 недели у 37,1% больных и более 4 недель – у 42,9% [25]. Другие авторы сообщают о запоздалой диагностике или первоначальном ошибочном диагнозе у 16-63% пациентов [26], из них некоторые случаи первоначально верифицировали как неинфекционный увеит. Отек век, инъекция конъюнктивы, гипопион, воспаление стекловидного тела и хориоретинит являются частыми, но неспецифическими признаками воспаления. Очаговые помутнения стекловидного тела (по типу «нити жемчуга») больше указывают на грибковую этиологию. Эндогенный эндофтальмит может начинаться с поражения сетчатки, которые прогрессируют в полость стекловидного тела и приводят к абсцессам [5] и потере зрения [27].

Диагностика.

Обязательными методами диагностики, помимо биомикроскопии переднего и заднего сегментов глаза, являются УЗИ и/или КТ- и МРТ-исследования. При обследовании визуализируют признаки воспаления: «нити жемчуга» стекловидного тела, облаковидные и более плотные изменения тканей [2, 4, 5].

Для верификации возбудителя необходимо выполнить пункцию передней камеры и/или стекловидного тела перед началом лечения. Известно, что пункция передней камеры имеет большую диагностическую ценность, как и биопсия стекловидного тела. Однако первый диагностический тест чаще применяют при эндогенных эндофтальмитах, тогда как биопсию – чаще при экзогенных [28].

Обычное обследование включает в себя прямую микроскопию (с использованием красителей

калькофлюора белого) и бактериологическое исследование на таких средах, как кровяной агар, картофельный декстрозный агар и агар Сабуро. Длительность культивирования должна быть не менее 14 дней, тогда как предварительные данные о росте микромицетов могут быть получены в первые 2-5 дней [5].

Kehrmann J. и соавторы сравнили методы культивирования у пациентов с подозрением на эндофтальмит и отметили, что 100% культур обнаруживали с использованием жидких сред, тогда как на твердых – только 46% [29].

В случаях с предшествующим кератитом, рекомендуют применять соскоб роговицы [27]. В серии случаев фузариозного эндофтальмита гиалоглифомыцеты сначала выявляли под микроскопом, а затем проводили идентификацию возбудителя с помощью ДНК-секвенирования [30].

При эндогенных эндофтальмитах рекомендуется проводить посев крови, несмотря на относительно низкую диагностическую ценность, для подтверждения микотической диссеминации у пациентов с изолированным поражением глазного яблока (от 9,2% до 25,6%) [28].

Галактоманнан (ГМ) представляет собой элемент клеточной стенки, специфичный для грибов *Aspergillus*. Диагностически значимые титры содержания галактоманнана описаны для бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), ликвора и крови. Тем не менее Dupont D. и коллеги сообщили об обнаружении ГМ в образцах стекловидного тела, предполагая, что он может играть диагностическую роль в случаях с отрицательным результатом культурального обследования и при отсутствии диагностики методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [31].

1-3-β-d-глюкан (БДГ) является основным компонентом клеточной стенки большинства грибов, включая *Candida* и *Aspergillus* [32]. Chen L. и соавторы информировали об обнаружении БДГ в образцах внутриглазных жидкостей как о признаке высокого подозрения на микотический эндофтальмит (хотя минимальные допустимые концентрации БДГ во внутриглазных жидкостях здоровых лиц не установлены) [33]. Ammar M.J. и др., основываясь на рекомендациях разработчиков, определяли сывороточный БДГ ≥ 80 пг/мл как положительный и установили чувствительность теста равную 66,7% для грибкового хориоретинита и 100% – для эндофтальмита, в то время как специфичность составила 74,4% [34]. Комбинация ПЦР-диагностики с определением БДГ у пациентов с культурально подтвержденной кандидемией выявила чувствительность 90% и специфичность – 79,5% [35].

Лечение.

Основным препаратом для лечения микотических эндофтальмитов является вориконазол в

нагрузочной дозе 400 мг 2 раза в сутки, затем внутривенно – 300 мг/сут. (или перорально – 400 мг в сут.). Возможно интравитреальное введение препарата 100 мкг/0,1 мл. Вориконазол обладает активностью против основных возбудителей микотического эндофтальмита [36]. С учетом большого числа лекарственных взаимодействий и индивидуальных особенностей метаболизма макроорганизма разработаны рекомендации по мониторингу уровня вориконазола в сыворотке крови [37].

Таблица 1

Эффективность противогрибковых препаратов для стартовой терапии микотического эндофтальмита до определения чувствительности возбудителя не установлена

Этиология	Предлагаемая начальная терапия
Кандидоз	Внутривенное/пероральное введение флуконазола ИЛИ
	Внутривенное введение вориконазола ИЛИ
	Микафунгин внутривенно (только при хориоретините)*
Аспергиллез	Вориконазол внутривенно
Фузариоз	Внутривенное введение вориконазола ИЛИ
	Пероральный позаконазол
Другая этиология	Внутривенное введение вориконазола ИЛИ
	Внутривенное введение амфотерицина В в сочетании с пероральным флуконазолом

* Внутривенные эхинокандины (микафунгин, анидулафунгин, каспофунгин) могут быть эффективны при хориоретинальных грибковых инфильтратах, но имеют низкие концентрации в стекловидном теле.

Рекомендуется сочетать интравитреальную терапию с введением того же антимикотика парентерально или перорально, чаще всего – 100 мкг/0,1 мл вориконазола [36]. Другой широко используемый для интравитреальной терапии антимикотик – амфотерицин В (5-10 мкг/0,1 мл). Интравитреальные инъекции можно повторить через 72 ч, в зависимости от клинической динамики [4]. Dave V.P. и соавторы интравитреальное введение амфотерицина В проводили каждые 48 часов и вориконазола – каждые 24 ч [38].

Для азол-резистентных видов *Candida* возможно назначение комбинации внутривенного амфотерицина В с пероральным флуцитозином [39]. Липосомальный амфотерицин В менее нефротоксичен и создает более высокие концентрации в стекловидном теле по сравнению с дезоксихолатом амфотерицина В [4, 5]. Системное лечение эхинокандинами (микафунгин, каспофунгин, анидулафунгин) может быть эффективным при хориоретинитах азол-резистентными видами *Candida* [40].

Американское общество инфекционистов для терапии аспергиллезного эндофтальмита рекомендует использование перорального или внутривенно-

го вориконазола с интравитреальным вориконазолом или интравитреальным введением дезоксихололом амфотерицина В [41]. Для эндофтальмита, вызванного грибами, отличными от *Candida* или *Aspergillus*, имеются очень ограниченные данные по возможностям лечения. При фузариозном эндофтальмите было несколько сообщений об успешной терапии системным вориконазолом (с амфотерицином В или без него) и интравитреальным вориконазолом [42, 43].

В то же время существует ряд публикаций о резистентных к вориконазолу фузариозных эндофтальмитах [44]. Авторы предлагают хирургические методы лечения совместно с использованием препаратов наиболее широкого спектра действия, такими как позаконзол и/или изавуконазол.

Guest J.M. и коллеги изучили применение изавуконазола в терапии экзогенного эндофтальмита, обусловленного *Aspergillus fumigatus*, на мышинной модели заболевания и пришли к выводу, что он был столь же эффективен после перорального приема, как и после интравитреального введения [45]. Изавуконазол представляет собой триазол широкого спектра действия второго поколения, не уступающий по эффективности вориконазолу при лечении инвазивного аспергиллеза и являющийся альтернативным препаратом при лечении инвазивного кандидоза [46]. Sng E.C.Y. и соавторы сообщали о применении перорального изавуконазола для лечения резистентного к флуконазолу кандидозного эндофтальмита [47].

Хирургическое лечение.

На сегодняшний день не существует рекомендаций относительно необходимости и сроков проведения хирургического лечения при грибковом эндофтальмите. Опубликовано несколько работ, призывающих к ранней и полной витрэктомии при микотическом эндофтальмите, и многие хирурги придерживаются этой точки зрения [48-50]. После оперативного лечения катаракты, особенно в случаях, когда после витрэктомии наблюдается ее рецидив инфекции, рекомендуется удаление хрусталика и капсульной сумки, т.к. они могут содержать инфекционный агент, приведший к рецидиву.

Relimpio-Lopez M.I. и коллеги рекомендуют обязательное хирургическое лечение при микотических поражениях глаза: иридэктомии инфильтрированных участков радужной оболочки, эндофотокоагуляцию очагов хориоретинита и т.д. [51]. В обзоре [28] показано, что витрэктомии выполняли 24,2-56,9% пациентов с эндогенным эндофтальмитом. В ретроспективном исследовании Sallam A. и др. обнаружили, что выполнение ранней витрэктомии значительно снижает риск отслойки сетчатки [52].

Зрительный прогноз при грибковом эндофтальмите неблагоприятный, при этом экзогенный эндофтальмит имеет худший прогноз, чем эндогенный [4]. В ретроспективном анализе культурально-подтвержденных эндофтальмитов энуклеация глазного яблока была проведена в 35,3% случаев, большинство из которых были вызваны микромицетами, что свидетельствует о худшем прогнозе для пациентов с грибковым эндофтальмитом [53].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одна из задач офтальмолога, который наблюдает пациента с эндофтальмитом, состоит в том, чтобы своевременно направить больного на микологическое обследование. Пациентам, у которых первые симптомы появляются через несколько недель после травмы, операции на глазах и/или имеются факторы риска эндогенного эндофтальмита, а также у которых при клиническом обследовании выявляют очаговые помутнения стекловидного тела или поражение сетчатки, при наличии в анамнезе пребывания в южных (тропических) географических областях, необходимо выполнить пункцию передней камеры и/или стекловидного тела для выявления возбудителя, идентификацию культуры и определение чувствительности к антимикробным препаратам, а также инструментальные методы исследования. Использование рутинных методов диагностики (посевы содержимого из конъюнктивальной полости и с поверхности глаза) нередко дают ложноотрицательные результаты. Своевременно назначенное микологическое обследование и лечение позволяют улучшить прогноз течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Meredith T.A., Ulrich J.N. Infectious endophthalmitis. / In Ryan's Retina, 6th ed.; Schachat, A., Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018; 3: 2266-2285.
2. Абакаров С.А., Лоскутов И.А., Кузнецов Е.Н. Прогностические факторы развития посттравматического эндофтальмита: предварительные результаты. Эффективная фармакотерапия. 2023; 19 (27): 16-21. [Abakarov S.A., Loskutov I.A., Kuznetsov E.N. Prognostic factors of posttraumatic endophthalmitis development preliminary results. Effective pharmacotherapy. 2023; 19 (27): 16-21. (In Russ)]. doi: 10.33978/2307-3586-2023-19-27-16-21
3. Волков В.В. Открытая травма глаза. СПб.: ВМедА, 2016. [Volkov V.V. Open eye injury. St. Petersburg: VMedA, 2016. (In Russ)].
4. Haseeb A.A., Elhusseiny A.M., Siddiqui, M.Z., et al. Fungal endophthalmitis: a comprehensive review. J. Fungi 2021; 7: 996. doi.org/10.3390/jof7110996

5. Das T., Agarwal M., Anand, A.R., et al. Fungal endophthalmitis: Analysis of 730 consecutive eyes from seven tertiary eye care centers in India. *Ophthalmol. Retina*. 2021; 6: 243-251. doi.org/10.1016/j.oret.2021.09.006
6. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. 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: 1367-1376. doi.org/10.1093/cid/ciz1008
7. Rychener R.O. Intra-ocular mycosis. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 1933; 31: 477-496.
8. Durand M.L. Endophthalmitis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19: 227-234. doi.org/10.1111/1469-0691.12118
9. Durand M.L. Bacterial and fungal endophthalmitis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2017; 30: 597-613. doi.org/10.1128/CMR.00113-16
10. Silva R.A., Sridhar J., Miller D., et al. Exogenous fungal endophthalmitis: An analysis of isolates and susceptibilities to antifungal agents over a 20-year period (1990-2010) *Am. J. Ophthalmol.* 2015; 159: 257-264.e251. doi: 10.1016/j.ajo.2014.10.027
11. Свистунова Е.М., Борзова Ю.В., Богомолова Т.С. и др. Этиология кератитов в Санкт-Петербурге. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22 (3): 125. [Svistunova E.M., Borzova Y.V., Bogomolova T.S., et al. Etiology of keratitis in Saint Petersburg. *Problems in Medical Mycology*. 2020; 22 (3): 125. (In Russ)].
12. Wan L., Cheng J., Zhang J., et al. Risk Factors, treatment strategies, and outcomes of endophthalmitis associated with severe fungal keratitis. *Retina*. 2019; 39: 1076-1082. doi: 10.1097/IAE.0000000000002112
13. An N., Liu X.N., Wang Y.N., et al. The pathogenic spectrum of fungal keratitis in northwestern China. *Int. J. Ophthalmol.* 2016; 9: 1846-1848. doi: 10.18240/ijo.2016.12.25
14. Xie L., Zhong W., Shi W., Sun S. Spectrum of fungal keratitis in north China. *Ophthalmology*. 2006; 113: 1943-1948. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.05.035
15. Cho H., Shin Y.U., Siegel N.H., et al. Endogenous endophthalmitis in the American and Korean population: an 8-year retrospective study. *Ocul. Immunol. Inflamm.* 2018; 26, 496-503. doi: 10.1080/09273948.2016.1195000
16. Tabandeh H., Boscia F., Sborgia A., et al. Endophthalmitis associated with intravitreal injections: Office-based setting and operating room setting. *Retina*. 2014; 34: 18-23. doi: 10.1097/IAE.0000000000000008
17. Sheyman A.T., Cohen B.Z., Friedman A.H., Ackert J.M. An outbreak of fungal endophthalmitis after intravitreal injection of compounded combined bevacizumab and triamcinolone. *JAMA Ophthalmol.* 2013; 131: 864-869. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.88
18. Yang Y., Mei F., Lin J., et al. Comparison of causative microorganisms of post-traumatic endophthalmitis with and without retained intraocular foreign bodies. *BMC Ophthalmol.* 2021;21:381. doi:10.1186/s12886-021-02130-y
19. Dave V.P., Pathengay A., Panchal B. Clinical presentations, microbiology and management outcomes of culture-proven endogenous endophthalmitis in India. *Indian J. Ophthalmol.* 2020; 68: 834-839. doi.org/10.4103/ijo.IJO_1091_19
20. Regan K.A., Radhakrishnan N.S., Hammer J.D., et al. Endogenous endophthalmitis: yield of the diagnostic evaluation. *BMC Ophthalmol.* 2020; 20: 138. doi: 10.1186/s12886-020-01418-9
21. Pillai G.S., Remadevi K.K., Anilkumar V. Clinical profile and outcome of endogenous endophthalmitis at a quaternary referral centre in South India. *Indian J. Ophthalmol.* 2020; 68: 827-833. doi.org/10.4103/ijo.IJO_948_19
22. Kuo G., Lu Y.A., Sun W.C. Epidemiology and outcomes of endophthalmitis in chronic dialysis patients: A 13-year experience in a tertiary referral center in Taiwan. *BMC Nephrol.* 2017; 18: 270. doi: 10.1186/s12882-017-0684-5
23. Tirpack A.R., Duker J.S., Bauman C.R. An Outbreak of endogenous fungal endophthalmitis among intravenous drug abusers in New England. *JAMA Ophthalmol.* 2017; 135: 534-540. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.0650
24. Shin S.U., Yu Y.H., Kim S.S., et al. Clinical characteristics and risk factors for complications of candidaemia in adults: Focus on endophthalmitis, endocarditis, and osteoarticular infections. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 93: 126-132. doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.049
25. Zhuang H., Ding X., Zhang T., et al. Vitrectomy combined with intravitreal antifungal therapy for posttraumatic fungal endophthalmitis in eastern China. *BMC Ophthalmol.* 2020; 20: 435. doi: 10.1186/s12886-020-01703-7
26. Maling S., King C., Davies N. A British ophthalmological surveillance unit study on metastatic endogenous endophthalmitis. *Eye*. 2018; 32: 743-748. doi: 10.1038/eye.2017.284
27. Spadea L., Giannico M.I. Diagnostic and management strategies of *Aspergillus* endophthalmitis: current insights. *Clin. Ophthalmol.* 2019; 13: 2573-2582. doi: 10.2147/OPTH.S219264
28. Danieleescu C., Anton N., Stanca H.T., Munteanu M. Endogenous endophthalmitis: a review of case series published between 2011 and 2020. *J. Ophthalmol.* 2020; 2020: 8869590. doi.org/10.1155/2020/8869590
29. Kehrmann J., Chapot V., Buer J., et al. Diagnostic performance of blood culture bottles for vitreous culture compared to conventional microbiological cultures in patients with suspected endophthalmitis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2018; 37: 889-895. doi: 10.1007/s10096-017-3182-6
30. Barrios Andrés J.L., López-Soria L.M., Alastruey Izquierdo A., et al. Endophthalmitis caused by *Fusarium*: An emerging problem in patients with corneal trauma. A case series. *Rev. Iberoam. Micol.* 2018; 35: 92-96. doi: 10.1016/j.riam.2017.09.007

