

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

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

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

V.B. Antonov — M.D., prof. (Russia), R.A. Araviyskiy — M.D., prof. (Russia), N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), V.L. Bykov — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Z.K. Kolb — M.D., (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), V.M. Leschenko — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), A.G. Rakhmanova — M.D., prof. (Russia), K.I. Raznatovsky — M.D., prof. (Russia), F.P. Romanyuk — M.D., prof. (Russia), A.V. Samzov — M.D., prof. (Russia), A.P. Scherbo — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), F. Staib — M.D. (Germany), H.J. Tietz — M.D. (Germany), T.N. Trofimova — M.D., prof. (Russia), M.A. Viviani — M.D. (Italy), V.A. Zinzerling — M.D., prof. (Russia)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 12, № 3, 2010

Saint Petersburg Medical Academy
of Postgraduate Education
Kashkin Research Institute
of Medical Mycology (KRI MM)

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 12, № 3, 2010

Санкт-Петербургская медицинская академия
последипломного образования (СПб МАПО)
Научно-исследовательский институт
медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
(НИИ ММ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

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

Заместители главного редактора:

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

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

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

В.Б. Антонов — д.м.н., профессор (Россия),
Р.А. Аравийский — д.м.н., профессор (Россия),
Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Дж. Беннетт — доктор медицины (США),
С.А. Бурова — д.м.н., профессор (Россия), В.Л. Быков —
д.м.н., профессор (Россия), М.А. Вивиани — доктор
медицины (Италия), В.И. Голубев — д.б.н., вед.н.с.
(Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), З.К. Колб — к.м.н., (Россия), В.Г. Кубась —
д.м.н., профессор (Россия), В.М. Лещенко — д.м.н.,
профессор (Россия), А.В. Липницкий — д.м.н.,
профессор (Россия), В.И. Мазуров — д.м.н., чл.-корр.
РАМН, профессор (Россия), Ю.А. Медведев —
д.м.н., профессор (Россия), И. Полачек — доктор
медицины (Израиль), К.И. Разнатовский — д.м.н.,
профессор (Россия), А.Г. Рахманова — д.м.н.,
профессор (Россия), Ф.П. Романюк — д.м.н., профессор
(Россия), А.В. Самцов — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Соболев — д.м.н., профессор (Россия), Х.Й. Титц —
доктор медицины (Германия), Т.Н. Трофимова —
д.м.н., профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н.,
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор (Россия),
Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия), Ф. Штайб —
доктор медицины (Германия), А.П. Щербо — д.м.н.,
чл.корр. РАМН, профессор (Россия)

Проблематика журнала: Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика микозов, грибы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

Новое в таксономии *Candida species* (лекция). *Елинов Н.П.* 3

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Влияние лекарственных препаратов на образование биопленок *Candida albicans*. *Караев З.О., Мамедова Л.Р.* . 10

Этиологическая характеристика нозокомиальных инфекций мочевыводящих путей. *Мамедова Л.Р., Караев З.О.* 13

Иммуно-микробиологические особенности *Candida*-носительства у новорожденных детей. *Ивахнюк Т.В., Каплин Н.Н.* 16

Диагностика и лечение иммунодефицитных и диабетических полиневропатий. *Жулёв С.Н., Скоромец А.А., Беляков Н.А.* 20

Особенности диагностики и лечения онихомикоза стоп, обусловленного нитчатыми недерматомицетами и дрожжами. *Кубасова Н.Л., Пупкова М.А., Васильева Н.В., Клиценко О.А.* 25

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Кератинолитическая активность некоторых микромицетов, выделенных из ногтевых пластин пациентов с онихомикозом. *Пупкова М.А., Кубасова Н.Л.* 29

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Конгрессы и конференции 39

Правила для авторов 41

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

News in *Candida species* taxonomy (lecture). *Yelinov N.P.* 3

CLINICAL MYCOLOGY

Influence of some drugs in formation of *Candida albicans* biofilms. *Karaev Z.O., Mamedova L.R.* 10

Etiologic character of nosocomial infection of urinary tract. *Mamedova L.R., Karaev Z.O.* 13

Immune-microbiological peculiarities of *Candida*-carrier between newborn children. *Ivakhnyuk TV, Kaplin N.N.*... 16

Diagnosis and treatment of immunodeficient and diabetic polyneuropathy. *Zhulev S.N., Skoromets A.A., Belyakov N.A.* 20

Peculiarities of diagnosis and treatment of feet onychomycosis, caused by nondermatomycetes and yeasts. *Kubasova N.L., Pupkova M.A., Vasilyeva N.V., Klicenko O.A.* 25

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

Keratinolytic activity of fungi isolated from patients' nails with onychomycosis. *Pupkova M.A., Kubasova N.L.* 29

CHRONICLE AND INFORMATION

Congresses and conferences 39

Rules for authors 41



УДК 616.992.282

НОВОЕ В ТАКСОНОМИИ CANDIDA SPECIES (ЛЕКЦИЯ)

Елинов Н.П. (зам.директора по научной работе)*

НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
ГОУ ДПО СПб МАПО, Санкт-Петербург, Россия

© Елинов Н.П., 2010

Дрожжевые организмы рода *Candida* – космополиты, обитающие преимущественно в связи с организмом человека: в пищеварительном или/и дыхательном и урогенитальном трактах, на поверхности кожи и ее придатков (ногти, волосы); мы вправе говорить о ряде видов *Candida* как организмах – представителях в составе нормобиоты у многих людей. Наиболее часто изолируют вид *C. albicans*, например, при септицемии, и этому виду отводят среди других возбудителей инфекционных заболеваний 8-е место в Европе и 4-е – в США.

К началу текущего века было установлено, что гаплоидный геном *Saccharomyces cerevisiae* состоит из 14000 кв, приходящихся на 17 хромосом в клетке этого вида; во всех 17 хромосомах картировано 150 млн. пар нуклеотидов. Штаммы SC 5314 и WO 1 *C. albicans* содержат по 8 хромосом; в течение последних 10 лет осуществлено сиквенирование этих штаммов. Геномные сиквенсы были также определены у *C. dubliniensis*, *C. glabrata* и др.

При использовании различных по длине внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS 1 and ITS 2), например для *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei*, удается специфически идентифицировать соответствующие штаммы *Candida* spp.

Геномная группа 20 штамма SC 5314 с 8 хромосомами была охарактеризована в 2006 г. У *C. albicans* идентифицирован парасексуальный цикл (без мейоза), находящийся под контролем локусов типов спаривания и переключения между фенотипами MTLa и MTLb.

Ключевые слова: виды *Candida*, ВИЧ, геном, геномные группы 19 и 20, кандидоз, кроссинговер, малярия, *Mycobacterium tuberculosis*, нормобионт, нуклеотидная последовательность, патогены, спейсеры транскрибируемые, транскрипция, хромосомы, штаммы SC 5314 и WO 1 *Candida albicans*

NEWS IN CANDIDA SPECIES TAXONOMY (LECTURE)

Yelinov N.P. (deputy director for research programs)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology SEI APE
SPb MAPE, Saint Petersburg, Russia

© Yelinov N.P., 2010

The yeast-like microorganisms *Candida* genus are cosmopolites inhabiting mainly in connection with the organism of man - into digestive or/and respiratorius and urogenitalis tracts, at skin surface and its appendages (hairs and nails); we have the right to speak about some *C. species* as organisms – representatives in normobiota's composition at many people.

* Контактное лицо: Елинов Николай Петрович, тел.: (812) 303-51-40. Материалы лекции в сокращенном виде освещены в докладе автора на Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микологии (XIII Кашкинские чтения) 16.07.2010.