31. Dupont D., Saison J., Mialhes P., et al. *Aspergillus* endophthalmitis: Potential role for vitreous galactomannan testing? Int. J. Infect. Dis. 2020; 96: 151-153. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.037
32. Dichtl K., Forster J., Ormanns S., et al. Comparison of beta-D-glucan and galactomannan in serum for detection of invasive aspergillosis: retrospective analysis with focus on early diagnosis. J. Fungi. 2020; 6: 253. doi: 10.3390/jof6040253
33. Chen L., Tao Y., Hu X. Utility of intraocular fluid beta-D-glucan testing in fungal endophthalmitis: a series of 5 cases. Am. J. Case Rep. 2020; 21: e921188. doi: 10.12659/AJCR.921188
34. Ammar M.J., Carroll R., Kolomeyer A., et al. Clinical utility of Beta-D-Glucan testing for endogenous fungal chorioretinitis or endophthalmitis. Retina. 2021; 41: 431-437. doi: 10.1097/IAE.0000000000002861
35. McKeating C., White P.L., Posso R., et al. Diagnostic accuracy of fungal PCR and beta-D-glucan for detection of candidaemia: A preliminary evaluation. J. Clin. Pathol. 2018; 71: 420-424. doi: 10.1136/jclinpath-2017-204692
36. Patel T.P., Zacks D.N., Dedania V.S. Antimicrobial guide to posterior segment infections. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 2021; 259: 2473-2501. doi: 10.1007/s00417-020-04974-4
37. Hanai Y., Hamada Y., Kimura T., et al. Favorable effects of voriconazole trough concentrations exceeding 1 mug/ml on treatment success and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. J. Fungi. 2021; 7: 306. doi: 10.3390/jof7040306
38. Dave V.P., Pappuru R.R., Pathengay A., et al. *Aspergillus* Endophthalmitis: clinical presentations and factors determining outcomes. Asia-Pac. J. Ophthalmol. 2020; 9: 9-13. doi: 10.1097/01.APO.0000617928.43993.7e
39. Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D.R., et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect. Dis. 2016; 62 (4): e1-e50. doi.org/10.1093/cid/civ933
40. Lupia T., Corcione S., Fea A.M., et al. Exogenous fungal endophthalmitis: clues to *Aspergillus* aetiology with a pharmacological perspective. microorganisms. 2020; 9: 74. doi: 10.3390/microorganisms9010074
41. Patterson T.F., Thompson G.R., Denning D.W., et al. practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect. Dis. 2016; 63: e1-e60. doi: 10.1093/cid/ciw326
42. Rizzello I., Castagnetti F., Toschi P.G., et al. Successful treatment of bilateral endogenous *Fusarium solani* endophthalmitis in a patient with acute lymphocytic leukaemia. Mycoses. 2018; 61: 53-60. doi: 10.1111/myc.12697
43. Yoshida M., Kiyota N., Maruyama K., et al. Endogenous *Fusarium* endophthalmitis during treatment for acute myeloid leukemia, successfully treated with 25-gauge vitrectomy and antifungal medications. Mycopathologia. 2018; 183: 451-457. doi: 10.1007/s11046-017-0221-x
44. Antequera P., Garcia-Conca V., Martín-González C., Ortiz-de-la-Tabla V. Multidrug resistant *Fusarium* keratitis. Arch. Soc. Esp. Oftalmol. 2015; 90 (8): 382-4. English, Spanish. doi.org/10.1016/j.oftal.2014.04.008
45. Guest J.M., Singh P.K., Revankar S.G., et al. Isavuconazole for treatment of experimental fungal endophthalmitis caused by *Aspergillus fumigatus*. Antimicrob. Agents Chemother. 2018; 62: e01537-18. doi:10.1128/AAC.01537-18
46. Ellsworth M., Ostrosky-Zeichner L. Isavuconazole: mechanism of action, clinical efficacy, and resistance. J. Fungi. 2020; 6: 324. doi: 10.3390/jof6040324
47. Sng E.C.Y., Tan A.L., Zhou P.Y., et al. *Candida* endophthalmitis treated successfully with isavuconazole: a case report. Open Forum Infect. Dis. 2021; 8: ofab516. doi: 10.1093/ofid/ofab516
48. Dib B., Morris R.E., Oltmanns M.H., et al. Complete and early vitrectomy for endophthalmitis after cataract surgery: an alternative treatment paradigm. Clin. Ophthalmol. 2020; 14: 1945-1954. doi: 10.2147/OPHTH.S253228
49. Grzybowski A., Turczynowska M., Kuhn F. The treatment of postoperative endophthalmitis: should we still follow the endophthalmitis vitrectomy study more than two decades after its publication? Acta Ophthalmol. 2018; 96: e651-e654. doi: 10.1111/aos.13623
50. Tabatabaei S.A., Aminzade S., Ahmadraji A., et al. Early and complete vitrectomy versus tap and inject in acute post cataract surgery endophthalmitis presenting with hand motion vision; a quasi-experimental study. BMC Ophthalmol. 2022; 22:16. doi: 10.1186/s12886-022-02247-8
51. Relimpio-López M.I., Gessa-Sorroche M., Garrido-Hermosilla A.M., et al. Extreme surgical maneuvers in fungal endophthalmitis. Ophthalmologica. 2018; 239: 233. doi: 10.1159/000484575
52. Sallam A., Taylor S.R., Khan A., et al. Factors determining visual outcome in endogenous *Candida* endophthalmitis. Retina. 2012; 32: 1129-1134. doi: 10.1097/IAE.0b013e31822d3a34
53. Dave T.V., Dave V.P., Sharma S., et al. Infectious endophthalmitis leading to evisceration: Spectrum of bacterial and fungal pathogens and antibacterial susceptibility profile. J. Ophthalmic Inflamm. Infect. 2019; 9: 9. doi: 10.1186/s12348-019-0174-y

Поступила в редакцию журнала 27.11.23

Принята к печати: 05.12.23

Для цитирования: Игнатьева С.М., Козлова О.П., Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Шадривова О.В., Соболев А.В., Смирнов С.А., Успенская О.С., Лыкова Е.П., Морозова Ю.А., Васильева Н.В. Определение (1,3)-β-D-глюкана в сыворотках крови больных инвазивным кандидозом в ОРИТ. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 39-45. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-39-45

For citation: Ignatieva S.M., Kozlova O.P., Khostelidi S.N., Borzova Yu.V., Shadrivova O.V., Sobolev A.V., Smirnov S.A., Uspenskaya O.S., Lykova E.P., Morozova Yu.A., Vasileva N.V. Determination of (1,3)-β-D-glucan in the blood serum of patients with invasive candidiasis in the ICU. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 39-45 (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-39-45

ОПРЕДЕЛЕНИЕ (1,3)-β-D-ГЛЮКАНА В СЫВОРОТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫМ КАНДИДОЗОМ В ОРИТ

¹Игнатьева С.М. (в.н.с.)*, ¹Козлова О.П. (доцент), ¹Хостелиди С.Н. (доцент), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой), ¹Шадривова О.В. (доцент), ¹Соболев А.В. (профессор кафедры), ²Смирнов С.А. (зав. отд.), ²Успенская О.С. (зав. отд.), ³Лыкова Е.П. (врач-гастроэнтеролог), ¹Морозова Ю.А. (лаборант-исследователь), 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); ²Ленинградская областная больница; ³Елизаветинская больница, Санкт-Петербург, Россия

Цель работы заключалась в оценке диагностических характеристик метода обнаружения 1,3-β-D-глюкана (БДГ) в сыворотке крови больных инвазивным кандидозом (ИК). Исследовали 39 клинических образцов от 35 пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) различных стационаров г. Санкт-Петербурга в период 2022-2023 гг. У больных ИК чувствительность метода определения БДГ составляла 56% для пациентов с кандидемией и 63% – с кандидозным перитонитом при специфичности 80% для обеих групп больных. Чувствительность метода не зависела от формы ИК и различалась для разных видов *Candida*. Тестирование БДГ в сыворотках крови больных ОРИТ в комплексе с микологическим исследованием стерильных в норме биосубстратов позволит своевременно выявить пациентов с ИК и сократить время постановки диагноза. Отмечена перспективность использования метода в ранней диагностике и мониторинге БДГ у больных ИК в ОРИТ.

Ключевые слова: 1,3-β-D-глюкан, инвазивный кандидоз, кандидозный перитонит, кандидемия, биологические образцы

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

DETERMINATION OF (1,3)-B-D-GLUCAN IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH INVASIVE CANDIDIASIS IN THE ICU

¹Ignatieva S.M. (leading scientific researcher), ¹Kozlova O.P. (associate professor), ¹Khostelidi S.N. (associate professor), ¹Borzova Yu.V. (head of clinic), ¹Shadrivova O.V. (associate professor), ¹Sobolev A.V. (professor of the department), ²Smirnov S.A. (head of the clinical department), ²Uspenskaya O.S. (head of clinical department), ³Lykova E.P. (gastroenterologist), ¹Morozova Yu.A. (laboratory researcher), ¹Vasileva 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, Allergology and Immunology); ²Leningrad Regional Hospital; ³Elizabethan Hospital, St. Petersburg, Russia

The aim of the work was to evaluate the diagnostic characteristics of the method of detecting 1,3-β-D-glucan (BDG) in the blood serum of patients with invasive candidiasis (IC). We examined 39 clinical samples from 35 patients of intensive care and intensive care units (ICU) of various hospitals in St. Petersburg in the period 2022-2023. In patients with IC, the sensitivity of the method for determining BDG was 56% for patients with candidemia and 63% for patients with candida peritonitis, with a specificity of 80% for both groups of patients. The sensitivity of the method did not depend on the shape of the IC and differed for different *Candida* species. Testing of BDG in the blood sera of ICU patients in combination with mycological examination of normally sterile biosubstrates will allow timely identification of patients with IC and reduce the time of diagnosis. The prospects of using the method in the early diagnosis and monitoring of BDG in ICU patients with IC were noted.

Key words: 1,3-β-D-glucan, invasive candidiasis, candidiasis peritonitis, candidemia, biological samples

ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Candida* являются одной из наиболее частых причин развития нозокомиальных инфекций кровотока и инвазивного кандидоза (ИК) в

отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Решающие факторы выживания у таких пациентов – это ранняя диагностика и своевременная противогрибковая терапия [1]. Однако начало лечения часто задерживается из-за низкой чувствительности (не превышает 50%) микробиологических методов – «золотого стандарта диагностики» [2]. Основным методом диагностики кандидемии – посев крови и других стерильных в норме субстратов больного с последующей идентификацией возбудителя и определением чувствительности к антимикотикам. При кандидозном перитоните диагностика основывается на выявлении *Candida* spp. в стерильном в норме биосубстрате – перитонеальной жидкости или гистологическом исследовании материала из очагов поражения.

В настоящее время для повышения эффективности лабораторной диагностики ИК доступны некоторые некультуральные диагностические средства, использующиеся в качестве дополнительных к микроскопии и посевам биосубстратов пациентов. Наиболее успешными мишенями являются многочисленные компоненты клеточной стенки, в том числе 1,3-β-D- глюкан (БДГ). Этот полисахарид – основной компонент клеточной стенки *Candida* и большинства патогенных грибов, за исключением видов *Cryptococcus* и грибов порядка *Mucorales*. Разработано несколько коммерческих наборов для исследования сывороточного БДГ у больных инвазивными микозами (ИМ), из которых наиболее широко изучен тест Fungitell (Associates of CapeCod, East Falmouth, MA). В то же время в зарубежных публикациях практически отсутствует информация об эффективности использования в диагностике ИМ тест-системы «Goldstream (1–3)–β–D–Глюкан (GCT-110T) (Хромогенный метод)» для *in vitro* определения клинических инвазивных грибковых инфекций (ERABIOLOGY, Китай). Набор реагентов зарегистрирован в РФ (Рег. удостоверение №2020/12799) и разрешен для применения в медицинской практике.

Цель нашего исследования: оценить диагностические характеристики метода определения БДГ в сыворотках крови находившихся в ОРИТ пациентов с кандидемией и кандидозным перитонитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 35 пациентов ОРИТ различных стационаров Санкт-Петербурга в период 2022-2023гг.: мужчины – 36% (возраст – 38÷68 лет), женщины – 64% (возраст – 35÷79 лет). Контрольную группу составили 20 человек без ИК, мужчины – 51% и женщины – 49% (возраст – 19÷69 лет).

Диагноз «инвазивный кандидоз» (ИК) устанавливали на основании критериев, предложенных Европейской организацией по изучению и лечению

рака (EORTC) и группы изучения микозов (MSG) Национального института алергологии и инфекционных заболеваний (NIAID) США, 2020 [3]. ИК был верифицирован при обнаружении одного или нескольких видов *Candida* в крови и других стерильных в норме биосубстратах (перитонеальная жидкость и др.) пациента. Посев, микроскопию, а также определение вида *Candida* проводили в микробиологических лабораториях медицинских организаций, которые участвовали в этом исследовании.

Изучали на наличие БДГ 30 сывороток крови пациентов с кандидемией и 9 сывороток крови от больных ОРИТ с кандидозным перитонитом, а также 20 сывороток от лиц контрольной группы (10 – от пациентов с бактериемией и 10 – с бактериальным перитонитом). Определение БДГ осуществляли с помощью набора «Goldstream» на спектрофотометре спектрофотометре «Multiskan GO» (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) в кинетическом режиме измерения оптической плотности при длине волны 405 нм и инкубации при 37 °С в соответствии с инструкцией производителя. Результаты считали отрицательными при концентрации БДГ <60 пг/мл, сомнительными – от 60 до 79 пг/мл и положительными ≥ 80 пг/мл.

Полученные данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 10), которые представляли в виде медианы (Me) нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, Lq и Hq). Для оценки различий между независимыми выборками применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Достоверными различиями сравниваемых параметров считали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При посеве перитонеальной жидкости от 9 пациентов с кандидозным перитонитом были получены культуры четырех видов *Candida*. Преобладали *C. albicans* (56%) и *C. glabrata* (22%), реже с одинаковой частотой (по 11%) выделяли *C. tropicalis* и *C. krusei* (Рис.1).

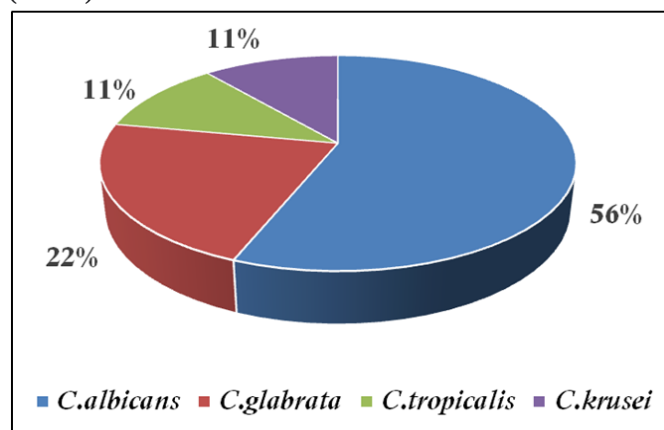


Рис.1. Культуры *Candida* spp. от больных с кандидозным перитонитом.

При посеве крови у 30 пациентов с кандидемией был выделен большой спектр гемокультур. Преобладающими были виды *C. albicans* (56%), *C. parapsilosis* (23%), *C. auris* (14%) и *C. glabrata* (10%). В редких случаях высевали *C. tropicalis* (7%), *C. guilliermondii* (3%), *C. inconspicua* (3%) и два вида *C. albicans* + *C. krusei* (7%) (Рис.2).

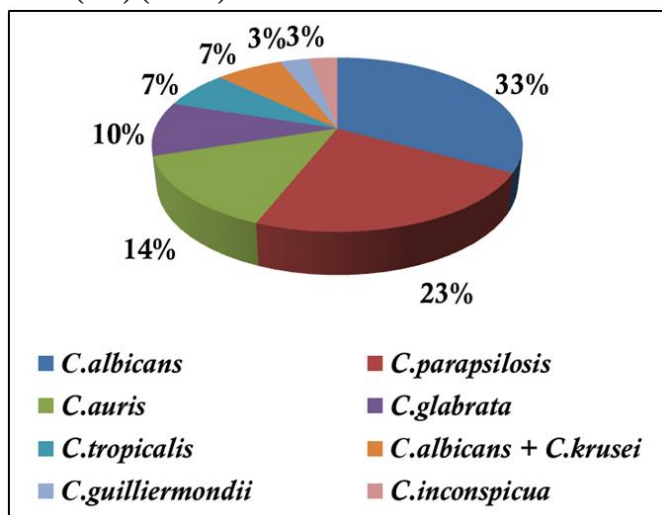


Рис.2. Гемокультуры *Candida* spp. от больных с кандидемией.