C. albicans, for example, is isolated more often in time of septicaemia and this species has placed at 8th place in Europe and 4th place – in USA between most ordinary pathogens. To the beginning of the current century it was shown that haploid genome of *Saccharomyces cerevisiae* includes 14 000 kb for 17 chromosomes in the cell of this species; it was carded 150 millions of nucleotide pairs in all 17 chromosomes. Strains SC 5314 and WO 1 *Candida albicans* contain 8 chromosomes; in the course of 10 last years carried out the sequencing of these strains. Genome sequences have been also determined in *Candida dubliniensis*, *C. glabrata* and oths. It is turn out well specifically to identificate the corresponding strains of *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei* by using of different in long internal transcribe spacers (ITS 1 and ITS 2).

Genomic group 20 of strain SC 5314 with 8 chromosomes has been characterized in 2006. Parasexual cycle (without meiosis) is under control of mating type locuses and switching between phenotypes MTLa and MTLb.

Key words: AIDS, *Candida* species, chromosomes, genome, genomic groups 19 and 20, candidosis, crossingover, malaria, *Mycobacterium tuberculosis*, normobiont, nucleotide succession, pathogens, strains SC 5314 and WO 1 *Candida albicans*, transcribe spacers, transcription.

Вопросы, рассматриваемые в лекции:

1. Положение, занимаемое патогенными и условно-патогенными *Candida* spp. среди представителей наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний в мире.
2. Таксономия – как субдисциплина систематики, её определение как науки; низшие и высшие таксоны.
3. Классификация *Candida* spp. в ряду от высшего таксона (Надцарства) – *Eucaryota* до низшего таксона (вида) – *species*.
4. Наиболее частые возбудители кандидоза в мире на начало XXI века.
5. Морфолого-физиологические признаки *Candida* spp.; диагностически значимые из них.
6. *Candida* spp. – как синантропы. Экология *Candida* spp., экологические характеристики.
7. Общее число видов *Candida*, описанных в научной литературе, и какие виды относят к разряду патогенов.
8. Характеристики видов, с помощью которых описывают таксон рода *Candida*.
9. Различные формы геномного проявления клонок в их «микросоциумах» объединены под названием *Candida Genome Database*; равнозначно ли оно другому названию «Характеристики по геномным датабазам»?
10. Проявления вариабельности генома *Candida albicans*.
11. Сиквенирование генома *Candida albicans*, начатое в 1996 г., было завершено к 2006 г. вычленением диплоидной группы 19, упрочившей гаплоидную версию генома вместе с данными об аллельных регионах в геноме.
12. Содержание 17 хромосом в клетке *Saccharomyces cerevisiae* и 8 хромосом в клетке *Candida albicans* генерируют генетические разнообразия реципрокных (обоядных) транслокаций, хромосомных делеций и других проявлений.
13. У глубоко изученных штаммов *Candida albicans* SC 5314 и WO 1 разные фазы конвертируют

спонтанно одна в другую (-ие) с низкой частотой. Первый из них образует порядка 7 морфологически различных колоний.

14. Ключевой регулятор морфогенеза в клетках *Candida albicans* штамм WO 1?

15. Синтез и освобождение дрожжевыми клетками экзоферомонов, связывающихся с G-протеином и запускающих ответ спаривания клеток противоположного типа с формированием проекции ШМУУ (SHMOO).

16. Характеристика ШМУУ.

17. Доказательство наличия парасексуального цикла у *Candida albicans* (без мейоза).

18. Геном *Candida albicans* SC 5314 и его характеристика по числу хромосом, размеру гаплоидного генома и числу кодонов.

19. Диморфизм *Candida* spp. в представлении «миколога-морфолога» и в представлении «миколога-генетика» (на примере штамма WO 1 *Candida albicans*).

20. Гены резистентности штаммов *Candida albicans* (CDR 1 и CDR 2 – *Candida* Drug Resistance к азоловым препаратам; ген множественной лекарственной резистентности – MDR 1 и гены биосинтеза эргостерола – ERG 3 и ERG 1).

21. Транспортная система у *Candida albicans*, переносящая специфические мРНК к дочерним почкующимся клеткам гифов или псевдогифов.

В соответствии с реализацией объединенных программ ООН ВИЧ/СПИД (UNAIDS и NIH) представлена всемирная статистика по трем так называемым «киллерным» заболеваниям:

- более 40 млн. людей являются ВИЧ-инфицированными;
- туберкулез: более 2 млрд. индивидуумов заражены *Mycobacterium tuberculosis*;
- малярия: свыше 300 млн. лиц инфицируются малярийными плазмодиями.

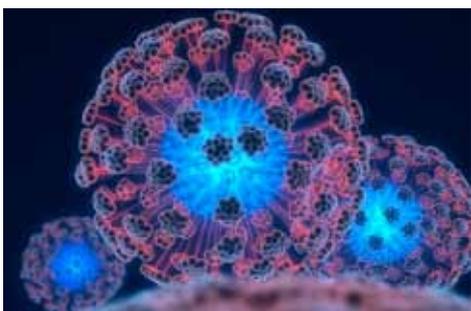


Рис.1. Организованные вирусные частицы ВИЧ (схема)



Рис.2. *Mycobacterium tuberculosis*, x 10 000



Рис.3. Плазмодии малярии, x 1000

Какую позицию занимают ныне патогенные и условно-патогенные *Candida* spp.?

В настоящее время *Candida* spp. занимает 4-е место среди наиболее обычных патогенов, обуславливающих септицемию в США, и 8-е место – в Европе.

Отмечаемая смертность от *Candida*-инфекций достигает 38%, а необработанные средние темпы смертности превысили 50%.

В группу пациентов с высоким риском развития септицемию относят:

- онкологических больных с нейтропенией;
- реципиентов трансплантатов костного мозга и других органов;
- СПИД-пациентов;
- диабетиков;
- пациентов, получающих широкоспектральные антибиотики или парентеральное питание.

Таксономия – составная часть, или субдисциплина систематики, представляет собой науку о классификации грибов, содержание которой сводится к установлению соподчинённости отдельных групп грибов в ряду:

Вид → Род → Семейство и т.д., каждый из которых именуют таксоном. Различают низшие и высшие таксоны.

Род *Candida* относят к:

Домену (Надцарству- Supraregnum) – *Eukaryota*,

Царству (Regnum) – *Fungi*,

Отделу (Division, Fylum) – *Ascomycota*,

Подотделу (Sub-Division, Sub-Fylum) – *Ascomycotina*,

Классу (Classis) – *Saccharomycetes*,

Подклассу (Subclassis) – *Ascomycetidae*,

Порядку (Ordo) – *Saccharomycetales*,

Семейству (Family) – *Saccharomycetaceae*,

Роду (Genus) – *Candida*,

Виду (Species) – *albicans*, и многие другие.

В различных странах мира возбудителями кандидоза сравнительно чаще называют 19-20 нижеследующих видов *Candida* (анаморфы):

africana, *albicans*, *albicans* var. *stellatoidea*, *catenulate*, *ciferrii*, *dublinskiensis*, *famata* var. *famata*, *famata* var. *flareri*, *glabrata*, *guilliermondii*, *kefyr*, *krusei*, *lipolytica*, *lusitaniae*, *norvegensis*, *parapsilosis*, *pelliculosa*, *tropicalis*, *viswanathii*, *zeylanoides*.

Частота выделения тех или иных видов зависит от региона и эпидемиологических ситуаций (сравнить *C. albicans* и *C. africana*). Обычно виды *Candida* – космополиты.

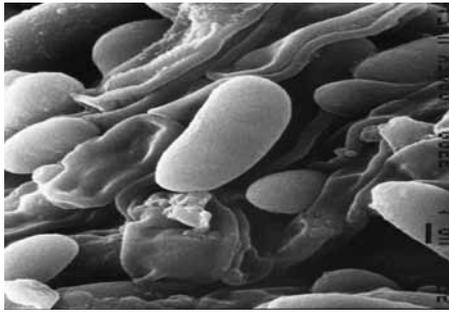


Рис.4. *C. krusei*, x 10000

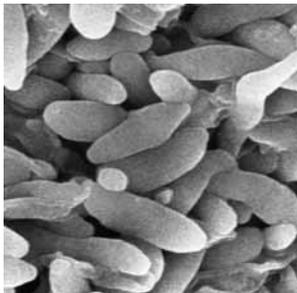


Рис.5. *C. parapsilosis*, x 10000

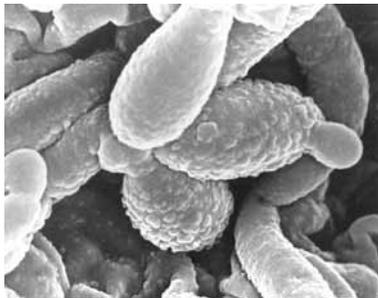


Рис.6. *C. lipolytica*, x 9000

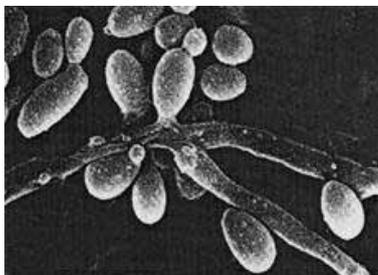


Рис.7. *C. africana*, x 9000

Привожу пример с кандидемией, сообщённый Дэвидом Эллисом из Аделаиды (Австралия), выявленной в 2002–2004 гг. у 944 пациентов (табл. 1).

Таблица 1.

***Candida* species у пациентов с кандидемией в 2002–2004 гг. в Австралии**

<i>Candida</i> :	Число пациентов	%	<i>Candida</i> :	Число пациентов	%
<i>albicans</i>	447	47,3	<i>tropicalis</i>	46	4,9
<i>parapsilosis</i>	182	19,3	<i>dubliniensis</i>	22	2,3
<i>glabrata</i>	167	17,8	<i>guilliemondii</i>	11	1,2
<i>krusei</i>	46	4,9	другие виды	23	2,3

Из других видов названы:

C. lusitanae – 8 случаев (0,8%), *C. kefir* – 5 случаев (0,5%), *C. pelliculosa* – 3 случая (0,3%), *C. rugosa* –

2 случая (0,2%), *C. colliculosa*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. fabianii* – по 1 случаю (по 0,1 % или всего 0,5 %).

Общее число известных видов сравнительно быстро нарастает в последние годы. Если, например, в 1989 г. в определителе дрожжевых организмов Куртцмана К.П. и Фелла Дж.У. описано 163 вида *Candida*, то к 2010 г. данный род возрос до 743 видов (Index Fungorum).

В сравимой мере возрастает и число синонимов. Однако в 1954 г. Конант Н.Ф. и его коллеги отметили, что для *C. albicans* описано 190 синонимов и, очевидно, к сожалению, и ныне насчитывают столько же синонимов, хотя отдельные из них описаны, например, в 1960, 1962, 1970 гг. Очевидно, следует исключать из списка синонимов давно устаревшие и не упоминаемые ни в никакой связи названия (эта задача полезна для решения номенклатурному Комитету по грибам).

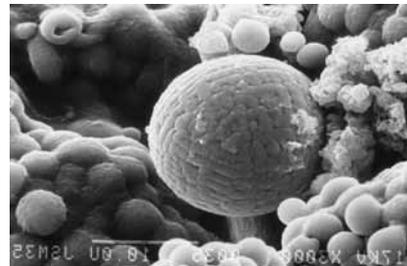


Рис. 8. Хламидоспора *C. albicans* (сканирующая электронная микрофотография, x 12 000)

Родовые характеристики *Candida* species:

- форма клеток – дрожжеподобная (округлые до удлинённых дрожжевых) или бластоспоры, воспроизводящиеся мультilaterальным почкованием;
- белая пигментация колоний на агаризованных питательных средах типа агара Сабуро, сусло-агара и некоторых других;



Рис. 9. *C. albicans* (ashi.myweb.uga.edu/index.html), x 500



Рис. 10. Колонии *C. albicans* на агаре Сабуро [The Common Candida Yeast Infection (www.ourhealth.com.au)], уменьшено в 2 раза



Рис.11. Морфология клеточных структур у *Candida* sp., x 400

- наличие псевдомицелия (штаммы утилизируют инозитол!); исключение – *C.glabrata*;
- исключительная особенность образовывать терминальные хламидоспоры присуща *C. albicans* и *C. dubliniensis*;

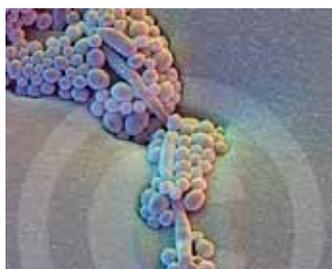


Рис.12. Бластоспоры и псевдомицелий *Candida* sp. (www.scharfphoto.com), x 400

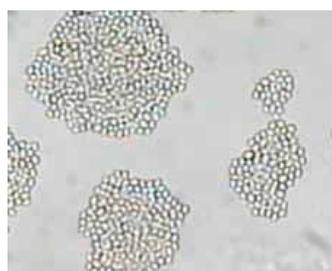


Рис.13. *C.glabrata* в колониях на агаре Сабуро, x200



Рис.14. Хламидоспоры терминальные *C.albicans*, x 400 (Corn.Meal.agar, MMRC, UTMB)



Рис.15. Хламидоспоры терминальные у *C. dubliniensis*, x 500

- патогенные (условно-патогенные) *Candida* spp., особенно *C. albicans*, являются синантропами в процессе эволюции жизни (!?) на планете Земля.

При нормальных обстоятельствах *C. albicans* обитает у 80% людей в мире без каких-либо тревожных эффектов, однако заметное приумножение популяции данного вида может оказаться началом **кандидоза**;



Рис.16. Кандидоз на языке и губах у детей

- не образуют артроспор, баллистоспор и другой (кроме белой) пигментации колоний на агаризованных питательных средах;
- могут/не могут ферментировать сахара, ассимилировать/не ассимилировать нитраты, инозитол.

К началу XXI века существенно «расширены границы» нашего познания молекулярных и биологических особенностей дрожжевых организмов. Так, установлено, что гаплоидный геном *Saccharomyces cerevisiae* состоит из 14000 кв (килооснований) ДНК, приходящихся на 17 хромосом в клетке данного вида. В 1996 г. была определена нуклеотидная последовательность во всех 17 хромосомах и картировано 150 млн. пар нуклеотидов.

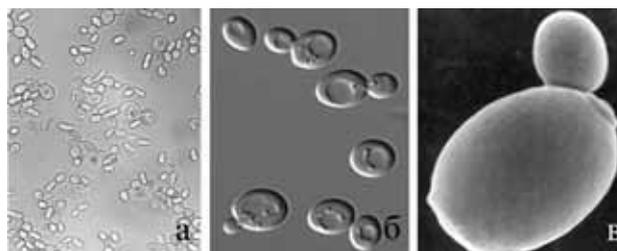


Рис.17. Клетки *S. cerevisiae*: (а) в световом микроскопе – препарат «раздавленная капля», x 100; (б) – то же при окраске по Намарскому, x 400; (в) клетка в сканирующем электронном микроскопе с созревающей почкой и следами двух почечных рубцов по полюсам, x10000

В последние 10–15 лет получены важные данные по генетике ряда представителей рассматриваемого рода.