В сыворотках крови больных инвазивным кандидозом определяли концентрацию 1,3-β-D-глюкана в день получения крови на исследование или ближайшие дни в замороженных при -20 °C образцах. Из 39 биологических образцов с высевами *Candida* spp. положительные результаты БДГ (>80 пг/мл) выявлены в 24 пробах (62%), сомнительные (60-79 пг/мл) – не обнаружены, отрицательные (<60 пг/мл) – в 15 образцах (38%). В контрольных группах пациентов с бактериальным сепсисом и бактериемией, у которых инвазивный кандидоз был исключен в ходе обследования, обнаружено 80% отрицательных и 20% ложноположительных результатов. При исследовании сывороток крови больных с разными формами ИК чувствительность метода составила 56% в группе лиц с кандидозным перитонитом и 63% – с кандидемией, а специфичность – 80% в обеих группах (табл.1).

Таблица 1

Диагностические характеристики теста у больных с ИК

Группы больных	Количество образцов	БДГ (+)	БДГ (-)	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Всего с ИК	39	24	15	62	80
Кандидозный перитонит	9	5	4	56	80
Кандидемия	30	19	11	63	80

В сыворотках крови контрольных групп пациентов с бактериальными инфекциями наблюдали низкие концентрации БДГ: от 10 пг/мл до 40 пг/мл

(медиана – 21,5) – для лиц с кандидемией и от 8 пг/мл до 32 пг/мл (медиана – 18,5) – с кандидозным перитонитом. Уровни БДГ у больных ИК варьировали в широких пределах и составили 236÷4400 пг/мл для пациентов с кандидозным перитонитом и 104÷1838 пг/мл – с кандидемией. При этом, хотя концентрация БДГ в группе с кандидозным перитонитом была выше, чем у больных с кандидемией (1132 пг/мл vs 568 пг/мл), различия были не достоверны (p=1,0). При сравнении этих показателей с аналогичными данными в соответствующих контрольных группах достоверные результаты были получены только для группы пациентов с кандидемией (p=0,0043) (Рис.3).

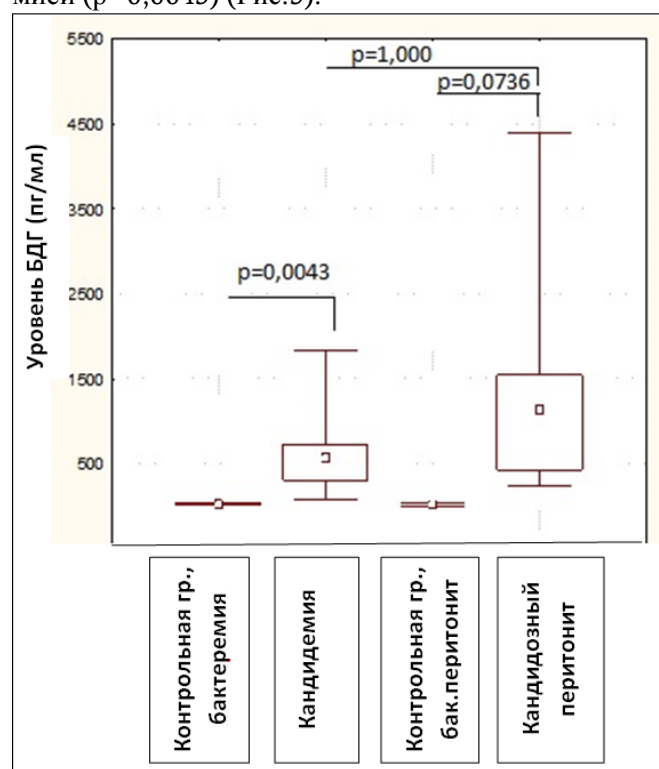


Рис. 3. Показатели БДГ у больных ИК и контрольных групп, Ме (Q25-Q75).

В группе больных с кандидозным перитонитом не было выявлено достоверных различий в уровнях БДГ по сравнению с контрольной группой пациентов без ИК (p=0,0736), вероятно, из-за малочисленности выборки (9 человек с ИК).

Таким образом, чувствительность метода и уровень сывороточного БДГ не зависел от формы ИК. При инфекциях кровотока высокий уровень БДГ с высокой степенью вероятности может указывать на наличие ИК.

При исследовании 39 биологических образцов с высевами из биосубстратов разных видов *Candida* положительные результаты БДГ зависели от видовой принадлежности возбудителя ИК (табл.2).

Таблица 2

Положительные результаты БДГ у пациентов с высевами из биосубстратов разных видов *Candida*

Виды <i>Candida</i>	Всего штаммов	БДГ (+)
<i>C. albicans</i>	15	7
<i>C. parapsilosis</i>	7	6
<i>C. glabrata</i>	5	4
<i>C. auris</i>	4	1
<i>C. tropicalis</i>	3	1
<i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i>	2	2
<i>C. guilliermondii</i>	1	0
<i>C. inconspicua</i>	1	1
<i>C. krusei</i>	1	0

В ходе исследования было показано, что чувствительность метода определения БДГ зависела от видов *Candida*, полученных из биосубстратов пациентов с ИК (табл.3).

Таблица 3

Чувствительность БДГ у пациентов с ИК, обусловленным различными видами *Candida*

Виды <i>Candida</i>	Всего штаммов	БДГ (+)	Чувствительность (%)
<i>C. albicans</i>	15	7	47
<i>C. parapsilosis</i>	7	6	86
<i>C. glabrata</i>	5	4	80

Для трех наиболее часто высеваемых видов (*C. albicans*, *C. parapsilosis* и *C. glabrata*) она различалась и была у *C. albicans* достоверно ниже (47%), чем у *C. parapsilosis* (86%) и *C. glabrata* (80%). Для остальных возбудителей ИК оценить чувствительность теста не представлялось возможности из-за малого количества выделенных штаммов или положительных результатов БДГ. Так, при *C. auris*- и *C. tropicalis*-инфекции положительный результат БДГ обнаруживали только в 1 из 4 и 1 из 3 образцов соответственно. Сыворотка, полученная от пациента с гемокультурой *C. inconspicua*, имела положительный результат БДГ. При ИК, обусловленном *C. guilliermondii* и *C. krusei*, получены только по 1 культуре возбудителя, но в сывороточных образцах положительных показателей БДГ не было отмечено, в то время как при смешанной инфекции (*C. albicans* + *C. krusei*), зарегистрированной дважды при кандидемии, положительных результат БДГ был выявлен в обоих образцах.

Уровень БДГ (медиана) у больных ИК, обусловленным различными видами *Candida*, не различался (1132 пг/мл vs 498 пг/мл и 1132 пг/мл vs 404 пг/мл, $p=0,6171$), но достоверно превышал уровень БДГ в контрольной группе лиц без ИК только у пациентов с высевами из биосубстратов *C. albicans* ($p=0,0233$) и *C. parapsilosis* ($p=0,0412$) (Рис.4).

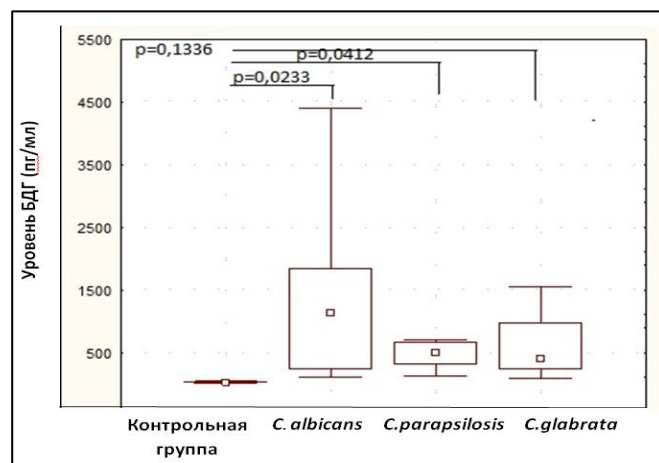


Рис. 4. Показатели БДГ у больных ИК с высевами из биосубстратов различных видов *Candida* и контрольных групп, Ме (Q25-Q75).

Таким образом, для больных ИК чувствительность метода определения БДГ составляла 56-63%, не зависела от формы ИК и различалась для разных видов возбудителя. Наибольшие показатели чувствительности получены у пациентов с высевами из стерильных биосубстратов *C. parapsilosis* и *C. glabrata*, а наибольшие уровни БДГ по сравнению с контрольной группой без ИК обнаружены у лиц с высевами *C. albicans* и *C. parapsilosis*. Специфичность теста составляла 80% и была одинакова как для пациентов с кандидемией, так и с кандидозным перитонитом.

Кроме оценки диагностических параметров теста, мы предприняли попытку проведения мониторинга БДГ в ходе антимикотического лечения одного из больных ОРИТ. Ниже приведен пример такого исследования (Рис.5).

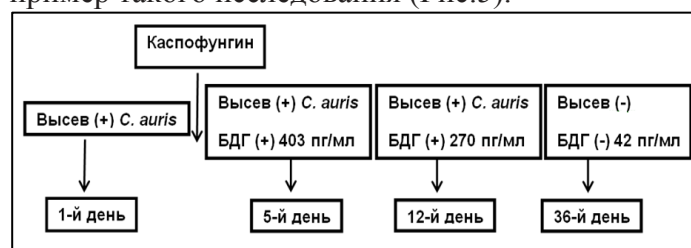


Рис. 5. Мониторинг БДГ у пациента Б.

Пациент Б., 40 лет, находился на лечении в многопрофильном стационаре Санкт-Петербурга с диагнозом: Хронический гломерулонефрит неverified с исходом в нефросклероз. С 7.08.23 г. у больного была зафиксирована лихорадка, продолжающаяся более 96 часов, рефрактерная к антибактериальной терапии широкого спектра действия, и бактериемия, вызванная *Acinetobacter baumannii*. 10.08.23 г. была проведена замена центрального венозного катетера, который стоял у пациента в течение 14 суток. При посеве дистального конца сосуди-

стого катетера 16.08.23 г. получили рост *Candida auris*. Больному был установлен диагноз «сепсис; инвазивный кандидоз; кандидемия *C. auris*» и назначен каспофунгин – 70 мг в первые сутки, затем – по 50 мг/сутки, внутривенно. На 5-й день после постановки диагноза высев гемокультуры *C. auris* повторился, уровень БДГ составлял 403 пг/мл. На 12 день кандидемия, вызванная *C. auris*, сохранялась, но уровень БДГ снижался (270 пг/мл). Состояние пациента клинически постепенно улучшалось (не лихорадил, гемодинамика стабильная, уменьшилась слабость), в крови снижались показатели воспаления. С 14 по 36 день высевы из крови были отрицательными, а уровень БДГ снизился до отрицательных значений (42 пг/мл).

Таким образом, мониторинг сывороточного БДГ у пациентов ОРИТ вместе с культуральными исследованиями может иметь прогностическую ценность в ходе антимикотического лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты ОРИТ представляют собой особую группу с повышенным риском инвазивных грибковых инфекций. Эта популяция характеризуется широким использованием медицинских устройств, таких как центральные венозные катетеры, артериальные катетеры, катетеры мочевого пузыря, гемодиализ и механическая интубация. При разумном применении и интерпретации некультуральные тесты могут помочь выявить больных ИК и сократить время постановки диагноза, особенно у лиц с отрицательным посевом крови и других стерильных в норме биологических субстратов. Определение маннана *Candida* и антиманновых антител, 1,3-β-D-глюкана, антител к ростовым трубкам *C. albicans* (CAGTA), PNA-FISH, MALDI-TOF, ПЦР и панель T2-Candida являются многообещающими диагностическими микробиологическими тестами [4-6]. Исследование БДГ в сыворотке крови одобрено Международными рекомендациями EORTC/MSG, 2020 [3] в качестве вспомогательного к микологическим методам при диагностике инвазивных грибковых инфекций (сила рекомендации СИ). В зарубежных публикациях последних лет сравнивают эффективность некоторых коммерческих наборов на основе колориметрического (Fungitell, Fungitec Gtest) или турбидиметрического метода (Fujifilm Wako BDG) для количественной оценки скорости активации каскада коагуляции реагента, полученного из мечехвоста (отряд членистоногих), который запускается связыванием БДГ. В этих наборах используются реагенты, полученные из разных видов мечехвоста, поэтому пороговые значения для положительных результатов различаются. В мета-анализе когортных и «случай-контроль» исследований БДГ в сыворотке крови определена совокупная чувстви-

тельность метода от 65% до 85% и специфичность – от 75% до 85% для ИК [7, 8]. Для БДГ у пациентов с абдоминальным кандидозом соответствующие диапазоны составляют от 56% до 77% и от 57% до 83% [9], а у пациентов с кандидемией – от 47% до 60% и от 70% до 85% [10-12]. Производительность теста при этом повышается, если положительность определяется двумя последовательными результатами, а не одним [13]. В наших исследованиях при использовании набора «Goldsteam» для диагностики ИК мы получили сопоставимые результаты: чувствительность и специфичность метода определения БДГ составляла 62% и 80%, в том числе для кандидозного перитонита – 56% и 80%, а для кандидемии – 63% и 80% соответственно.

Ряд зарубежных исследователей проводили определение БДГ в сыворотках крови больных при кандидемии с использованием коммерческого набора «Fungitell». Так, Chibabhai V., et al. [14] показали различную видовую чувствительность метода у пациентов ОРИТ в Южной Африке: 81% – для *C. albicans*, 72% – для *C. parapsilosis*, 90% – для *C. glabrata*, 71% – для *C. auris* и 100% – для *C. krusei*-инфекции. Farooqi J., et al. [15], ретроспективно проанализировав в 2015-2019 гг. 192 случая кандидемий, вызванных различными видами *Candida*, отметили высокие показатели чувствительности при положительном высеве из крови видов *C. krusei* (100%), *C. albicans* (81%) и *C. glabrata* (90%), умеренные – для *C. auris* и *C. parapsilosis* (71% и 72% соответственно). Авторы полагают, что для *C. auris*-инфекций, при которых заболеваемость и смертность выше, чем у других видов *Candida*, требуется более чувствительный тест. Mikulska M. с соавторами [16] в 2009-2015 гг. при анализе сывороток крови 107 пациентов с кандидемиями выявили высокую чувствительность и уровень БДГ для *C. albicans*-инфекции (72%, 410 пг/мл соответственно) и самую низкую – для *C. parapsilosis* (41% и 39 пг/мл). В ходе наших аналогичных исследований наиболее часто БДГ обнаруживали при высеве из крови *C. parapsilosis* (86%) и *C. glabrata* (80%) и реже – *C. albicans* (47%). Различия, отмеченные в работах, можно объяснить штаммным грибковым разнообразием грибов рода *Candida* у пациентов ОРИТ в разных стационарах мира [17], а также различными форматами применяемых тестов.

Несколько рандомизированных исследований посвящены изучению кинетики сывороточного БДГ в ходе противогрибковой терапии у больных ИК [18-21]. Показана целесообразность мониторинга БДГ для пациентов ОРИТ с высоким риском развития ИК с целью оценки эффективности антимикотического лечения. По итогам выполненных исследований было сформулировано следующее заключение: при снижении уровня БДГ может быть прекращена противогрибковая терапия, а, следовательно, предот-

вращения ее возможные осложнения и появление грибковой резистентности. Повторный положительный результат БДГ или повышение уровня БДГ является поводом к более раннему началу лечения или его изменению. Как показано в наших исследованиях, снижение БДГ может служить хорошим прогностическим признаком эффективного применения каспофунгина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных ИК чувствительность метода определения БДГ составляла 56% для пациентов кандидемией и 63% – с кандидозным перитонитом.

Чувствительность метода не зависела от формы ИК и различалась для разных видов *Candida*.

Тестирование БДГ в сыворотках больных ОРИТ в комплексе с микологическим исследованием стерильных в норме биосубстратов позволит своевременно выявить пациентов с ИК и сократить время постановки диагноза.

Мониторинг сывороточного БДГ является полезным неинвазивным методом ранней диагностики и прогностическим маркером ИК.

Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания Минздрава России «Разработка средств быстрой диагностики тяжелых грибковых инфекций и индикации генетических маркеров устойчивости возбудителей инвазивного кандидоза к противогрибковым лекарственным средствам» № НИОКТР 121111000019-5.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Andes D.R., Safdar N., Baddley J.W. et al.* Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54: 1110-1122. doi: 10.1093/cid/cis021
2. *Clancy C.J., Nguyen M.H.* Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 56: 1284-1292. doi: 10.1093/cid/cit006
3. *Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al.* 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
4. *Mikulska M., Calandra T., Sanguinetti M., et al.* The use of mannan antigen and antimannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. 2010;14: R222. doi: 10.1186/cc9365
5. *Parra-Sánchez M., Brevail I. Z-Y., Méndez C.C., et al.* *Candida albicans* germ-tube antibody: evaluation of a new automatic assay for diagnosing invasive candidiasis in ICU patients. 2014; 182 (7-8): 645-652. doi: 10.1007/s11046-017-0125-9
6. *Mylonakis E., Clancy C.J., Ostrosky-Zeichner L., et al.* T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60: 892-899. doi:10.1093/cid/ciu959
7. *Onishi A., et al.* Diagnostic accuracy of serum 1,3- β -D-glucan for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia, invasive candidiasis, and invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (1): 7-15.
8. *Karageorgopoulos D.E., Vouloumanou E.K.* β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect. Dis.* 2011; 52: 750-770. doi: 10.1093/cid/ciq206
9. *Cristóbal León, Sergio Ruiz-Santana, Pedro Saavedra et al.* Contribution of *Candida* biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. *CritCare.* 2016; 20 (1):149. doi: 10.1186/s13054-016-1324-3
10. *Özlem Koc, Harald H Kessler, Martin Hoenigl, et al.* Performance of multiplex PCR and β -1,3-D-glucan testing for the diagnosis of candidemia. *J. Fungi (Basel).* 2022; 8 (9): 972. doi: 10.3390/jof8090972
11. *Forster J., Dicht K., Wagener J.* Lower beta-1,3-D-glucan testing cut-offs increase sensitivity for non-albicans *Candida* species bloodstream infections. *Mycoses.* 2022; 65 (5): 500-507. doi: 10.1111/myc.13421
12. *Alves J., Alonso-Tarrés C., Rello J.* How to identify invasive candidemia in ICU – a narrative review. *Antibiotics (Basel).* 2022; Dec 12; 11(12): 1804. doi: 10.3390/antibiotics11121804
13. *Hanson K. E., Pfeiffer C. D., Lease E.D., et al.* β -D-glucan surveillance with preemptive anidulafungin for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a randomized pilot study. *PLoS One.* 2012; 7 (8): e42282. doi: 10.1371/journal.pone.0042282
14. *Chibabhai V., Fadana V., Bosman N., et al.* Comparative sensitivity of 1,3 beta-D-glucan for common causes of candidaemia in South Africa. *Mycoses.* 2019; 62 (11):1023-1028. doi: 10.1111/myc.12982

15. Farooqi J., Niamatullah H., Irfan S., et al. Comparison of β -D-glucan levels between *Candida auris* and other *Candida* species at the time of candidaemia: a retrospective study. Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27 (10): 1519.e1-1519.e5. doi: 10.1016/j.cmi.2021.05.031
16. Mikulska M., Giacobbe D.R., Furfaro E., et al. Lower sensitivity of serum (1,3)- β -d-glucan for the diagnosis of candidaemia due to *Candida parapsilosis*. Clin. Microbiol. Infect. 2016; 22 (7): 646.e5-8. doi: 10.1016/j.cmi.2016.05.020
17. Александрова Н.А., Заславская М.И., Ипатов А.О. и др. Анализ биопленкообразования *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata* и *C. krusei*. Проблемы медицинской микологии. 2022; 24 (3): 48- 50. [Alexandrova N.A., Zaslavskaya M.I., Ipatova A.O., et al. Biofilm formation analysis of *Candida albicans*, *C. auris*, *C. glabrata* and *C. krusei*. Problems in Medical Mycology. 2022; 24 (3): 48- 50. (In Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2022-3-48-50
18. Pascale G., Posteraro B., D'Arrido S., et al. (1, 3)- β -D-glucan-based empirical antifungal interruption in suspected invasive candidiasis: a randomized trial. Randomized Controlled Trial.2020; 24 (1): 550. doi: 10.1186/s13054-020-03265-y
19. Koo S., Baden L.R., Marty F.M. Post-diagnostic kinetics of the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay in invasive aspergillosis, invasive candidiasis and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. Clin. Microbiol. Infect 2012; 18 (5): E122-7. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03777.x
20. Батурина М.В., Батурин В.А., Фишер В.В., Волков Е.В. Возможности экспресс-диагностики инвазивных микозов в многопрофильном стационаре. Медицина. 2022; 2:52. [Baturina M.V., Baturin V.A., Fischer V.V., Volkov E.V. Possibilities of express diagnostics of invasive mycoses in a multidisciplinary hospital. Medicine. 2022; 2:52. (In Russ)].
21. Prattes J., Hoenigl M., Rabensteiner J., et al. Serum 1,3-beta-d-glucan for antifungal treatment stratification at the intensive care unit and the influence of surgery. Mycoses; 2014; 57 (11):679-86. doi: 10.1111/myc.12221

Поступила в редакцию журнала 23.11.23

Принята к печати: 01.12.23



Для цитирования: Корнишева В.Г., Мирзоян В.Л., Кулекова Д. Микроспория волосистой части головы под маской рубцующей алопеции у женщины 84 лет. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 46-51. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-46-51

For citation: Kornisheva V.G., Mirzoyan V.L., Kulekova D. Microsporia under the mask of scarring alopecia in an 84-year-old woman. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 46-51. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-46-51

МИКРОСПОРИЯ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ ПОД МАСКОЙ РУБЦУЮЩЕЙ АЛОПЕЦИИ У ЖЕНЩИНЫ 84 ЛЕТ

Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*, Мирзоян В.Л. (доцент), Кулекова Д. (аспирант)

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

*В последние годы наблюдаются изменения в эпидемиологии, этиологии и клинической картине микроспории, которая редко встречается у взрослых. В данной статье мы приводим клиническое наблюдение 84-летней пациентки. Впервые описано фавусоподобное поражение волосистой части головы, вызванное *Microsporum canis*. После 6-недельного курса лечения гризеофульвином (по 2 таблетки 4 раза в день) в сочетании с йодно-мазевой терапией было достигнуто выздоровление. Данный случай подчеркивает важность диагностики микроспории волосистой части головы у женщин с рубцующей алопецией в период постменопаузы.*

Ключевые слова: микроспория волосистой части головы, *Microsporum canis*, атипичная фавусоподобная форма, вторичная рубцующая алопеция

MICROSPORIA UNDER THE MASK OF SCARRING ALOPECIA IN AN 84-YEAR-OLD WOMAN

Kornisheva V.G. (professor of the department), Mirzoyan V.L. (associate professor), Kulekova D. (postgraduate student)

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

*In recent years, there have been changes in the epidemiology, etiology and clinical picture of microsporia of the scalp, which is rarely found in adults. In this article, we present a clinical case of an 84-year-old patient. For the first time, a favus-like lesion of the scalp caused by *Microsporum canis* was described. After a 6-week course of treatment with griseofulvin (2 tablets 4 times a day) in combination with iodine ointment therapy, recovery was achieved. This case highlights the importance of diagnosing scalp microsporia in menopausal women with scarring alopecia.*

Key words: microsporia of the scalp, *Microsporum canis*, atypical favus-like form, secondary cicatricial alopecia

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наблюдаются изменения в эпидемиологии, этиологии и клинической картине микроспории [1]. Инфекция, вызванная *Microsporum canis*, *Nannizzia gypsea* (ранее – *M. gypseum*), поражает кожу и ее придатки и представляет собой одно из наиболее распространенных заболеваний во всем мире. За минувшее десятилетие при микроспории все чаще описывают воспалительные формы поражения кожи волосистой части головы (керрион, инфилтративная, нагноительная, мицетома) [2-5]. В зависимости от выраженности воспалительных явлений в очагах микроспории можно выделить следующие формы: воспалительные (инфилтративная, нагноительная, экссудативная) и невоспалительные (трихофитоидная, себорейная, псориазiformная, волчаночно-подобная, «трансформированная» форма микроспории в результате применения топических глюкокортикостероидов) [6].

Микроспория относится к наиболее частым дерматомикозам у детей, подъем заболеваемости

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

отмечается в осенне-зимний период года. *M. canis* является доминирующим возбудителем микроспории гладкой кожи и волосистой части головы в детском возрасте. Частота встречаемости микроспории среди взрослых колеблется от 8 до 12% от общего числа всех пациентов с микроспорией [3]. В основном болеют молодые женщины, подростки. Волосы у взрослых практически не поражаются этими грибами, что можно объяснить наличием фунгистатических органических кислот в волосах, поэтому поражение волосистой части головы наблюдают редко [2, 6, 7]. Однако эту инфекцию все чаще стали выявлять у взрослых, особенно у женщин в постменопаузе и у лиц с ослабленным иммунитетом [4, 8-11].

Описание клинического случая

Пациентка С., 84 года, обратилась с жалобами на наличие облысения и высыпаний в теменно-височной области скальпа, сопровождающихся болезненностью. Очаг поражения в теменной области появился 4 года назад. Самостоятельно не лечилась, за квалифицированной медицинской помощью не обращалась. В течение последнего года отмечала увеличение очага облысения.

При осмотре в левой теменно-височной области наблюдали очаг рубцующей алопеции, размерами 10x15 см, округлой формы с фестончатыми очертаниями и покрытым по периферии импетигиозными корками со скудным гнойным отделяемым, которое склеивало волосы (Рис. 1).



Рис. 1. Больная С., 84 года. Микроспория волосистой части головы, атипичная favusоподобная форма.

Пальпация очага болезненная. Явления керион Цельса отсутствуют. Увеличение затылочных лимфатических желез до горошины. При микроскопии кожных чешуек из очага с использованием 20% раствора гидроксида калия (КОН) обнаружены фрагменты мицелия гриба.

Предварительный диагноз: Пиодермия волосистой части головы. Микроспория волосистой части головы. Вторичная рубцующая алопеция.

Назначено лечение азитромицином (по 250 мг 1

раз в день), курс – 6 дней. Наружно рекомендована ежедневная обработка импетигиозных корок 3% раствором перекиси водорода с последующим нанесением 0,05% раствора хлоргексидина биглюконата и наложением повязки с 2% мазью мупироцина. При осмотре через 2 недели явления пиодермии разрешились, уменьшилась болезненность при пальпации (Рис.2).



Рис. 2. После антибиотикотерапии явления импетигизации разрешились, обнажив участки с небольшой гиперемией, шелушением, группами обломанных волос, располагающимися по периферии рубцовой атрофии с гладкой блестящей кожей без волосяных фолликулов. В центре очага – геморрагическая корочка.

Затылочные лимфатические узлы не определялись. При люминесцентном исследовании в нижней части очага выявлено светло-зеленоватое свечение пеньков волос высотой 1,5-2 см (Рис. 3).



Рис. 3. Под лучами лампы Вуда в нижней части очага поражения на волосистой части головы отмечается флуоресценция пеньков волос высотой 1,5-2 см.

При культуральном исследовании патологического материала получен рост *M. canis*. Установлен диагноз: Хроническая микроспория волосистой части головы, атипичная форма (фавусоподобная). Осложнение: Вторичная рубцующая алопеция.

Источником инфекции была домашняя кошка.

Пациентке назначено лечение гризеофульвином (125 мг) по 2 таблетки 4 раза в день. Непрерывную терапию проводили 4 недели до прекращения люминесцентного свечения пеньков волос в очаге и достижения отрицательного результата анализа на грибы. Затем в течение последующих 2 недель приём гризеофульвина продолжили в той же дозе через день, и после получения трех отрицательных микологических анализов соскобов с очага поражения курс гризеофульвина был завершён [6]. После бритья волосистой части головы одновременно с приёмом гризеофульвина ежедневно проводили йодно-мазевую терапию (утром обработка очага 5% спиртовым раствором йода, вечером – 2% кремом кетоназола). В дальнейшем было рекомендовано бритье очага раз в неделю с последующей обработкой 5% спиртовым раствором йода и мытье головы лечебным шампунем с 2% кетоназолом. Терапию пациентка переносила удовлетворительно, нежелательных явлений не отмечала. Со стороны клинических и биохимических анализов крови отклонений не было. После проведенного лечения наблюдали исчезновение свечения в очаге, и были получены 3-кратные отрицательные анализы на грибы. Пациентка переведена с выздоровлением по микроспории и диагнозом «вторичная рубцующая алопеция» под диспансерное наблюдение (Рис. 4).



Рис. 4. Фото очага поражения после окончания лечения микроспории. Диагноз: вторичная рубцующая алопеция.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микроспория – это микоз кожи, волосистой части головы, очень редко – ногтей, возбудителями которого являются следующие группы грибов рода *Microsporum*: антропонозные (*M. ferrugineum*, *M. audouinii*), зоонозные (*M. canis*, *M. canis var.*

distortum), геофильные (*Nannizzia gypsea*, *Nannizzia nana* (ранее – *M. nanum*)). При микроскопии пораженного волоса обнаруживаются мелкие споры внутри волоса, расположенные группами, мозаично и снаружи в виде муфты из спор. В кожных чешуйках – септированный мицелий [1, 2, 6, 7].

В настоящее время наблюдается тенденция к учащению случаев микроспории среди взрослых. Если в Москве в 1970-80-х годах доля взрослых, страдающих микроспорией, была на уровне 3-5% [7], то в период 2010-2014 гг. она составила 33,4% [8]. В 99% случаев микроспория у этой категории лиц обусловлена *M. canis*, основной источник инфекции – кошки (83%). И только у 0,7% пациентов очаги поражения располагались на волосистой части головы [8]. У представленной нами пациентки также была микроспория волосистой части головы, обусловленная *M. canis*, и заражение произошло от домашней кошки. Особенностью данного случая является поражение грибами волосистой части головы у женщины в период постменопаузы, так как микроспория волосистой части головы – это распространенная микотическая инфекция кожи головы и волос у детей [2, 7]. Низкая распространенность поражения грибами скальпа у взрослых может быть объяснена относительной устойчивостью их волос к колонизации дерматомицетами из-за фунгистатических свойств насыщенных длинноцепочечных жирных кислот в кожном сале. Большинство случаев микоза волосистой части головы у взрослых наблюдается у женщин в постменопаузе. Это явление связано с уменьшением сальной секреции и снижением фунгицидных свойств кожного сала [12]. В связи с длительным течением микроспории волосистой части головы, а в нашем случае у пациентки первые высыпания появились 4 года назад, поражение скальпа у взрослых может иметь полиморфные и атипичные клинические проявления. Ввиду своей редкости и атипичной картины у 73,2% пациентов выставляется неправильный диагноз себорейного дерматита, фолликулита [9]. Поэтому у женщин менопаузального возраста перед тем, как поставить диагноз себорейного дерматита, следует подробно собрать анамнез, включая контакты с животными, тщательно осмотреть скальп, обращая внимание на наличие очагов облысения, обломанных волос, которые обязательно следует взять для микологического исследования, и провести осмотр волосистой части головы под лампой Вуда.

У представленной нами пациентки была атипичная форма микроспории волосистой части головы, которая клинически была похожа на поражение при фавусе [9].

Фавус – это микоз волосистой части головы, гладкой кожи, ногтей, который вызывается антропонозными грибами *Trichophyton schoenleinii*. Первым

Таблица 1

Первичные и вторичные рубцующие алопеции [14]

Первичная рубцующая алопеция	Лишай плоский волосистой Фронтальная фиброзирующая алопеция Синдром Грэхема-Литтля-Пиккарди-Лассюэра Дискоидная красная волчанка Псевдопелада Брока Центральная центробежная рубцующая алопеция Фолликулярный шиповидный декальвирующий кератоз Муцинозная алопеция Декальвирующий фолликулит Абсцедирующий подрывающий фолликулит и перифолликулит Гоффмана Келоидный фолликулит Некротический фолликулит Эрозивный пустулезный дерматоз
Вторичная рубцующая алопеция	Локализованная склеродермия Буллезный эпидермолиз Химические или физические травмы Бактериальная инфекция Микотическая инфекция Радиационная терапия Опухоли

симптомом фавуса является образование скутулы (щитка) – сухого, ярко-желтого цвета, блюдцеобразной формы специфического элемента, состоящего из чистой культуры гриба. При длительном течении болезни без лечения эти элементы сливаются, образуя сплошные желтоватые корки, напоминающие запеченные медовые соты. Скутулы плотно прикрепляются к коже, с большим трудом снимаются отдельными рыхлыми частями, оставляя после себя воронкообразное инфильтрированное вдавливание ярко-розовой окраски с гладкой эрозированной, иногда вегетирующей поверхностью. На месте отторгнувшейся скутулы остается рубцовая атрофия. Волосы не обламываются, легко выдергиваются, поэтому пеньки волос отсутствуют. Из рогового слоя эпидермиса грибок проникает как в корневую, так и стержневую часть волос, которые при этом теряют свой блеск, становятся тусклыми, безжизненными, приобретают серовато-белый цвет. Под лампой Вуда отмечается серовато-зеленое свечение по всей длине волоса. Фавус может протекать атипично, когда по периферии рубцующей алопеции формируются сухие корки, напоминающие импетигиозные. Это так называемая импетигиозная форма фавуса, на которую и было похоже поражение у нашей пациентки [6, 12]. Однако у представленной больной в краевой зоне очага имелись обломанные волосы. Пеньки были высотой до 2 см. Длинные волосы не выдерживались, что клинически исключало диагноз фавуса. При фавусе формирование рубцующей алопеции приводит к стойкому выпадению волос. Рубцевание начинается с центральной части очага, что также было характерно для нашей пациентки, у которой очаг в теменно-височной области постепенно увеличивался за счет периферического роста, оставляя после разрешения воспалительных явлений тонкую, гладкую, блестящую кожу без волоса фолликулов (Рис. 4). Впервые фавусоподобная форма микоза волосистой части головы, вызванная *M. canis*, описана в 2007 г. у иммунокомпетентной 8-летней девочки [12]. У пожилых лиц фавусоподобное поражение волосистой части головы могут вызывать грибы *Trichophyton rubrum* [13].