C. albicans содержит 8 хромосом, способных к переустройству как средству, генерирующему генетическое разнообразие, реципрокных транслокаций, хромосомных делеций, а также трисомии индивидуальных хромосом. Прежде всего, эти данные получе-

ны на штаммах *C. albicans* SC 5314, сиквенированном в Стэнфордском Центре ДНК-сиквенирования и технологии, и WO 1, сиквенированном коллективом сотрудников Broad Institute of MIT& Harvard.

Кульминацией 10-летней напряженной работы коллектива Стэнфордского Центра ДНК-сиквенирования и технологии (США) по установлению диплоидности *C. albicans* стало поворотным пунктом в истории исследований *Candida* spp. (Джонс Т. И др. Последовательность диплоидного генома *C. albicans*. Proc.Nat.Acad.Sci. USA, 2004, 101: 7329-7334).

О начале сиквенирования генома *C. albicans* было объявлено в октябре 1996 г. За последующие 10 лет кульминационным стало выделение диплоидной группы 19, которая упрочила гаплоидную версию генома вместе с данными об аллельных регионах в геноме (dEnfert C., Hube B. Eds. 2007. *Candida: Comparative and Functional Genomics*. Caister Academic Press. ISBN 9781904455134).

Пригодность геномного сиквенса проложила путь для применения инструментального подхода к постгеномному изучению *C. albicans*: были развиты и использованы макроструктуры, а затем и микроструктуры для изучения транскриптома *C. albicans* вместе с транскрипционным анализом; более того, систематические подходы стали пригодными для изучения вклада каждого гена в различные проявления вида.

Геномные сиквенсы были также определены у *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*.

Геномные сиквенсы неболезнетворных гемиаскомицетов обеспечат «богатство» знаний об эволюционных(?) процессах, которые сформировали гемиаскомицетную группу, включая и *Candida* spp., ставшие патогенными.

ПЦР с применением видоспецифических праймеров из грибов, «нацеленные» на консервативные последовательности в составе 5.8S и 28S рДНК, а также в составе 18S и 28S рДНК, сопровождается соответствующей амплификацией видоспецифического внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) 2(ITS2) региона, а также ITS1 и ITS2 регионов, которые варьируют по длине ампликона.

Используя различные по длине ITS1 и ITS2 регионы, например, для *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei*, а также электрофорез в агарозном геле и электрофорез на микрочипах, удастся достичь специфической идентификации штаммов грибов.

Таблица 2

Результаты определения нуклеотидных пар в ПЦР фрагментах ДНК у *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei* (Fujita S-I., et al., 2001)

<i>Candida</i> (число штаммов)	ПН (значения ± стандартное отклонение) по данным гель-электрофореза в агарозе (ГЭА) и на микрочипах (МЧ)	
	ГЭА	МЧ
<i>C. albicans</i> (36)	337±2,77 и 533±2,73	338±3,04 и 531±3,09
<i>C. glabrata</i> (7)	333±2,96 и 499±3,01	335±3,02 и 499±3,12
<i>C. krusei</i> (11)	414±2,54 и 874±3,36	416±1,97 и 873±4,61



Рис. 18. Гигантская колония *C. albicans* (РКПГ-401) на агаре Сабуро (натуральная величина)



Рис. 19. Гигантская колония *C. glabrata* (РКПГ-1188/1062) на агаре Сабуро (натуральная величина)



Рис. 20. Гигантская колония *C. krusei* (РКПГ-1057) на агаре Сабуро (натуральная величина)

Характеристика генома *C. albicans*, штамм SC 5314:

- число хромосом = 8 : 1-7 и R; они представляют гаплоидный геном размером 14851 кв (килобаз) с 6419 ОРС (открытых рамок считывания);
- число кодонов – более 100, из которых около 20% не имеют аналогов в известных других геномных последовательностях.

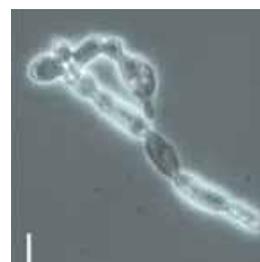


Рис. 21. *C. albicans* штамм SC 5314, x 400

Очищенная геномная группа 20 с 8 хромосомами *C. albicans* была очерчена летом 2006 г. Реальность данных по сиквенированию раньше завершения геномного сиквенса помогла начать раньше и постгеномное изучение *C. albicans*.

Полученные характеристики по геномным базам оказались пригодными для исследования сообщества клеток, обеспечивающего различные формы геномного проявления. Они были объедине-

ны под названием *Candida Genome Database* (<http://www.candidagenome.org>).

Геном *C. albicans* высоко динамичен, и его варибельность была выгодно использована для молекулярно-эпидемиологических исследований *C. albicans* и изучения популяций этого вида.

Важным открытием, вытекающим из геномной последовательности, стала идентификация наличия парасексуального цикла у *C. albicans* (без мейоза) (Butler G. et al.; June 4 2009. «Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes». *Nature* 459 (7247): 657-662).

Парасексуальный цикл у *C. albicans* находится под контролем локусов типов спаривания и переключения между белым блестящим и тусклым фенотипами *MTLa* и *MTL α* .

В исследовании роли процесса спаривания играет роль динамика популяции *C. albicans*, равно, как и в других аспектах биологии вида, а её патогенность будет, несомненно, важной для предстоящих исследований.

У *C. albicans* *MTLa*-локус экспрессирует *MTLa2*, который управляет функцией спаривания, а *MTL α* -локус экспрессирует *MTLa1*, контролирующей функции α -спаривания. При этом *a/a* клетка освобождает α -феромон, формирующий градиент в направлении *a/a* клетки, которая, в свою очередь, тоже освобождает α -феромон, формирующий градиент в направлении *a/a* клетки.

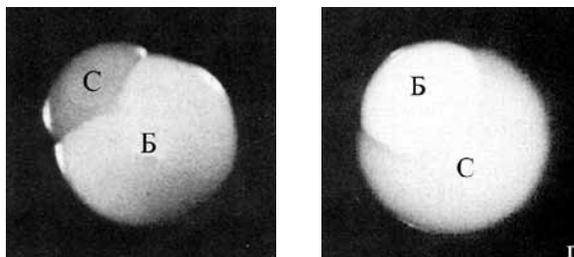


Рис. 22. Переход из «белого» в «серый» тип культур штамма WO-1 у *C. albicans*; натуральная величина (Slutsky B., Staebell M., Anderson J. et al., 1987)

Клетки *C. albicans* штамма SC5314 освобождают феромоны, присоединяющиеся к гетеротримерному гуанозинтрифосфату (GTP-связывающий белок (G-протеин) – объединенные рецепторы, или GPCR), запускающие ответ спаривания, в котором клетки противоположного типа спаривания приобретают проекцию, названную *shmoo*. *Shmoo* – это вымышленное Al Capp'ом (1909-1979 гг.) существо, впервые появившееся в комической ленте «Li'l Abner» 31 августа 1948 г. и быстро ставшее послевоенным национальным увлечением в США.

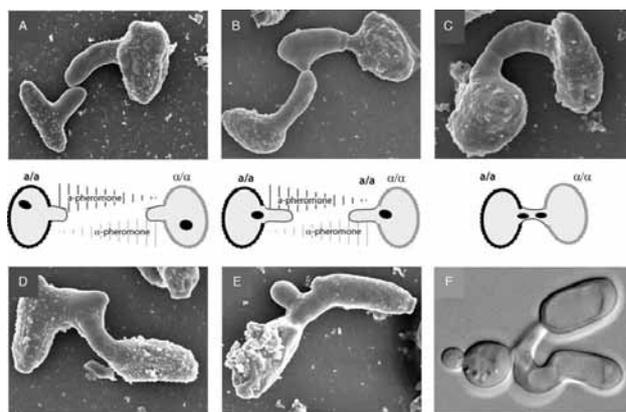


Рис. 23. Биология спаривания клеток *C. albicans* по Соллу (Soll D.R., 2007)

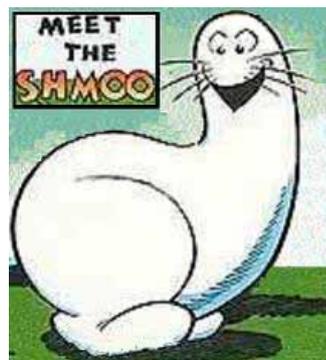


Рис. 24. *Shmoo*

Парасексуальный цикл у *C. albicans* находится под контролем вышеназванных локусов типов спаривания, переключающих фенотипы «белый блестящий» ↔ «тусклый». Классически в этом проявляет себя штамм WO-1 *C. albicans*, состоящий из двух фаз (диморфизм). Одна из них представлена округлыми белыми клетками, формирующими на агаризованной среде белые гладкие блестящие колонии; другая, представленная овально-удлиненными клетками, растет в форме плоских тусклых колоний.

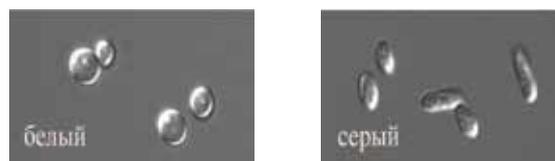


Рис. 25. Диморфизм клеток *C. albicans* WO 1 «белый блестящий» ↔ «тусклый серый», x 400

Процесс идентификации генов *C. albicans* затронул и гены резистентности штаммов данного вида к азоловым препаратам (CDR1 и CDR2 – *Candida Drug Resistance*, ген множественной лекарственной резистентности = MDR1 и гены биосинтеза эргостерола, входящего в структуру клеточной мембраны ERG3 и ERG1).

У резистентных клинических изолятов перекрестная устойчивость к азоловым препаратам вызывается преимущественно сверхэкспрессией ABC-транспортных генов (ATF-Binding Cassette, или АТФ – связывающие кассетные транспортеры) CgDR1 и CgDR2 (*Candida glabrata Drug Resistance*).

У *C. albicans* обнаружена транспортная система, переносящая специфические мРНК к дочерним почкующимся дрожжевым клеткам и верхушечным клеткам гиф (или псевдогиф). Когда этот транспорт мРНК инактивируется при удалении так называемого адаптера She3 (компонента транспортной си-

стемы), гифы становятся специфически дефектными – возникает нетипичный рост, и у них снижается способность повреждать монослой эпителиальных клеток (очевидно, за счет снижения продукции фосфолипазы В или ее активности).

ССЫЛКИ НА ИСТОЧНИКИ ИСПОЛЬЗУЕМОЙ НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

приведены в тексте; из дополнительной литературы по затронутой теме автором рекомендуются также следующие источники:

1. Jones N., Federspiel N.A., Chibana H. et al. The diploid genome sequence of *Candida albicans*// Proc. of the Nat. Acad. of Science of USA. – 2004. – Vol. 101, №19. – P.7329-34.
2. Braun B.R., van Het Hoog M., dEnfert C et al. A human-curated annotation of the *Candida albicans* genome // PLoSgenetics. – 2005. – Vol.1, №1. – P. 36-57.
3. *Candida* Database ([http://www.broad.mit.edu/annotation/Candida__albicans/Mul tiHome.html](http://www.broad.mit.edu/annotation/Candida__albicans/Mul%20tiHome.html)) Broad Institute. 2008-10-29.
4. Brown G.D. and Netea M.G., et al. Immunology and Fungal Infections. Lilic Desa and Ken Hagnes. Chapter 16. *Candida*. – Springer. – 2007. – P. 361-382.
5. Moran G., Stoxa S., Hab V, et al. Comparative Genomic using DNA *Candida albicans* microchips// Microbiology. – 2004. – Pt. 10. – P.3363-82.
6. Butler G., et al. Evolution Pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes// Nature. – 2009. – Vol.459, № 7247. – P.657-662.
7. dEnfert C., Hube B., et al. Comparative and Functional Genomics. Caister Academic Press. ISBN 9781904455134, 2007.
8. *Candida albicans* – Wikipedia, the free encyclopedia (April 25, 2010).
9. Soll D.R. Mating in *Candida albicans* and Related Species. Diology of the Fungal cell, 2d ed. The MYCOTA VIII. R.J. Howrd and N.A.R. Gow (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007. – P. 195-217.
10. Елинов Н.П. Новое в таксономии *Candida* species//Ж. Проблемы медицинской микологии.- 2010. – Т.12, № 2. – С. 84-85.
11. Slutsky B., Staebell M., Anderson J. et al. White-Opaque Transition: a second High-Frequency Switching System in *Candida albicans*// J. Bacteriol. –1987. – Vol.169, № 1. – P. 189-199.
12. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика. Под ред.проф. Н.П. Елинова. - СПб., 2010.
13. Sonneborn A., Tebarth B., Ernst J. Control white-opaque phenotypic switching in *Candida albicans* by the Efg 1p morphogenetic regulator// Infect. Immunol. –1999. – Vol.67, №9. – P. 4655-4660.
14. Siekhaus D.E., Drubin D.G. Spontaneous receptor-independed heterotrimeric G-protein Signalling in an RGS mutant// Nature Cell. Biol. – 2003. – Vol.5. – P.231-235.

Поступила в редакцию журнала 03.08.2010

Рецензент: Игнатьева С.М.



ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *CANDIDA* *ALBICANS*

**Караев З.О. (зав.кафедрой)*,
Мамедова Л.Р. (аспирант)**

Кафедра микробиологии и иммунологии
Азербайджанского Медицинского Университета,
Баку, Азербайджан

© Караев З.О., Мамедова Л.Р., 2010

*Нозокомиальные Candida-инфекции часто связаны с применением лекарственных препаратов, ослабляющих противомикробную защиту организма: массивных доз противобактериальных антибиотиков широкого спектра действия, глюкокортикоидов, эстрогенов, а также с широким использованием венозных и уринарных катетеров и дренажных трубок. Развитие катетер-ассоциированных инфекций во многом обусловлено формированием на материале катетеров биопленок микроорганизмов. В работе мы исследовали влияние вибрамицина, кортизона и эстрадиола дипропионата на формирование биопленок культурами *Candida albicans*, выделенными из мочи больных кандидозом мочевыводящих путей. Показано, что эстрадиол значительно стимулировал образование *Candida*-биопленок на материале катетера, под действием вибрамицина проявлялась тенденция к снижению формирования биопленок, кортизон не оказывал значимого влияния на этот процесс.*

Ключевые слова: биопленка, *Candida* spp., катетер, лекарственные препараты, нозокомиальный кандидоз

INFLUENCE OF SOME DRUGS IN FORMATION OF *CANDIDA ALBICANS* BIOFILMS

**Karaev Z.O. (head of the chair),
Mamedova L.R. (postgraduate student)**

Azerbaijan Medical University, Department of
Microbiology and Immunology, Baku, Azerbaijan

© Karaev Z.O., Mamedova L.R., 2010

*Nosocomial Candida-infections frequently associated with prolonged using of drugs which decrease defense factors of organism (antibiotics of broad specter effects, glucocorticosteroids, estrogens), using of venous urinary catheters and drainage tubes. The development of catheter-associated infections mostly are caused by formation biofilm of microorganisms on catheter materials. In this study we investigated the influence of vibromycin, cortizon and estradiol dipropionate on formation biofilm by *C. albicans*, isolated from urine of patients with candidosis of urinary tract. It was established, that estradiol significantly stimulate the formation of *Candida*-biofilm on urinary catheter, vibromycin decreased the tendency of biofilm development, and cortison did not any effect at this process.*

Key words: biofilm, *Candida* spp., catheter, drug preparations, nosocomial candidosis

* Контактное лицо: Караев Закир Омарович
Тел.: (0099 412) 495-49-78

Нозокомиальные инфекции являются одной из серьезных проблем современной медицины. Ежегодно только в США регистрируют примерно 2 млн. случаев нозокомиальных инфекций, которые в 88 тысячах случаев заканчиваются летально [1]. Частота нозокомиальных инфекции кровотока (в основном, катетер-ассоциированных инфекций, бактериемий и сепсиса) за 1980–1992 гг. возросла с 6,7 до 18,4, а смертность – с 3,55 до 6,22 на 1000 госпитализированных лиц [2].