Хроническое течение микоза волосистой части головы, обусловленного *M. canis*, осложненного вторичной инфекцией, у представленной нами больной привело к повреждению волоса фолликулов в теменно-височной области и в результате – к развитию вторичной рубцующей алопеции. Рубцующую алопецию, возникшую после разрешения очагов микотической инфекции, следует отличать от первичной рубцующей алопеции (табл.1).

Рубцующая алопеция (РА) – это клинически разнообразная патология, которая приводит к стойкой и необратимой потере волос очагового характера, вызванной замещением поврежденных структур кожи, волоса фолликулов рубцовой тканью. Рубцующие алопеции подразделяются на первичные, при которых волоса фолликул является основной целью поражения, и вторичные, обусловленные поражением кожи волосистой части головы. Заболевания, классифицируемые как вторичные РА, включают воспалительные, неопластические состояния, инфекции, а также физические травмы, которые в первую очередь поражают дерму, а во вторую – вызывают разрушение волоса фолликулов (табл.1) [14]. В связи с этим нашей пациентке после выздоровления по микроспории был выставлен диагноз вторичной рубцующей алопеции.

Для подтверждения диагноза микроспории используют люминесцентное, микроскопическое и культуральное исследования. Важное диагностическое значение имеет люминесцентный метод, который применяют для определения наличия пораженных волос у пациента, оценки результатов лечения, контроля за контактными лицами, присутствия инфекции или миконительства у животных. При обследовании под лампой Вуда выявляется светло-зеленое свечение пеньков волос, пораженных *M. canis*, изумрудно-зеленое – *Microsporum ferrugineum*. В отличие от микроспории, при фавусе отмечается серовато-зеленоватое свечение по всей длине волос, которые не обламываются [6].

У нашей пациентки свечение длинных волос по цвету было похоже на свечение длинных волос при

фавусе. Это можно объяснить тем, что в результате длительного течения инфекции произошло изменение спор гриба (они становятся крупнее). Это привело к снижению и изменению интенсивности и цвета флуоресценции.

Лечение микроспории волосистой части головы у взрослых включает использование системных и наружных антифунгальных препаратов. В метаанализе, сравнивающем эффективность гризеофульвина и тербинафина при лечении микроспории волосистой части головы, показано, что гризеофульвин более эффективен, чем тербинафин [9], поэтому препаратом выбора для лечения микроспории у пациентки был гризеофульвин. Продолжительность системного антимикотического лечения в течение 6 недель привела к выздоровлению больной.

Таким образом, микоз волосистой части головы у взрослых, вызванный *M. canis*, – редкая патология, и чаще атипичные проявления микотической инфекции встречаются у лиц пожилого возраста [8-12]. Наша пациентка в возрасте 84 лет представляет собой первое описание фавусоподобного поражения волосистой части головы, вызванного *M. canis*, в России. Этот случай подчеркивает важность диагностики микроспории волосистой части головы у пожилых лиц с рубцующей алопецией. Дерматологи должны знать как типичные, так и атипичные формы микроспории, чтобы избежать диагностических ошибок и обеспечить пациентам соответствующее лечение.

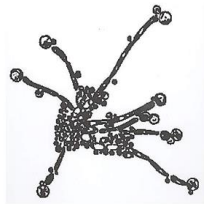
ЛИТЕРАТУРА

1. Ping Zhan Weida Liu. The changing face of dermatophytic infections worldwide. *Mycopathologia*. 2017; 182 (1-2): 77-86. doi: 10.1007/s11046-016-0082-8
2. Медведева Т.В., Леина Л.М., Чилина Г.А. и др. Микроспория: современное представление о проблеме (описание клинических случаев и обзор литературы). *Проблемы медицинской микологии*. 2020; 22 (2): 12-21. [Medvedeva T.V., Leina L.M., Chilina G.A., et al. Microsporia: current understanding of the problem (literature review and description of clinical cases). *Problems in Medical Mycology*. 2020; 22 (2): 12-21. (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-12-21
3. Серебрякова И.С., Корнишьева В.Г., Раводин Р.А. и др. Микоз кожи, вызванный *Nannizzia incurvata/gypsea* (ранее *Microsporium incurvatum*): описание редкого клинического случая. *Проблемы медицинской микологии*. 2019; 21 (1):16-20. [Serebryakova I.S., Kornisheva V.G., Ravodin R.A., et al. Mycosis of skin caused by *Nannizzia incurvata* (formerly *Microsporium incurvatum*): a rare case report. *Problems in Medical Mycology*. 2019; 21 (1): 16-20. (In Russ)].
4. Teo T.S.P., Crawford L.C., Pilch W.T., et al. Mycetoma caused by *Microsporium canis* in a patient with renal transplant: A case report and review of the literature. *Transpl. Infect. Dis*. 2021; 23: e13516. doi.org/10.1111/tid.13516
5. Castro-Echeverry E., Fiala K., Fernandez M.P. Dermatophytic pseudomycetoma of the scalp. *Am. J. Dermatopathol*. 2017; 39 (2): e23-e25. doi:10.1097/DAD.0000000000000702
6. Корнишьева В.Г., Разнатовский К.И. Поверхностные микозы. Серия: Библиотека врача-специалиста. ГЭОТАР-Медиа, 2023; 248 с. [Kornisheva V.G., Raznatovsky K.I. Surface mycoses. Series: Library of a specialist doctor. GEOTAR-Media, 2023; 248 p. (In Russ)].
7. Яковлев А.Б., Полонская А.С., Круглова Л.С. Микроспория у детей раннего возраста: клинические случаи. Вопросы современной педиатрии. 2022; 21 (5): 400-406. [Yakovlev A.B., Polonskaya A.S., Kruglova L.S. Microsporia in young children: clinical cases. *Current Pediatrics*. 2022; 21 (5): 400-406. (In Russ.) doi.org/10.15690/vsp.v21i5.2453
8. Хамаганова И. В., Беличков А.Н. Микроспория у взрослых. *Клиническая дерматология и венерология*. 2017; 16 (2): 8-12. [Khamaganova I.V., Belichkov A.N. Microsporia in adults. *Clinical dermatology and venereology*. 2017; 16 (2): 8-12. (In Russ)]. doi: 10.17116/klinderma20171628-12
9. Zhihui Yang, Wei Chen, Zhe Wan, et al. Tinea capitis by *Microsporium canis* in an elderly female with extensive dermatophyte infection. *Mycopathologia*. 2021; 186 (2): 299-305. doi: 10.1007/s11046-020-00519-9
10. Хисматуллина З.Р., Харисова А.Р. Атипичные случаи микроспории. Обзор. *Проблемы медицинской микологии*. 2018; 20 (1): 3-5. [Hismatullina Z.R., Kharisova A.R. Atypical case of microsporia (review). *Problems in Medical Mycology*. 2018; 20 (1): 3-5. (In Russ)].
11. Mao Lu, Yu-Ping Ran, Ya-Ling Dai, et al. An elderly female with alopecia / in «Clinical Cases in Hair Disorders». Springer Nature Switzerland, 2022; 85-89. doi.org/10.1007/978-3-030-93423-1
12. Kronic A.L., Cetner A., Tesic V., et al. Atypical favic invasion of the scalp by *Microsporium canis*: report of a case and review of reported cases caused by *Microsporium species*. *Mycoses*. 2007; 50 (2): 156-159. doi: 10.1111/j.1439-0507.2006.01341.x
13. Do N., Notaro E., Schillhammer G., Colven R. Tinea capitis mimicking favus in rural Washington State. *JAAD Case Rep*. 2020. 6(3): 187-188. doi: 10.1016/j.jdcr.2019.12.013

14. *Корнишева В.Г., Авдеенко Ю.Л., Кукушкина К.С.* Первичная идиопатическая псевдопеллада (Брока). Клинический случай. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (3): 58-61. [Kornisheva V.G., Avdeenko Y.L., Kukushkina K.S. Primary idiopathic pseudopelade (Brocq). Clinical case. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (3): 58-61. doi: 10.24412/1999-6780-2021-3-58-61

Поступила в редакцию журнала 07.11.23

Принята к печати: 15.11. 23



Для цитирования: Босак И.А., Выборнова И.В., Н.С., Чилина Г.А., Оганесян Э.Г., Венчакова В.В., Паршикова Е.Г. Богомолова Т.С., Ковыршин С.В., Авдеенко Ю.Л., Карпов С.А., Павлова И.Э., Васильева Н.В. Вирулентность и особенности патогенеза диссеминированного кандидоза, обусловленного штаммами *Candida auris* с различной фосфолипазной активностью, в экспериментальной модели. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 52-58. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-52-58

For citation: Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Oganesyanyan E.G., Venchakova V.V., Parshikova E.G., Bogomolova T.S., Kovyrshin S.V., Avdeenko Y.L., Karpov S.A., Pavlova I.V., Vasilyeva N.V. Virulence and pathogenesis features of disseminated candidiasis caused by *Candida auris* strains with different phospholipase activities in an experimental model. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 52-58. (In Russ). DOI:10.24412/1999-6780-2023-4-52-58

ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ДИССЕМНИРОВАННОГО КАНДИДОЗА, ОБУСЛОВЛЕННОГО ШТАММАМИ *CANDIDA AURIS* С РАЗЛИЧНОЙ ФОСФОЛИПАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

¹Босак И.А. (с.н.с.)^{*}, ¹Выборнова И.В. (н.с.), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ¹Оганесян Э.Г. (ассистент кафедры), ¹Венчакова В.В. (ординатор), ¹Паршикова Е.Г. (ординатор), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Ковыршин С.В. (лаборант-исследователь), ¹Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), ^{1,2}Карпов С.А. (зав. лаб.; г.н.с.), ¹Павлова И.Э. (н.с.), ¹Васильева Н.В. (директор института; зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; кафедра медицинской микробиологии); ²Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

*В статье представлены данные по изучению вирулентности восьми клинических штаммов *Candida auris* с различной фосфолипазной активностью для мышей в состоянии иммуносупрессии при внутривенном способе заражения. Приведены результаты культуральных и гистологических исследований органов и тканей экспериментальных животных, а также получены данные об особенностях поражения органов экспериментальных животных, зараженных штаммами, различающимися по фосфолипазной активности.*

Ключевые слова: экспериментальная модель, фосфолипазная активность, нейтропения, вирулентность, *Candida auris*

VIRULENCE AND PATHOGENESIS FEATURES OF DISSEMINATED CANDIDIASIS CAUSED BY *CANDIDA AURIS* STRAINS WITH DIFFERENT PHOSPHOLIPASE ACTIVITIES IN AN EXPERIMENTAL MODEL

¹Bosak I.A. (senior scientific researcher), ¹Vybornova I.V. (scientific researcher), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ¹Oganesyanyan E.G. (assistant of the department), ¹Venchakova V.V. (resident), ¹Parshikova E.G. (resident), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Kovyrshin S.V. (research assistant), ¹Avdeenko Y.L. (senior scientific researcher), ^{1,2}Karpov S.A. (head of the laboratory; leading scientific researcher), ¹Pavlova I.V. (scientific researcher), 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 Medical Microbiology); ²Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

*The article presents results of the virulence study of *Candida auris* eight clinical strains with different phospholipase activity in the neutropenic murine model. The results of cultural and histological studies of organs and tissues with characteristics of organs damage of experimental animals infected by strains with different phospholipase activities are presented.*

Key words: experimental model, phospholipase activity, neutropenia, virulence, *Candida auris*

^{*} Контактное лицо: Босак Илья Алексеевич,
e-mail: Puя.Bosak@szgmu.ru

ВВЕДЕНИЕ

Candida auris – недавно выявленный патогенный дрожжевой грибок с множественной лекарственной устойчивостью, вызывающий инвазивные инфекции и вспышки с высоким уровнем смертности среди госпитализированных пациентов, особенно в отделениях интенсивной терапии [1, 2]. В настоящее время недостаточно изучены механизмы вирулентности, которые приводят к высокой контагиозности *C. auris* и способности вызывать инвазивные микозы после попадания на кожу человека или в желудочно-кишечный тракт. Понимание защитных механизмов хозяина и вирулентности грибов имеет решающее значение для разработки новых стратегий профилактики и контроля инвазивной инфекции, обусловленной этим мультирезистентным патогеном. Известно, что подобно *C. albicans*, *C. auris* может продуцировать различные литические ферменты, которые способствуют адгезии и инвазии грибов. Ферменты включают фосфолипазы, гемолизины, липазы, протеиназы и секретируемые аспартилпротеазы (SAPs), что имеет отношение к патогенности *Candida* spp. [3, 4]. Исследования *in vitro* по оценке изолятов *C. auris* из разных географических регионов показали, что фосфолипазную активность проявляли 37,5-67,3% тестируемых штаммов, а положительными по протеиназе были 100% [5-7]. В модели на беспозвоночных животных *Galleria mellonella* при анализе штаммов *C. auris* не было отмечено корреляции между высокой патогенностью и высокой фосфолипазной активностью [7]. Сравнение вирулентности штаммов *C. auris* с разной фосфолипазной активностью на модели внутривенного заражения мышей не проводили.

Цель работы: изучить вирулентность клинических изолятов *C. auris* с различной фосфолипазной активностью, выделенных от пациентов в России, на экспериментальной модели инвазивного кандидоза у мышей в состоянии нейтропении при внутривенном способе заражения [8, 9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные животные. Использовали самцов беспородных белых мышей с массой тела 18-20 г. Для введения животных в состояние нейтропении внутрибрюшинно вводили Эндоксан (циклофосфан) в дозе 150 мг/кг трехкратно в -3, 0 и +4 дни эксперимента.

Фосфолипазная активность.

Для изучения фосфолипазной активности *C. auris* готовили специальную питательную среду, для чего в декстрозный агар Сабуро добавляли 0,005 моль/л CaCl_2 («НеваРеактив», Россия), 1 моль/л NaCl (Научный центр фармакотерапии, Россия) и 8% стерильной эмульсии яичного желтка

(«Condalab», Испания). Среду разливали в чашки Петри («Медполимер», Россия) диаметром 90 мм. На агар наносили 10 мкл суспензии *C. auris* густотой 0,5 ЕД по МакФарланд и инкубировали при 37 °С в течение 3 суток. Каждый штамм был протестирован в трех повторностях. Фосфолипазную активность (Pz) определяли по зоне преципитации вокруг колоний [10]. Значение Pz выражали как отношение диаметра колонии к сумме диаметров зоны преципитации и колонии. Результаты оценивали следующим образом: отсутствие фосфолипазной активности (Pz=1), слабая фосфолипазная активность (Pz=0,9-0,99), средняя фосфолипазная активность (Pz=0,8-0,89), сильная фосфолипазная активность (Pz=0,7-0,79), очень сильная фосфолипазная активность (Pz <0,69).

Штаммы грибов.

Для изучения вирулентности *C. auris* были отобраны 4 штамма с очень сильной (высокой) фосфолипазной активностью (ВФА) (2360, 2565, 2332, 1883) и 4 штамма, у которых фосфолипазная активность отсутствовала (ФА-) ((2093, 2158, 2149, 2225). Культуры *C. auris* были выделены из крови и мочи больных и депонированы в Российскую коллекцию патогенных грибов (РКПГ) (табл.1).

Таблица 1

Штаммы *C. auris*, использованные для изучения вирулентности

№ п/п	№ штамма в РКПГ	Субстрат выделения	Pz	Фосфолипазная активность	Данные ДНК секвенирования
1.	2093	Кровь	1	Отсутствие	Идентичность 100%, ITS
2.	2158	Моча	1	Отсутствие	Идентичность 100%, ITS
3.	2360	Моча	0,35	Очень сильная	Идентичность 100%, ITS
4.	2565	Моча	0,36	Очень сильная	Идентичность 100%, ITS
5.	2332	Кровь	0,34	Очень сильная	Идентичность 100%, ITS
6.	1883	Моча	0,34	Очень сильная	Идентичность 100%, ITS
7.	2149	Кровь	1	Отсутствие	Идентичность 100%, ITS
8.	2225	Моча	1	Отсутствие	Идентичность 100%, ITS

Методика заражения.

Из суточной культуры гриба на агаре Сабуро в стерильном 0,85% растворе NaCl готовили взвесь дрожжевых клеток густотой 2 ЕД по МакФарланд. Было сформировано восемь экспериментальных групп по 10 мышей в каждой. Заражение животных выполняли путём внутривенного введения в боковую вену хвоста 0,5 мл приготовленной взвеси. В качестве контроля была сформирована группа из

десяти животных в состоянии нейтропении без заражения.