Возникновение нозокомиальных инфекций, как правило, является следствием ятрогении и обычно связано с применением лекарственных препаратов, угнетающих противомикробную защиту организма, и с повсеместно применяемыми инвазивными вмешательствами: катетеризацией периферических и центральных венозных доступов, длительной катетеризацией мочевого пузыря и пр. Отделения реанимации и интенсивной терапии являются особыми в аспекте частоты катетеризации одной, двух и более вен или артерий, при этом каждое вмешательство повышает риск возникновения ангиогенного сепсиса на 5–10 %, а в случаях тяжелого полиорганного поражения – более чем на 15–20% [3,4]. Длительное использование мочевых катетеров в 100% случаев приводит к инфицированию мочевыводящих путей.

Развитие катетер-ассоциированных инфекций обусловлено формированием на материале катетеров биопленок микроорганизмов. При длительном использовании мочевых катетеров микробные биопленки выявляют в 100% случаев [5, 6], при этом особенно часто (72%) в биопленках встречаются грибы рода *Candida* [5].

К важнейшим факторам, способствующим развитию кандидоза, относят применение массивных доз противобактериальных антибиотиков широкого спектра действия, глюкокортикоидных препаратов, эстрогенов [7], что, в первую очередь, связано с их способностью угнетать иммунные и неспецифические факторы резистентности организма. В то же время, остается почти неизученным вопрос о влиянии этих препаратов на формирование *Candida*-биопленок. Цель работы – определение влияния лекарственных препаратов на развитие биопленок *C. albicans* на материале катетера in vitro.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали 46 штаммов культур *C. albicans*, выделенных из мочи больных кандидозом мочевыводящих путей. Изучали действие антибиотика тетрациклинового ряда вибрамицина (2 мг/мл), кортизона ацетата (1 мг/мл), эстрадиола дипропионата (0,02 мг/мл) на накопление биомассы и метаболизм биопленок гриба *C. albicans*. Формирование биопленок проводили на среде YNB на диске диаметром 0,5 см из поливинилхлоридного материала катетера описанным ранее методом [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении показателей формирования биопленок в присутствии вибрамицина отмечали явную тенденцию к снижению сухой массы биопленок и их метаболизма под действием антибиотика (табл.1). На этапе адгезии он не оказывал существенного влияния на формирование биопленок, поскольку через 1,5 часа от начала эксперимента не обнаруживали существенных различий между опытными и контрольными пробами ни в сухом весе биопленок, ни в активности их метаболизма.

Таблица 1

Влияние лекарственных препаратов на сухой вес биопленок *C. albicans*

Препарат	Сухой вес (мг)				
	1,5	12	24	36	48
Контроль	0,16±0,015	0,48±0,047	1,01±0,098	1,61±0,163	1,71±0,170
Вибрамицин	0,15±0,017	0,39±0,039	0,86±0,091	1,39±0,142	1,61±0,167
Кортизон ацетат	0,15±0,017	0,45±0,049	0,95±0,085	1,58±0,137	1,67±0,143
Эстрадиол дипропионат	0,23±0,019*	0,67±0,047*	1,35±0,076*	1,82±0,057*	2,26±0,099*

Примечание: * - достоверность различий между соответствующими показателями опытных и контрольных проб $P < 0,05$.

Напротив, через 12 часов и в дальнейшем сухой вес и метаболизм биопленок снижались в присутствии вибрамицина. Если сухой вес биопленок в контрольных пробах через 12 часов наблюдения составлял 0,48±0,047 мг, то при добавлении терапевтических концентраций вибрамицина он равнялся 0,39±0,039 мг. Через 48 часов от начала формирования биопленок значения сухой биомассы биопленок в контроле составляли 1,71±0,170 мг, в опытных образцах с вибрамицином, в среднем, 1,61±0,167 мг.

Активность метаболизма биопленок в присутствии вибрамицина имела те же тенденции (табл. 2).

Таблица 2

Влияние лекарственных препаратов на метаболическую активность биопленок *C. albicans*

Препарат	Метаболическая активность (ед. ОП)				
	1,5	12	24	36	48
Контроль	0,07±0,007	0,34±0,035	0,52±0,053	0,65±0,067	0,70±0,074
Вибрамицин	0,07±0,009	0,29±0,034	0,42±0,051	0,53±0,065	0,61±0,069
Кортизон	0,06±0,008	0,29±0,035	0,46±0,058	0,62±0,063	0,67±0,070
Эстрадиол дипропионат	0,12±0,010*	0,57±0,041*	0,74±0,057*	0,89±0,053*	0,95±0,054*

Примечание: * - достоверность различий между соответствующими показателями опытных и контрольных проб $P < 0,05$.

Метаболизм биопленок в контрольных пробах через 12 часов наблюдения составлял 0,34±0,035 ед. ОП, при добавлении же вибрамицина он снижался до 0,29±0,034 ед. ОП. Спустя 24 и 48 часов от начала формирования биопленок, значение активности метаболизма биопленок в контроле составляло 0,52±0,053 ед. ОП и 0,70±0,074, в то время как в опытных образцах равнялось 0,42±0,051 ед. ОП и 0,61±0,069 ед. ОП соответственно. В то же время, до-

стоверных различий между опытными и контрольными пробами не выявляли во все сроки наблюдения. Полученные данные можно интерпретировать лишь как тенденцию к угнетению формирования биопленок *C. albicans* вибрамицином.

Таким образом, показано, что *in vitro* вибрамицин оказывал определенное угнетающее влияние на формирование биопленок *C. albicans*, однако различия между соответствующими показателями опыта и контроля были статистически не достоверны ($P > 0,05$).

Полученные нами данные, в целом, совпадают с результатами исследований, проведенными другими авторами при анализе влияния тетрациклина и доксициклина на формирование биопленок культурами *C. albicans*, выделенными от больных кандидозным вульвовагинитом. Авторы обнаружили, что в большинстве случаев терапевтические дозы этих препаратов угнетали формирование биопленок *C. albicans*, их метаболическую активность, а также гифообразование [9, 10]. По другим данным, напротив, тетрациклин стимулировал рост биопленок гриба *C. albicans*, однако в своих экспериментах авторы использовали дозы тетрациклина в 100–200 раз ниже терапевтических концентраций [11].

При исследовании нами действия кортизона на формирование биопленок *C. albicans* выявлено, что препарат в дозе 1 мг/мл не оказывал значимого влияния на образование биопленок грибом. Так, через 1,5 часа сухой вес биопленки в опытных образцах составил 0,15±0,017 мг, в питательной среде без кортизона – 0,16±0,015 мг. Метаболическая активность биопленок в этот период времени в опыте составляла 0,06±0,008 ед. ОП, в контроле – 0,07±0,007 ед. ОП. Через 48 часов наблюдения сухой вес и метаболизм опытных биопленок также незначительно отличались от контроля. Сухой вес биопленок в опытных образцах составлял 1,67±0,143 мг, в контрольных – 1,71±0,170 ед. ОП. Уровень метаболизма в этот период времени в присутствии кортизона составлял 0,67±0,070 ед. ОП против 0,70±0,074 ед. ОП в контрольных пробах.