Наблюдение за зараженными мышами выполняли ежедневно в течение 20 дней. Ежедневно учитывали количество погибших животных в группах. В день гибели животного стерильно извлекали ткани для культурального и гистологического исследований. Оценку наличия гриба в тканях зараженных мышей осуществляли путем посева органов (лёгкие, почка, печень, селезёнка, сердце и головной мозг) погибших животных на среду Сабуро агар методом отпечатков. Чашки инкубировали в термостате до появления роста культур *C. auris*. Идентификацию выделенных культур проводили по морфологическим признакам.

Вирулентность штаммов оценивали путем сравнения выживаемости мышей методом Каплана-Мейера. Рассчитывали медианы выживаемости животных в группах: количество дней после заражения, когда регистрировали гибель 50% мышей. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы STATISTICA for Windows.

Гистологическое исследование.

Органы (головной мозг, легкие, сердце, печень, почки, селезенка), взятые у погибших мышей, зараженных штаммами *C. auris* с различной фосфолипазной активностью, фиксировали в 10% растворе забуференного формалина. Материал проводили через серию изопропилового спирта и гистомикса с помощью гистологического процессора марки Tissue-Tek@ VIP. Затем образец, пропитанный гистомиксом, переносили в заливочную станцию для изготовления парафиновых блоков, с которых на санном микротоме Slide 2003 получали серийные срезы толщиной 3 мкм. Срезы после удаления гистомикса ксилолом окрашивали PAS-методом. После заключения в среду Bio-Mount срезы исследовали в световом микроскопе при увеличениях 100x и 400x с последующей фотофиксацией и подсчитывали количество очагов *C. auris* на срезе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вирулентность штаммов C. auris с различной фосфолипазной активностью.

В контрольной группе гибели животных не наблюдали. Сведения о выживаемости мышей после заражения различными штаммами *C. auris* представлены на рисунке 1 и в таблице 2. Изученные штаммы *C. auris* различались по вирулентности для животных в состоянии нейтропении. Медианы выживаемости мышей для 75% штаммов, не проявивших фосфолипазную активность, составили от 9 до 11 дней, а для 75% штаммов с высокой фосфолипазной активностью – более 20 дней.

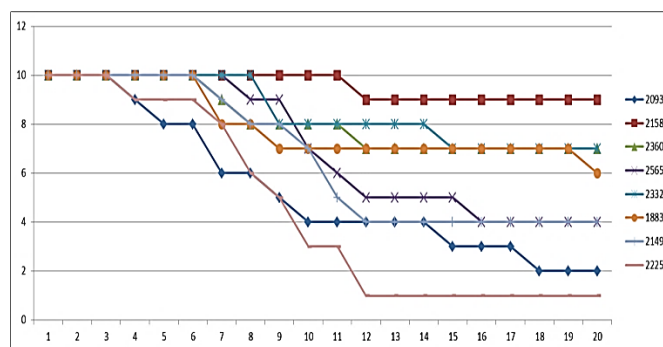


Рис. 1. Выживаемость мышей после заражения штаммами *C. auris* с различной фосфолипазной активностью. По оси абсцисс – дни наблюдения, по оси ординат – количество выживших животных в экспериментальных группах.

Таблица 2
Вирулентность изученных штаммов *C. auris*

№ п/п	№ штамма в РКПГ	Фосфолипазная активность	Медиана выживаемости, количество дней
1.	2093	Отсутствие	9
2.	2158	Отсутствие	>20
3.	2360	Очень сильная	>20
4.	2565	Очень сильная	12
5.	2332	Очень сильная	>20
6.	1883	Очень сильная	>20
7.	2149	Отсутствие	11
8.	2225	Отсутствие	9

При анализе кумулятивной выживаемости в группах животных, зараженных штаммами *C. auris* с различной фосфолипазной активностью, были выявлены достоверные различия. При использовании данной модели инвазивного кандидоза количество погибших мышей, зараженных штаммами, не проявившими фосфолипазной активности (ФА-), было значительно больше, чем зараженных штаммами с очень сильной фосфолипазной активностью ($p \leq 0,05$) (Рис. 2).

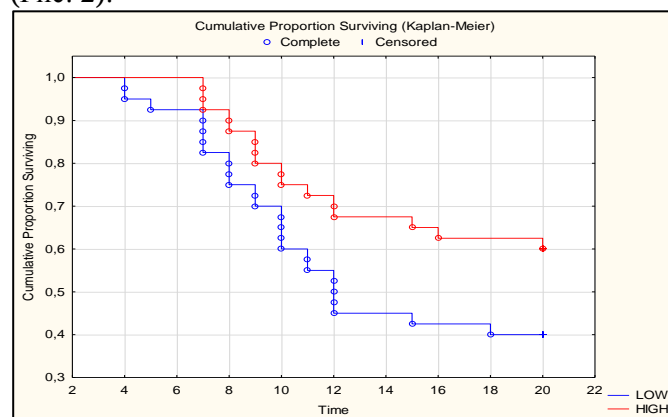


Рис. 2. Сравнение выживаемости животных, зараженных штаммами с высокой (HIGH) и без фосфолипазной активности (LOW).

Культуральное исследование.

При посеве на плотную питательную среду рост *C. auris* был отмечен во всех пробах биоматериала, полученного от погибших животных.

Гистологическое исследование.

При гистологическом исследовании патологические изменения в виде очагов некроза фиксировали преимущественно в почках, миокарде, печени, головном мозге (реже), в легких (редко), находили многочисленные скопления почкующихся дрожжевых клеток гриба сферической формы, диаметром 2-4,3 мкм, встречались и более крупные вытянутые клетки длиной до 8 мкм. В почках (мозговой слой, корковый слой, каналцы), миокарде и печени выявлены многочисленные скопления клеток грибов, которые распространялись по сосудам, затем по межклеточным пространствам, вызывая некроз и лизис тканей. В 30% случаев во всех исследуемых группах встречалась и бактериальная биота (кокковая), которая обнаруживалась в легких, печени, вызывая пневмонии, очаговые некрозы в печени, явления холангита, проявлялась инфильтрацией нейтрофилами портальных трактов и внутрипеченочных желчных протоков. Находили очаговые мелкие скопления клеток гриба и в селезенке, в том числе в макрофагах.

Поскольку перед заражением все животные получали цитостатическую терапию для развития нейтропении, в тканях мышей были выражены явления иммуносупрессии, проявляющиеся атрофией и обеднением белой пульпы селезенки, отсутствием или наличием скудной воспалительной реакции со стороны макроорганизма на рост и размножение дрожжевых клеток гриба в тканях. В более поздние сроки от момента заражения происходила активация иммунитета, появлялись нейтрофилы в периферической крови и тканях, отмечалась гиперплазия лимфоидных фолликулов в селезенке, встречались явления фагоцитоза клеток грибов.

При изучении материала выявили, что штаммы без фосфолипазной активности вызывали многочисленные и массивные повреждения в исследуемых органах, в то время как штаммы с ВФА – более редкие и менее обширные повреждения органов и тканей. Небольшие и сравнительно редкие скопления грибов обнаружены в тканях сердца и почки, в некоторых случаях грибы на срезах отсутствовали. Для каждого штамма фиксировали количество и размеры очагов поражения и сопоставляли их с продолжительностью жизни мышей.

У штаммов (ФА-): РКПГ 2093 количество очагов поражения во всех органах было в среднем 83,3, РКПГ 2158 – 24,4 очага, РКПГ 2149 – 19,5 очагов, РКПГ 2225 – 42,3 очага.

У штаммов ВФА: РКПГ 2360 – 0,7 очагов, РКПГ 2565 – 2,2, РКПГ 2332 – 0,625, РКПГ 1883 – 7,8 (табл. 3).

Таблица 3

Количество очагов роста грибов в органах мышей, выявленных при гистологическом исследовании

Штамм	Фосфолипазная активность	Количество очагов
2093	Отсутствует	83,3
2158	Отсутствует	24,4
2149	Отсутствует	19,5
2225	Отсутствует	42,3
2360	Высокая	0,7
2565	Высокая	2,2
2332	Высокая	0,6
1883	Высокая	7,8

Как видно из таблицы 3 и диаграммы (Рис. 3), наибольшее число очагов роста грибов в тканях вызвали штаммы с (ФА-): 2093, 2225, 2158 и 2149, а наименьшее – с ВФА: 2360, 2565, 2332, 1883.

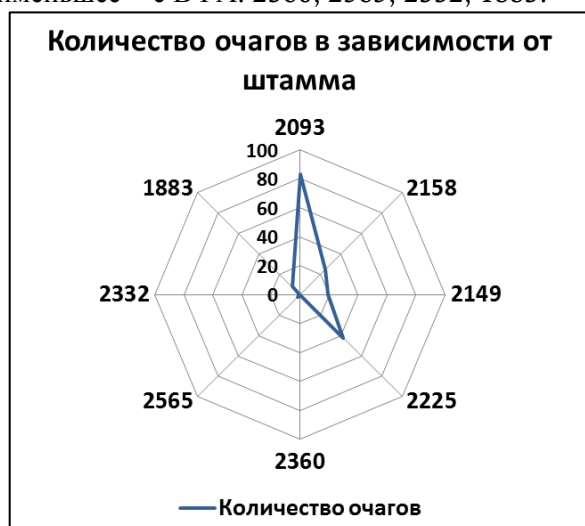


Рис. 3. Диаграмма к таблице 3. На вершинах восьмиугольника номера штаммов *S. auris*.

Зараженные штаммами (ФА-) 2093, 2225 мыши имели максимальное количество очагов деструкции и роста грибов во внутренних органах, что при сходной гистологической картине может свидетельствовать об их большей вирулентности. В то же время штаммы ВФА 2332 и 2360 вызвали наименьшее число очагов в органах животных.

У одной из мышей (№2), зараженной штаммом (ФА-) 2093, в стенке бронха обнаружены нити псевдомицелия гриба диаметром 2,0 мкм, длиной до 10 мкм, и почкующиеся сферические клетки гриба диаметром 2-4,3 мкм. У одной из мышей (№6), зараженной штаммом (ФА-) 2149, в миокарде вывлены нити псевдомицелия гриба диаметром до 2,0 мкм, длиной до 15 мкм, и почкующиеся сферические клетки гриба диаметром 2-4,3 мкм. Эти факты свидетельствуют о высокой пролиферативной активности штаммов (ФА-), которая не наблюдалась у штаммов ВФА.

На рисунках 4-7 представлены характерные изменения в очагах поражения в тканях животных после заражения штаммами с различной фосфолипазной активностью.

Характерные изменения в почках

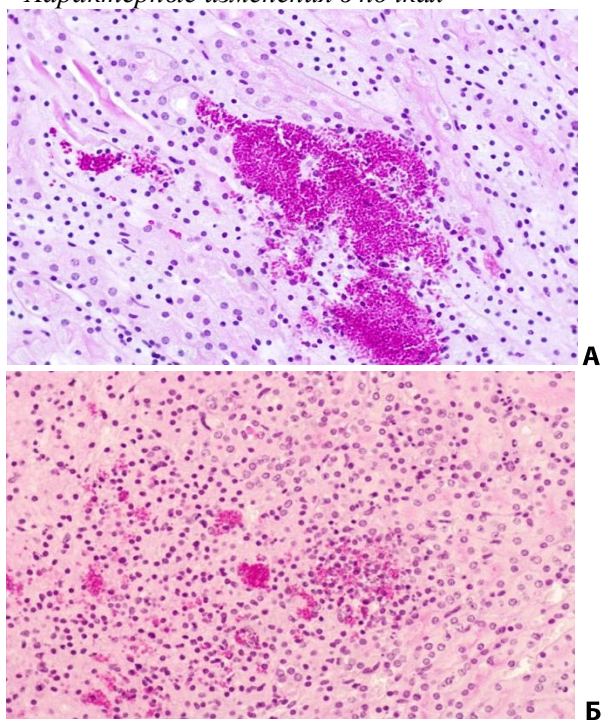


Рис. 4. Очаги роста грибов в ткани почки. А – штамм (ФА-) 2093, Б – штамм (ВФА) 2565. Очаговое скопление ярко PAS+ дрожжевых клеток гриба в канальцах мозгового слоя с распространением клеток гриба на окружающие ткани, некрозом канальцев, воспалительная реакция отсутствует. На рисунке А: более массивные скопления грибов. Окраска PAS-реакция, увеличение 400х.

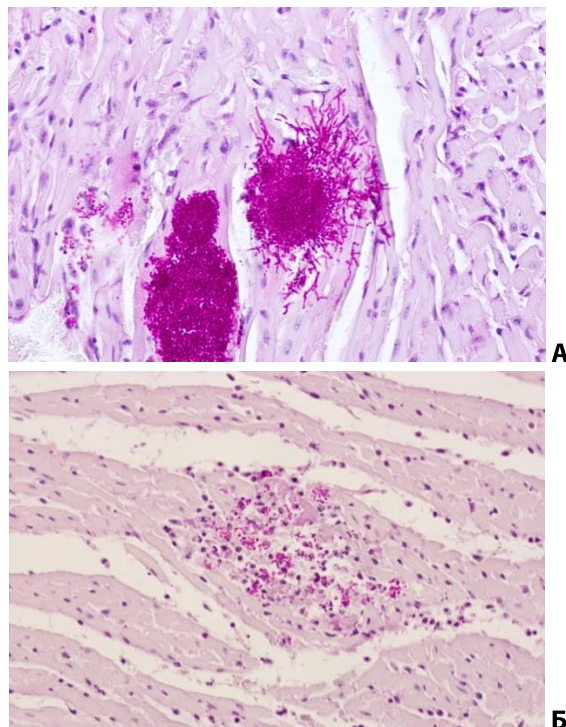


Рис. 6. Очаги роста грибов в миокарде. А – штамм (ФА-) 2149, Б – штамм (ВФА) 1883. Скопления PAS + дрожжевых клеток гриба с некрозом и лизисом миокардиоцитов. На рисунке А: более массивные скопления грибов, видны нити псевдомицелия гриба, длиной до 15 мкм, воспалительная реакция отсутствует. На рисунке Б: грибов значительно меньше и присутствует скудная нейтрофильная инфильтрация. Окраска PAS-реакция, увеличение 400х.

Изменения в миокарде

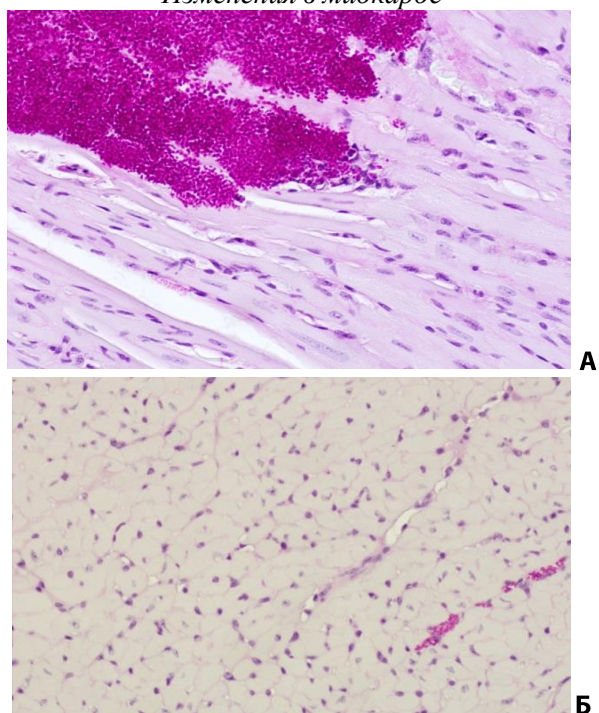


Рис. 5. Очаги роста грибов в миокарде. А - штамм (ФА-) 2093, Б - штамм (ВФА) 2360. Массивные скопления PAS + дрожжевых клеток гриба с некрозом и лизисом миокардиоцитов, воспалительная реакция отсутствует. На рисунке А более массивные скопления грибов. Окраска PAS-реакция, увеличение 400х.

Изменения в ткани печени

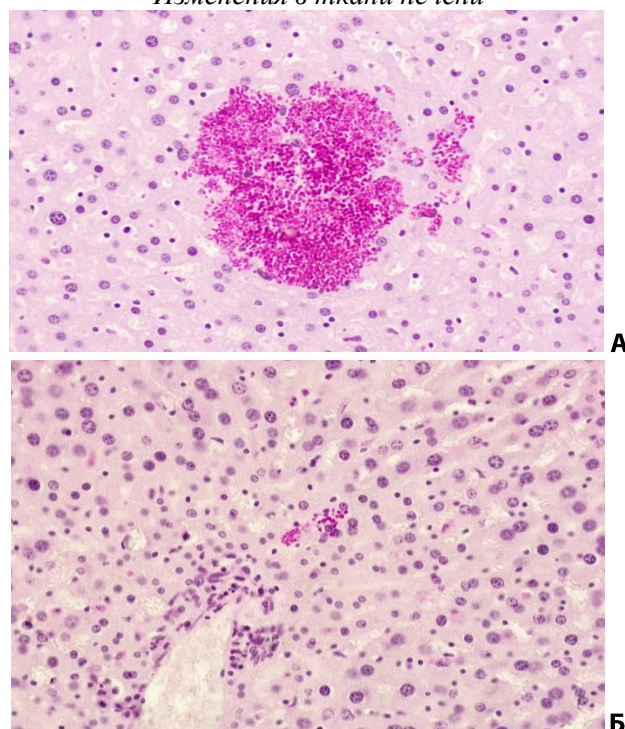


Рис. 7. Очаги роста грибов в печени. А – штамм (ФА-) 2225, Б – штамм (ВФА) 2565. Скопления PAS + дрожжевых клеток гриба. На рисунке А: более массивные скопления грибов, воспалительная реакция отсутствует. Окраска PAS-реакция, увеличение 400х.