Надо полагать, что исследованные нами культуры гриба не имели на клеточной поверхности рецепторов к кортизону. Повышение же риска развития кандидоза при лечении кортизоном связано преимущественно со снижением защитных функций организма, вызываемых этим препаратом, а также с увеличением резистентности гриба к антифунгальным препаратам, обусловленным глюкокортикоидными препаратами [7, 12].

В научной литературе имеются многочисленные сведения о высокой вероятности инфицирования мочевыводящих путей патогенами тканей промежности, в частности *Candida spp.*, у больных кандидозным вульвовагинитом, который, как известно, часто развивается на фоне эстрогении [13]. При изучении действия эстрогенов на планктонные клетки *C. albicans* получены достаточно противоречивые

результаты. Одни авторы придерживаются мнения, что эстрогены стимулируют рост гриба и образование псевдомицелия, другие – получили данные об отсутствии эффекта этих препаратов на данные микроорганизмы [13–15].

Мы изучили воздействие эстрадиола дипропионата на формирование биопленок *C. albicans*. При исследовании показано, что эстрадиол стимулировал образование биопленок гриба. Так, уже через 1,5 часа в присутствии эстрадиола масса биопленок составляла $0,23 \pm 0,019$ мг, в то время как в контрольных пробах – $0,16 \pm 0,015$ мг (табл. 1). Повышение сухого веса опытных биопленок, по сравнению с контролем, отмечали на всех этапах их формирования. К 48 часам наблюдения сухой вес опытных образцов превышал контрольные значения в 1,3 раза.

Уровень метаболической активности биопленок гриба также был значительно выше в образцах, сформированных в присутствии эстрадиола (табл. 2). Через 1,5 часа наблюдения он составлял $0,12 \pm 0,010$ ед. ОП против $0,07 \pm 0,007$ ед. ОП в контроле, через 24 часа – $0,74 \pm 0,057$ ед. ОП против $0,52 \pm 0,053$ ед. ОП контрольных значений, через 48 часов – $0,95 \pm 0,054$ ед. ОП, что также было значительно выше метаболизма биопленок, сформированных в отсутствие эстрадиола ($0,70 \pm 0,074$ ед. ОП).

В научной литературе имеются сведения, что

эстрогены стимулируют экспрессию селективных рецепторов флавопротеиновой природы на клеточной стенке *C. albicans* и что это может существенно влиять на общий рецепторный аппарат *Candida* (Skowronski R., et al., 1989; Madani N., et al., 1994).

Под действием 17- β -эстрадиола увеличивается рост *Candida*, вирулентность гриба, возрастает способность к образованию ростковых трубок, повышается его устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды, в том числе стимулируется полирезистентность к антимикотическим препаратам [14–16].

Ряд исследователей обращают внимание на прямую зависимость между высоким уровнем эстрогена и частотой возникновения *Candida*-инфекции. Одним из объяснений этого факта является избыточная продукция гликогена (нутриента для *Candida* spp.) эстрогенстимулированными эпителиальными клетками [17]. Все это, совместно со стимуляцией формирования биопленок *C. albicans*, может способствовать развитию кандидоза.

Таким образом, нами показано, что *in vitro* эстрадиол дипропионат значительно стимулировал образование *Candida*-биопленок на материале катетера, в то время как под действием вибрамицина имела место тенденция к снижению формирования биопленок. Кортизон не оказывал значимого влияния на этот процесс.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Notice to Readers: Fourth Decennial International Conference on Nosocomial and Healthcare-Associated Infections*// MMWR. – 2000. – Vol. 49, №07. – P.138.
2. Pfaller M.A., Rhine-Chalberg J., Barry A.L., Rex J.H. Strain variation and antifungal susceptibility among bloodstream isolates of *Candida* species from 21 different medical institutions// Clin. Infect. Dis. – 1995. – Vol. 21. – P. 1507-1509.
3. Елинов Н.П. *Candida* species и кандидемии. Состояние проблемы (Обзор)//Ж.Проблемы мед. микологии. – 2001. – Т. 3, №2. – С. 3-5.
4. Richards M.J., Edwards J.R., Culver D.H., Gaynes R.P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System// Crit. Care Med. – 1999. – Vol. 27. – P. 887-892.
5. Пинегина О.Н., Сатурнов А.В., Выборнова Г.Г., с соавт. Изучение видового состава микроорганизмов в биопленках на венозных и уретральных катетерах в отделениях реанимации и интенсивной терапии// Ж. Проблемы мед. микол. – 2009 – Т. 11, № 2. – С. 105.
6. Erbay H., Yalcin A.N., Serin S., et al. Nosocomial infections in intensive care unit in Turkish university hospital: a 2-year survey // Intensive Care Med. – 2003. – Vol. 29, №9. – P. 1482-1488.
7. Караев З.О., Лебедева Т.Н. Патогенез кандидоза и аллергии к грибам рода *Candida*. – Баку, 2007. – 215 с.
8. Chandra J., Kuhn D.M., Mukherjee P.K., et al. Biofilm Formation by the Fungal Pathogen *Candida albicans*: Development, Architecture, and Drug Resistance//Journal of Bacteriology, September. – 2001. - Vol. 183, No. 18. – P. 5385-5394.
9. Miceli M., Bernardo S., Lee S. In vitro analyses of the combination of high-dose doxycycline and antifungal agents against *Candida albicans* biofilms//International J. of Antimicrobial Agents. – 2009. – Vol. 34, Iss. 4. – P. 326-332.
10. Oliver B.G., Silver P.M., Marie C., et al. Tetracycline alters drug susceptibility in *Candida albicans* and other physiologic fungi// Microbiology. – 2008. – Vol. 154. – P. 960-970.
11. McCool L., Hanh M., Essmann M., Bryan L. Tetracycline effects on *Candida albicans* virulence factors// Infect. Dis. in Obstet. Gynecol. – 2008. – №4. – P. 121-124.
12. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз.– М.: Триада-Х, 2000. – 470 с.
13. Essmann M., Larsen B. Protective Effect of the Selective Estrogen Receptor Modulator //Gynec. Obstetr. Invest. – 2000. – Vol. 49, № 1. – P. 57-61.
14. Cheng G., Yeater K.M., Hoyer L.L. Cellular and Molecular Biology of *Candida albicans* Estrogen Response// Eukaryotic Cell. – 2006. – Vol. 5, № 1. – P. 180-191.
15. Essmann M., Larsen B. Protective Effect of the Selective Estrogen Receptor Modulator //Gynec. Obstetr. Invest. – 2000. – Vol. 49, № 1. – P. 57-61.
16. Lyte M., Freestone P.P., Neal C.P., et al. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes//Lancet. – 2003. – Vol. 46, № 10361. – P. 130-135.
17. Лыкова С.Г., Немчинова О.Б., Петренко О.С., Боровицкая О.Н. Поверхностный кандидоз в практике врача-дерматовенеролога. Часть II//Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – № 1. – С. 11-18.

Поступила в редакцию журнала 20.05.2010

Рецензент: Т.С.Богомолова

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

**Мамедова Л.Р.(аспирант)*, Караев З.О.
(зав. кафедрой)**

Кафедра микробиологии и иммунологии
Азербайджанского Медицинского Университета,
Баку, Азербайджан

© Мамедова Л.Р., Караев З.О., 2010

У больных нозокомиальными инфекциями мочевыделительной системы изучали спектр возбудителей инфекции и определяли характер Candida-бактериальных взаимосвязей в мочевыделительной системе. Показано, что чаще всего инфекции мочевыводящих путей вызывают представители бактериальной микрофлоры, при этом наиболее частыми этиологическими агентами являются Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis и Pseudomonas aeruginosa. Среди Candida spp. инфицирование мочевыводящих путей чаще обуславливается культурами C. albicans. В мочевыводящих путях имеют место антагонистические взаимоотношения между C. albicans и бактериями-ассоциантами.