Изменения в головном мозге мышей

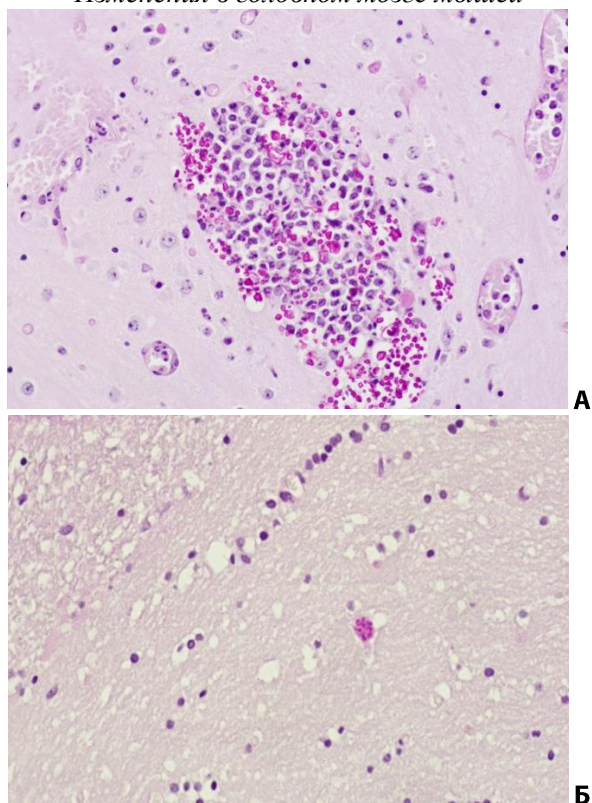


Рис. 8. Очаги роста грибов в головном мозге. А – штамм (ФА-) 2225, Б – штамм (ВФА) 1883. Крупные скопления почкующихся дрожжевых клеток гриба ярко PAS+. На рисунке А: более массивные скопления грибов, имеются участки лизиса цитоплазмы клеток нейронов, умеренная воспалительная нейтрофильная и макрофагальная инфильтрация, на рисунке Б: грибов значительно меньше, воспалительная реакция отсутствует. Окраска PAS-реакция, увеличение 400х.

ОБСУЖДЕНИЕ

Продукция внеклеточных гидролитических ферментов – важный фактор патогенности *Candida* spp. Исследованиями *in vitro* показано, что *C. auris* секретирует протеиназы, гемолизины, липазы и фосфолипазы [3, 4, 11]. По данным литературы, фосфолипазная активность у *C. auris* имеет штаммовый характер [6], а 37,5-67,3% изолятов способны вырабатывать этот фермент [4, 7].

Имеются лишь единичные публикации, посвященные изучению вирулентности штаммов *C. auris* с разной фосфолипазной активностью на модели с личинками беспозвоночного животного. Так, исследователи из Колумбии оценили патогенность 107 штаммов этого гриба, выделенных от больных кандидемией и колонизированных лиц. Установлено, что наиболее вирулентные штаммы вызывали гибель личинок *G. mellonella* в среднем через 5 дней и были представлены преимущественно штаммами от колонизированных пациентов. Только 3 из 107 (2,8%) штаммов проявили *in vitro* умеренную или сильную фосфолипазную активность. Среди 38 наиболее ви-

рулентных штаммов все штаммы слабо продуцировали этот фермент [7].

В ходе проведенного нами исследования была изучена вирулентность восьми штаммов *C. auris*, различающихся по фосфолипазной активности, выделенных от пациентов в России, на модели экспериментального кандидоза при внутривенном способе заражения беспородных мышей в состоянии нейтропении. Среди этих штаммов были как не обладающие фосфолипазной активностью, так и с высокой степенью продукции этого фермента. При сравнении кумулятивной выживаемости мышей, зараженных штаммами с разной фосфолипазной активностью, штаммы, не продуцирующие этот фермент, были более вирулентны для экспериментальных животных в данной модели. Исключением был штамм РКПГ 2158, не продуцирующий фосфолипазу, но проявивший низкую вирулентность для мышей.

Выявленные нами морфологические изменения при гистологическом исследовании были сходными с описанными в работах других авторов [12]. Полученные нами результаты выживаемости мышей после заражения коррелировали с данными патоморфологического исследования. Между штаммами с разной фосфолипазной активностью обнаружены отличия в количестве и размерах очагов поражения в тканях органов погибших животных.

Необходимо продолжать дальнейшие исследования патогенности штаммов *C. auris* с различной степенью продукции ферментов, способствующих адгезии и инвазии грибов, что, несомненно, внесет вклад в изучение свойств этого возбудителя, имеющего критическое значение согласно списку приоритетных грибковых патогенов ВОЗ [13].

ВЫВОДЫ

Изученные штаммы *C. auris* различаются по вирулентности (летальному действию на мышей) в данной экспериментальной модели. Большинство штаммов, не проявивших фосфолипазную активность *in vitro* (75%), вызывали гибель животных значительно быстрее, чем штаммы с высокой фосфолипазной активностью.

Штаммы *C. auris*, не продуцирующие фосфолипазу, вызывали более многочисленные и массивные повреждения в исследуемых органах и тканях экспериментальных мышей, чем штаммы с высокой фосфолипазной активностью.

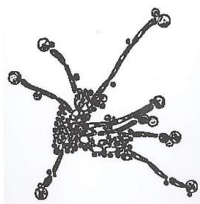
Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания Минздрава России «Генетические биомаркеры и биологические особенности *Candida auris* – возбудителя контагиозного инвазивного кандидоза» № НИОКТР 122012100283-8.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmad S., Alfouzan W. *Candida auris*: epidemiology, diagnosis, pathogenesis, antifungal susceptibility, and infection control measures to combat the spread of infections in healthcare facilities. *Microorganisms*. 2021; 9 (4): 807. doi.org/10.3390/microorganisms9040807
2. Козлова О.П., Шаталова М.В., Сандгартен Л.М. и др. *Candida auris*- ассоциированные инфекции у больных COVID-19. *Проблемы медицинской микологии*. 2023; 25 (2): 32-38. [Kozlova O.P., Shatalova M.V., Sandgarten L.M., et al. *Candida auris*-associated infections in COVID-19 patients. *Problems in Medical Mycology*. 2023; 25 (2): 32-38. (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2023-2-32-38
3. de Cássia Orlandi Sardi J., Silva D.R., Soares Mendes-Giannini M.J., Rosalen P.L. *Candida auris*: Epidemiology, risk factors, virulence, resistance, and therapeutic options. *Microb. Pathog.* 2018; 125: 116-121. doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.014
4. Luana Rossato and Arnaldo Lopes Colombo. *Candida auris*: what have we learned about its mechanisms of pathogenicity? *Front. Microbiol., Sec. Infectious Agents and Disease*. 2018; 9. doi.org/10.3389/fmicb.2018.03081
5. Wurster S., Bandi A., Beyda N.D., et al. *Drosophila melanogaster* as a model to study virulence and azole treatment of the emerging pathogen *Candida auris*. *J. of Antimicrob. Chemother.* 2019; 74 (7): 1904-1910. doi.org/10.1093/jac/dkz100
6. Larkin E., Hager C., Chandra J., et al. The emerging pathogen *Candida auris*: growth phenotype, virulence factors, activity of antifungals, and effect of SCY-078, a novel glucan synthesis inhibitor, on growth morphology and bio-film formation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61. doi.org/10.1128/AAC.02396-16
7. Carvajal S.K., Alvarado M., Rodríguez Y.M., et al. Pathogenicity assessment of colombian strains of *Candida auris* in the *Galleria mellonella* invertebrate model. *J. Fungi*. 2021; 7: 401. doi.org/10.3390/jof7060401
8. Васильева Н.В., Босак И.А., Степанова А.А. и др. Изучение вирулентности *Candida auris* в экспериментальной модели на животных. *Проблемы медицинской микологии*. 2020; 22 (3): 59. [Vasilyeva N.V., Bosak I.A., Stepanova A.A., et al. Study of *Candida auris* virulence in an experimental animal model. *Problems in Medical Mycology*. 2020; 22 (3): 59. (In Russ)].
9. Босак И.А., Выборнова И.В., Чилина Г.А. и др. Изучение вирулентности клинических изолятов *Candida auris* в экспериментальной модели на животных. *Проблемы медицинской микологии*. 2022; 24 (4): 82-88. [Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., et al. Virulence study of *Candida auris* clinical isolates in the experimental animal model. *Problems in Medical Mycology*. 2022; 24 (4): 82-88. (In Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2022-4-82-88
10. Price M.F., Wilkinson I.D., Gentry L.O. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982; 20 (1): 7-14. doi.org/10.1080/00362178285380031
11. de Jong A.W., Hagen F. Attack, defend and persist: how the fungal pathogen *Candida auris* was able to emerge globally in healthcare environments. *Mycopathologia*. 2019; 184 (3): 353-365. doi: 10.1007/s11046-019-00351-w
12. Forgacs L., Borman A.M., Prepost E., et al. Comparison of in vivo pathogenicity of four *Candida auris* clades in a neutropenic bloodstream infection murine model. *Emerging Microbes & infections*. 2020; 9: 1160-1169. doi.org/10.1080/22221751.2020.1771218
13. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022.

Поступила в редакцию журнала 30.11.23

Принята к печати: 07.12.23



Для цитирования: Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Храмов М.В. Разработка питательных сред для энтерококков, рекомендованных нормативными документами, при проведении анализа проб воды. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (4): 59-64. DOI:10.24412/1999-6780-2023-4-59-64

For citation: Domotenko L.V., Morozova T.P., Khramov M.V. Development of nutrient media for enterococci recommended by regulatory documents when analyzing water samples. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (4): 59-64. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-4-59-64

РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ЭНТЕРОКОККОВ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ НОРМАТИВНЫМИ ДОКУМЕНТАМИ, ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АНАЛИЗА ПРОБ ВОДЫ

Домотенко Л.В. (в.н.с.)*, Морозова Т.П. (н.с.), Храмов М.В. (зам. директора)

Государственный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk, Россия

После введения в действие СанПиН 1.2.3685-21, устанавливающих новые санитарно-микробиологические и паразитологические показатели безопасности питьевой воды, с 1 января 2022 г. стало обязательным исследование питьевой воды, воды поверхностных водных объектов и обеззараженных сточных вод, допустимых к сбросу в поверхностные водные объекты на наличие энтерококков в качестве индикатора фекального загрязнения. В рамках программы импортозамещения разработан комплект питательных сред для обнаружения и подтверждения наличия/отсутствия энтерококков в пробах воды, включающий среду Сланец-Бартли, желчь-эскулин-азидный агар, канамицин-эскулин-азидный агар и солевой агар с ТТХ. Показано, что питательные среды удовлетворяют требованиям нормативно-методических документов, устанавливающих методы обнаружения и подсчета энтерококков в воде.

Ключевые слова: энтерококки, среда Сланец-Бартли, желчь-эскулин-азидный агар, канамицин-эскулин-азидный агар, солевой агар

DEVELOPMENT OF NUTRIENT MEDIA FOR ENTEROCOCCI RECOMMENDED BY REGULATORY DOCUMENTS WHEN ANALYZING WATER SAMPLES

Domotenko L.V. (leading scientific researcher), Morozova T.P. (scientific researcher), Khramov M.V. (deputy director)

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

After the introduction of SanPiN 1.2.3685-21, which established new sanitary-microbiological and parasitological indicators for the safety of drinking water, from January 1, 2022, it became mandatory to study drinking water, water from surface water bodies and disinfected wastewater allowed for discharge into surface water bodies on presence of enterococci as an indicator of fecal contamination. As part of the import substitution program, a set of culture media has been developed for the detection and confirmation of enterococci in the analysis of water samples, including Slanetz-Bartley medium, bile-esculin-azide agar, kanamycin-esculin-azide agar and salt agar with 2, 3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC). It has been shown that nutrient media meet the requirements of regulatory and methodological standards establishing methods for detecting and counting enterococci in water.

Key words: enterococci, Slanetz-Bartley medium, bile-esculin-azide agar, kanamycin-esculin-azide agar and salt agar with TTC for enterococci

Известно, что большинство тяжелых инфекций в мире, включая связанные с оказанием медицинской помощи, вызывают бактерии, известные под аббревиатурой ESCAPE, в которую вошли: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и другие представители *Enterobacteriaceae*. Энтерококки вызывают различные инфекции у человека, включая эндокардиты, инфекции мочевыводящих путей,

* Контактное лицо: Домотенко Любовь Викторовна, e-mail: domotenko@obolensk.org

органов малого таза, раневую инфекцию и др. Энтерококки относят к санитарно-показательным микроорганизмам, так как они обитают в кишечнике человека и животных, способны загрязнять объекты внешней среды (почву и воду). Один из самых актуальных вопросов, стоящих перед санитарными службами и организациями системы здравоохранения всего мира, связан с безопасностью и качеством воды [1]. Учитывая важность данного вопроса, в 2021 г. приняты санитарные правила и нормы СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания», в которых введены новые санитарно-микробиологические показатели безопасности питьевой воды централизованного водоснабжения с учетом международных требований [2]. В соответствии с требованиями данного документа, с 1 января 2022 г. стало обязательным исследование качества и безопасности питьевой воды, воды поверхностных водных объектов и обеззараженных сточных вод, допустимых к сбросу в поверхностные водные объекты, на наличие энтерококков. До этого энтерококки в воде поверхностных водоемов рекомендовалось определять только в случае превышения уровня общих колиформных бактерий, а также при несоответствии оценки качества воды по основным показателям и санитарной ситуации на водных объектах.

Введение данного показателя в качестве индикатора фекального загрязнения воды обусловлено способностью энтерококков к более длительному выживанию в водной среде по сравнению с *Escherichia coli* или термотолерантными колиформными бактериями, их большей устойчивостью к высушиванию и хлорированию, высокой галлотолерантностью, а также распространением штаммов энтерококков, обладающих высокой антибиотикоустойчивостью [3, 4]. Особую обеспокоенность в последние годы вызывает распространение штаммов энтерококков с высокой вирулентностью и обладающих устойчивостью к ванкомицину (*vancomycin-resistant enterococcus*, VRE). [5, 6]. При этом наибольший процент VRE штаммов характерен для вида *Enterococcus faecium* [7].

Методология обнаружения энтерококков в воде регламентирована нормативно-методическими документами, описывающими технику проведения исследования [8-12]. Общим для всех перечисленных стандартов является применение бактериологического метода выявления энтерококков с использованием питательных сред. Отличия касаются метода исследования и набора питательных сред. Основные методы исследования воды включают метод мембранной фильтрации, титрационный метод (или метод ферментации в пробирках) и качественные (ускоренных) тесты с хромогенным или флуороген-

ным субстратом. Титрационный метод рекомендует-ся при анализе мутных образцов воды. Метод мембранной фильтрации считается современным «золотым стандартом» для оценки качества воды на наличие энтерококков [3]. Как правило, анализ воды данным методом осуществляется в два этапа – выявления и подтверждения.

Цель данной работы: проанализировать рекомендации действующих нормативно-методических стандартов в отношении питательных сред для проведения микробиологического контроля воды методом мембранной фильтрации и разработка комплекса необходимых питательных сред для выявления и подтверждения энтерококков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Перечень питательных сред для выявления и подтверждения энтерококков в воде определяли на основе анализа рекомендаций нормативно-методических документов: ГОСТ 33463.6-2016 «Системы жизнеобеспечения на железнодорожном подвижном составе. Часть 6. Методы гигиенической оценки системы водоснабжения»; ГОСТ 24849-2014 «Вода. Методы санитарно-бактериологического анализа для полевых условий»; ГОСТ 34786-2021 «Вода питьевая. Методы определения общего числа микроорганизмов, колиформных бактерий, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и энтерококков»; ГОСТ ISO 7899-2-2018 «Качество воды. Обнаружение и подсчет кишечных энтерококков. Часть 2. Метод мембранной фильтрации»; «Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения: МУК 4.2.2959-11».

В процессе разработки питательных сред применяли ферментативные гидролизаты: панкреатический гидролизат рыбной муки и панкреатический гидролизат казеина, а также желчь содержащие компоненты: соли желчных кислот, желчь бычью сухую и желчь бычью, очищенную активированным углем (все производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск).

Ростовые свойства разрабатываемых питательных сред изучали с использованием штаммов энтерококков *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (NCTC 775); *E. faecium* ATCC 19434 (NCTC 7171), *E. faecalis* var. *zimogenes* 365, ингибирующие свойства – с использованием *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* Dick 1, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 10704, полученных из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно требованиям международного стандарта ISO 7899-2, определение кишечных энтерококков в воде методом мембранной фильтрации осуществляют на питательной среде Сланеца-Бартли, инкубируя мембранный фильтр, через который пропущен определенный объем образца воды при температуре (36 ± 2) °С в течение (44 ± 4) ч. Затем проводят следующий этап анализа – подтверждение и подсчет энтерококков. Для этого проверяют чашку с посевами на наличие типичных для энтерококков колоний, которые должны иметь красную, бордовую или розовую окраску по центру или по всей площади колонии. При наличии типичных колоний мембранный фильтр с колониями, не переворачивая, переносят в чашку, содержащую желчно-эскулиновый агар с азидом, предварительно нагретый до температуры 44 °С. Проводят инкубацию при температуре $(44\pm 0,5)$ °С в течение 2 ч и выполняют подсчет колоний в чашке. Все типичные колонии, цвет среды вокруг которых варьируется от желто-коричневого до черного, рассматривают как дающие положительную реакцию и учитывают при подсчете как колонии кишечных энтерококков [9]. Отметим, что ГОСТ ISO 7899-2-2018, введенный Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации, не принят в РФ, но некоторые российские лаборатории аккредитовали проведение анализа воды на наличие энтерококков именно по данному стандарту.

При изучении действующих отечественных нормативно-методических документов, регламентирующих методы по обнаружению энтерококков в воде и их подтверждение, отмечено, что все стандарты, за исключением ГОСТ 34786-2021, рекомендуют для определения энтерококков энтерококкагар или среду Сланеца-Бартли. ГОСТ 34786-2021 ориентирован на использование питательных сред в основном импортного производства, таких как: хромогенные среды энтерококковый агар Chromocult и m-EI Chromogenic Agar, а также стрептококковый агар KF (KF Streptococcus Agar), желчь-эскулин-азидный агар, энтерококковый (азидный) агар и среда Сланеца-Бартли. Для подтверждения энтерококков всеми стандартами, в отличие от международного, регламентировано использование солевого ТТХ агара или проведение микроскопии и определение каталазной активности у выросших на среде выделения культур, предположительно, относящихся к энтерококкам. И даже новый ГОСТ 34786-2021, несмотря на приверженность к иностранным питательным средам, рекомендует солевой ТТХ агар для подтверждения энтерококков, проведение микроскопии или постановку каталазного теста. Хотя в настоящее время международные стандарты на основании большой доказательной базы исключают

использование микроскопии и каталазного теста при рутинных исследованиях воды, при условии выделения энтерококков на средах с ТТХ и подтверждения только на желчь-эскулин-азидном агаре [9, 13-15].

Среди сред, рекомендуемых отечественными стандартами, только энтерококкагар уже длительное время производится в нашей стране. Другие питательные среды, необходимые для обнаружения и подтверждения энтерококков, в нашей стране не выпускались. Энтерококкагар представляет собой модификацию m-Enterococcus agar (также известный как агар Сланеца-Бартли), производимого многими иностранными компаниями и относящегося к основным питательным средам для подсчета энтерококков методом мембранной фильтрации [14]. m-Enterococcus agar содержит азид натрия, придавая средам селективные свойства и позволяя изолировать энтерококки, стрептококки, *Aerococcus viridans*, некоторые грамположительные спорообразующие палочки, стафилококки и некоторые грамотрицательные палочки. Энтерококкагар дополнительно содержит кристаллический фиолетовый, что заметно улучшает селективные свойства среды в отношении грамположительных микроорганизмов. Восстановление присутствующего в среде 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) приводит к образованию окрашенных колоний, предположительно, энтерококков, которые затем необходимо подтверждать в соответствии со способностью гидролизовать эскулин при 44 °С в течение 2 ч [14].

В соответствии с требованиями стандартов, была предпринята попытка разработать необходимые питательные среды для обеспечения лабораторий, осуществляющих контроль качества воды из различных источников и особенно питьевой воды: среду Сланеца-Бартли, желчь-эскулин-азидный агар, канамицин-эскулин-азидный агар и солевой агар с ТТХ.

Среда Сланеца-Бартли. В ходе исследований разработан компонентный состав среды с использованием белкового гидролизата рыбной муки с твином-80 производства ФБУН ГНЦПМБ: панкреатический гидролизат рыбной муки с твином сухой – 10,5 г/л, дрожжевой экстракт – 5,0 г/л, D-глюкоза – 2,0 г/л, калий фосфорнокислый однозамещенный – 2,0 г/л, натрий углекислый $(1,0\pm 0,5)$ г/л, натрия азид – 0,5 г/л, 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид – 0,1 г/л, агар – $10,0 \pm 2,0$ г/л. рН среды – от 7,1 до 7,3. Питательная среда обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С рост тестштаммов: *E. faecalis* ATCC 19433 – в виде гладких круглых бордовых блестящих колоний диаметром не менее 1 мм; *E. faecium* ATCC 19434 – в виде гладких круглых сиренево-розовых со светлым ободком ко-

лоний диаметром не менее 1,5 мм, полностью подавляет рост тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922; *P. aeruginosa* ATCC 27853 – при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-4} через 48 ч инкубации при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Желчь-эскулин-азидный агар. При разработке состава и технологии производства питательной среды использовали панкреатические гидролизаты рыбной муки и казеина, а также желчь содержащие компоненты: желчь бычью сухую, желчь бычью, очищенную активированным углем, соли желчных кислот. В ходе исследований в качестве белковой основы был выбран панкреатический гидролизат рыбной муки. Установлено, что только применение желчи бычьей, очищенной активированным углем, в концентрации 10 г/л позволяет получить питательную среду, обеспечивающую рост энтерококков в виде типичных серых колоний с почернением среды вокруг колоний после инкубирования посевов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. При посеве энтерококков бактериологической петлей и инкубации на протяжении 2 ч при $(44 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ отмечали почернение среды по ходу штриха.

Разработанная питательная среда имеет следующий состав (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 15,0, пептон ферментативный – 5,0, дрожжевой экстракт – 5,0, натрий углекислый – $(0,3 \pm 0,1)$, натрия азид – 0,5, эскулин – 1,0, цитрат железа – 0,5, желчь очищенная – 10,0, агар бактериологический – $(10,0 \pm 2,0)$. Среда обеспечивает рост тест-штаммов *E. faecalis* ATCC 29212 и *E. faecium* ATCC 19434 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} (100 м.к.) через 24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в виде гладких, круглых серых колоний размером до 1 мм с изменением цвета среды вокруг колоний до коричневатого-черного, а при посеве бактериологической петлей энтерококков и инкубации посевов при $(44 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ через 2 ч наблюдается изменение цвета среды до коричневатого-черного для тест-штаммов *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 19434, *E. faecalis* ATCC 19433, *E. faecalis* var. *zimogenes* 365. Тест-штаммы *S. pyogenes* Dick 1, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 и *B. cereus* ATCC 10704 могут давать слабый рост в начале штриха при посеве бактериологической петлей из колоний, при этом изменения цвета среды не происходит.

В ходе исследований показано, что разработанная питательная среда не уступает по ростовым и селективным свойствам импортному аналогу – Bile Esculin Azide Agar (HiMedia).

Канамидин-эскулин азидный агар в своем составе содержит (г/л): панкреатический гидролизат казеина – 15,0, пептон сухой ферментативный – 5,0, дрожжевой экстракт – 5,0 натрий хлористый – 5,0, натрия азид – 0,5, эскулин – 1,0, железо лимонноам-

миачное – 0,5, натрий лимоннокислый – 1,0, агар бактериологический – $(10,0 \pm 2,0)$, канамидин – 0,02. Селективные свойства среды достигаются благодаря наличию в среде азид натрия и канамидина. Энтерококки, вырабатывающие фермент эскулиназу, гидролизуют эскулин до эскулетина (6,7-дигидроксикумарин) и глюкозы. Эскулетин реагирует с цитратом железа, образуя фенольный комплекс железа, который окрашивает питательную среду вокруг колоний энтерококков в цвет от темно-коричневого до черного.

Солевой ТТХ агар. Согласно действующим нормативным документам по бактериологическому анализу воды (ГОСТ 34786-2021, ГОСТ 24849-2014, МУК 4.2.1884-04), для подтверждения энтерококков, выросших на среде выделения при посеве образцов воды, рекомендовано использование солевого агара с ТТХ. Солевой ТТХ агар выпускается только для *B. cereus* и не подходит для энтерококков. Описанный в нормативных документах процесс лабораторного приготовления солевого агара с ТТХ не позволяет получить стерильную питательную среду.

В ходе проведенных исследований определен состав, форма промышленного выпуска питательной среды в сухом виде и способ ее приготовления. Среда представляет собой набор реагентов, состоящий из сухой основы и ТТХ. Основа среды содержит (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки с твином 15,0, пептон ферментативный – 5,0, дрожжевой экстракт – 5,0, глюкозу – 1,0, натрий хлористый – 65,0, агар бактериологический – $(10,0 \pm 2,0)$, 2,-3,-5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ) – 0,1. Набор реагентов «Солевой агар с ТТХ для энтерококков» состоит из 1 банки с основой и 1 коробки с добавкой – 2,-3,-5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ) – 4 флакона.

Для приготовления питательной среды необходимо растворить навеску основы среды в дистиллированной воде, прокипятить и стерилизовать в автоклаве, после чего в стерильную основу внести стерильный раствор ТТХ, получаемый растворением в дистиллированной воде содержимого флакона с сухим ТТХ, перемешать и разлить в чашки Петри. Исследование изготовленных образцов солевого ТТХ агара с использованием расширенного набора штаммов показало, что разработанная питательная среда обеспечивает рост и характерное окрашивание культур *E. faecalis* ATCC 19433 и *E. faecium* ATCC 19434 и полное или частичное подавление роста штаммов *E. coli* ATCC 25922, *B. cereus* ATCC 10702, *P. aeruginosa* ATCC 27853 и *S. aureus* ATCC 25922.

Солевой агар с ТТХ для энтерококков предназначен для санитарно-бактериологических исследований с целью подтверждения принадлежности к роду *Enterococcus* микроорганизмов, выделенных на соответствующих питательных средах при анализе

образцов воды и других материалов. Совокупность компонентов (панкреатический гидролизат рыбной муки, пептон ферментативный и дрожжевой экстракт), входящих в состав солевого агара с ТТХ для энтерококков, обеспечивает питательные потребности энтерококков. Высокое содержание хлорида натрия действует как селективный агент, влияя на проницаемость мембран и осмотическое равновесие, обеспечивая рост солеустойчивых энтерококков. Агар является отвердителем питательной среды. Дифференцирующие свойства среды основаны на способности *E. faecalis* восстанавливать 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида в формазан, в результате колонии *E. faecalis* окрашиваются в красный цвет, а колонии *E. faecium*, который не обладает такой способностью, остаются беловатыми или окрашиваются в бледно-розовый цвет с темным центром. Для подтверждения наличия энтерококков в анализируемой пробе отбирают красные, беловатые, бледно-розовые с темным центром колонии, выросшие на средах выделения с ТТХ (например, энтерококкагар, сланец-Бартли). Затем производят посев отобранных колоний бактериологической петлей секторами на солевой агар с ТТХ с последующей инкубацией в течение 24-48 ч при температуре (36±1) °С. Энтерококки на среде дают равномерный нежный рост на протяжении всего штриха: эн-

терококки, восстанавливающие ТТХ, например, *E. faecalis* – красного цвета, *E. faecium*, *E. durans* и др. – беловатого или бледно-розового цвета с темным центром. Другие бактерии на этой подтверждающей среде не растут, за исключением солеустойчивых микроорганизмов, в частности стафилококков.

ВЫВОДЫ

При анализе нормативно-методических документов по микробиологическому анализу качества воды выявили недостаток коммерческих питательных сред, необходимых для обнаружения и подтверждения энтерококков методом мембранной фильтрации. Разработанные в рамках программы импортозамещения питательные среды для выявления и подтверждения энтерококков удовлетворяют требованиям стандартов. Организация отечественного производства питательных сред позволяет обеспечить ими лаборатории, осуществляющие микробиологический контроль качества и безопасности воды.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Питьевая вода*. Информационный бюллетень ВОЗ. 15 июня 2019. [Drinking water. WHO newsletter. June 15, 2019. (In Russ)]. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
2. *Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания*: СанПиН 1.2.3685-21. Утверждены постановлением Главного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. №2 и введены в действие 01.03.2021 г. [Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans: SanPiN 1.2.3685-21. Approved by the resolution of the Chief Sanitary Doctor of the Russian Federation dated January 28, 2021 №2 and put into effect on 01.03.2021. (In Russ)].
3. *Vyappanahalli M.N., Nevers M.B., Korajkic A., et al.* Enterococci in the environment. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2012; 76 (4): 685-706. doi: 10.1128/MMBR.00023-12
4. *Rodrigues C., Cunha M.Á.* Assessment of the microbiological quality of recreational waters: indicators and methods. *Euro-Mediterr. J. Environ. Integr.* 2017; 2, 25 doi.org/10.1007/s41207-017-0035-8
5. *Teixeira L.M. and Merquior V.L.C.* Enterococcus. In: De Filippis, I. and McKee, M.L., Eds., *Molecular Typing in Bacterial Infections*, Springer Science Business Media, New York, 2013; 17-26. dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-185-1_2
6. *Фёдорова А.В., Клясова Г.А., Фролова И.Н. и др.* Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования. *Онкогематология.* 2021; 16 (1): 54-63. [Fedorova A.V., Klyasova G.A., Frolova I.N., et al. Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, isolated from blood culture of patients with hematological malignancies during different study periods. *Oncohematology.* 2021; 16 (1): 54-63. (In Russ)]. doi.org/10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63
7. *Růžicková, M., Vítězová, M., & Kushkevych, I.* The characterization of *Enterococcus* genus: resistance mechanisms and inflammatory bowel disease. *Open Med. (Wars).* 2020; 15: 211-224. doi: 10.1515/med-2020-0032
8. *Вода питьевая*. Методы определения общего числа микроорганизмов, колиформных бактерий, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и энтерококков: ГОСТ 34786-2021. Дата введения 01.01.2022. [Drinking water. Methods

for determining the total number of microorganisms, coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and enterococci: GOST 34786-2021. Date of introduction 01.01.2022. (In Russ).]

9. *Качество воды*. Обнаружение и подсчет кишечных энтерококков. Часть 2. Метод мембранной фильтрации: ГОСТ ISO 7899-2—2018 (ISO 7899-2:2000). 2018; 14 с. [Water quality. Detection and counting of intestinal enterococci. Part 2. Method of membrane filtration: GOST ISO 7899-2-2018 (ISO 7899-2:2000). 2018; 14 p. (In Russ)].

10. *Системы жизнеобеспечения* на железнодорожном подвижном составе. Часть 6 Методы гигиенической оценки системы водоснабжения: ГОСТ 33463.6—2016. Дата введения 01.01.2017. [Life support systems on railway rolling stock. Part 6 Methods of hygienic assessment of the water supply system: GOST 33463.6—2016. Date of introduction 01.01.2017. (In Russ)].

11. *Вода*. Методы санитарно-бактериологического анализа для полевых условий: ГОСТ 24849-2014 Дата введения 01.01.2016. [Water. Methods of sanitary and bacteriological analysis for field conditions: GOST 24849-2014 Date of introduction 01.01.2016. (In Russ)].

12. *Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения*: Методические указания. Дата введения: 29.07.2011. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 114 с. [Methods of sanitary-microbiological and sanitary-parasitological analysis of coastal waters of the seas in places of water use of the population: Methodological guidelines. Date of introduction: 29.07.2011. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 114 p. (In Russ)].

13. *Guidance on the use of Enterococci as an Indicator in Canadian Drinking Water Supplies*. Ottawa: Ontario Health Canada, 2020; 25 p.

14. *Handbook of Culture Media for Food and Water* / Eds. J.E.L. Corry, G.D.W. Curtis, R.M. Baird. 3rd Edition, 2012; 1036 p.

15. *APHA*. Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edition. Washington: American Public Health Assn, 2012; 22 p.

Поступила в редакцию журнала 17.11.2023

Принята к печати: 24.11.23



Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина

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

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

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

Kashkin Research Institute of Medical Mycology

Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA.

Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77

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

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

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

Журнал зарегистрирован ВАК, с 2005 г. включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), в реферативный журнал и базы ВИНТИ. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям

«Ulrich's Periodicals Directory».

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

Подписано в печать 20.12.2023 г.