Ключевые слова: антагонистические взаимоотношения, инфекции мочевыводящих путей, нозокомиальный кандидоз

ETIOLOGIC CHARACTER OF NOSOCOMIAL INFECTION OF URINARY TRACT

**Mamedova L.R. (postgraduate student),
Karaev Z.O. (head of the chair)**

Azerbaijan Medical University, Department of
Microbiology and Immunology, Baku, Azerbaijan

© Mamedova L.R., Karaev Z.O., 2010

In patients with nosocomial infections of urinary tract have been investigated spectrum of etiologic agents and defined peculiarities of Candida-bacterial interactions. It was shown, that urinary tract infections are caused by bacterial microbiota, herewith more often etiologic agents of this diseases were E. coli, S. epidermidis and P. aeruginosae. Also it was revealed, that among Candida spp., Candida albicans more frequently was the etiologic agent of urinary tract infection. There were established an antagonistic interaction between C. albicans and association of bacteria.

Key words: antagonistic interaction, infections of urinary tract, nosocomial candidosis

* Контактное лицо: Мамедова Лейла Рахимовна
Тел.: (0099 412) 495-49-78

Возникновение нозокомиальной инфекции, как правило, является следствием ятрогении и, часто, неадекватно применяемых противоэпидемических мероприятий. На современном этапе на первое место выходит проблема нозокомиальных инфекций, связанных с инвазивными технологиями, широко и рутинно применяющимися в современной медицине неотложных состояний, а также с широким применением лекарственных препаратов, снижающих противомикробную защиту организма.

Нозокомиальные (госпитальные) инфекции мочевыводящих путей (НИМП) развиваются спустя 48 часов (ВОЗ, 1979) после госпитализации пациентов и часто вызываются госпитальными штаммами микроорганизмов, для которых характерно наличие высокого уровня резистентности ко многим антимикробным препаратам. Все НИМП относят к осложненным инфекциям.

В течение последних 20 лет в ОРИТ существенно увеличилась частота инфекций, обусловленных грибами, и микозы прочно вошли в число нозокомиальных инфекций. Около 75–80% кандидемий являются нозокомиальными, причем более 50% из них возникают у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

Наиболее важной тенденцией следует признать возрастание значимости мочевыводящих путей и снижение роли других локусов в качестве первичного источника инфекций. Немаловажную роль при этом имеет инфицирование мочевыводящих путей грибами. Так, по данным NNIS, в течение 10 лет с 1980 по 1990 г. отмечали увеличение числа грибковых инфекций с 2,0 до 3,8 на 1000 поступлений. Частота нозокомиальных грибковых инфекций НИМП возросла с 9,0 до 20,5 на 10000 госпитализированных больных (Anaissie E., 1993). В последние годы частота грибковых инфекций мочевыводящих путей возросла с 2 до 17,3% [1].

Официальной статистики относительно структуры внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей в Азербайджане нет ввиду отсутствия органа по эпидемиологическому контролю нозокомиальных микозов. Вместе с тем, этиологические факторы НИМП в различных странах имеют свои особенности, что влияет на выбор антимикробных препаратов при необходимости их эмпирического подбора.

Летальность пациентов от инфекции, вызванной *Candida* spp., находится в пределах 25-60-88% [2]. Эти показатели существенно выше летальности, связанной с другими возбудителями [3]. Кандидозные нозокомиальные инфекции удлиняют сроки пребывания больных в клинических учреждениях, в среднем, на 30 суток и повышают стоимость их лечения. *Candida* spp. обладают тропизмом к почечной паренхиме, и при диссеминированном кандидозе у больных, находящихся в ОРИТ, поражение почек грибами достигает 80% [1-3].

Согласно данным клинических наблюдений, смешанные инфекции имеют особенно неблагоприятное

течение, склонны к хронизации процесса и труднее поддаются терапии по сравнению с моноинфекциями, вызванными теми же возбудителями.

Это связывают преимущественно с повышением резистентности микроорганизмов, существующих в ассоциациях, к антимикробным препаратам по сравнению с монокультурами [4]. Предполагают также симбиотические взаимосвязи между микробами-ассоциантами, что увеличивает их выживаемость в условиях макроорганизма. Однако данный вопрос остается весьма спорным. При их совместном культивировании *in vitro* получают неоднозначные и, даже, противоположные сведения относительно взаимоотношений бактерий-ассоциантов с грибами [5–7].

Известно, что условия существования микроорганизмов в отдельных экологических нишах организма не одинаковы, что оказывает существенное влияние на особенности микробиологического пейзажа и взаимоотношения между отдельными микроорганизмами. В связи с этим одним из наиболее достоверных показателей взаимоотношения микроорганизмов считают коэффициент Жаккарда, характеризующий соотношение числа выборок, содержащих оба вида микроорганизма, к частоте встречаемости монокультур и ассоциаций обоих исследуемых видов в соответствующей экологической нише. При величине этого показателя до 30% взаимоотношения между соответствующими микроорганизмами расценивают как антагонистические, при значении коэффициента Жаккарда от 30% до 70% – экологическая общность соответствующих микроорганизмов велика, и они способны в условиях соответствующего биотопа к сосуществованию как синергисты; при значимости данного коэффициента равном 70% и более возможно только совместное существование (мутуализм).

Цель исследований – определение этиологических факторов НИМП и установление характера взаимоотношений между отдельными представителями бактериальной микробиоты и *C. albicans* в мочевыделительной системе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 620 человек с НИМП. Диагноз ставили врачи-клиницисты на основании анамнестических, клинических, инструментальных и лабораторных данных.

Были проведены микробиологические и микологические исследования микроорганизмов, полученных из мочи пациентов, общепринятыми методами.

Выделенные культуры микроорганизмов определяли до вида. Изучение экологической значимости *Candida*-бактериальных ассоциаций в мочевыделительной системе проводили путем расчета коэффициента Жаккарда. Для этого использовали формулу:

$g = [c : (a + b + c)] \times 100$, где g – коэффициент Жаккарда, a – число проб, содержащих *C. albicans*; b – число выборок, содержащих соответствующий вид

бактериальной культуры, c – число выборок, содержащих оба вида микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего из мочи пациентов были выделены в 230 случаях *Candida* spp., в 538 – бактериальные культуры и в 60 – смешанная *Candida*-бактериальная микробиота.

Результаты исследования видового состава грибов представлены в табл. 1.

Таблица 1

Видовой состав *Candida* spp., выделенных из мочи пациентов с инфекциями мочевыделительных путей

Виды <i>Candida</i> spp.	Кол-во наблюдений (абс. /%)
a	b
<i>C. albicans</i>	147/74,6
<i>C. glabrata</i>	16/8,1
<i>C. parapsilosis</i>	14/7,1
<i>C. krusei</i>	9/4,5
<i>C. guilliermondii</i>	5/2,5
<i>C. kefyr</i>	3/1,7
<i>C. tropicalis</i>	3/1,7
<i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i>	7/3,9
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i>	3/1,7
<i>C. albicans</i> + <i>C. guilliermondii</i>	2/1,1
a	b
<i>C. glabrata</i> + <i>C. krusei</i>	2/1,1
<i>C. glabrata</i> + <i>C. kefyr</i>	1/0,6
<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> + <i>C. krusei</i>	1/0,6

Большинство изолятов культур грибов – 159 (69,1%) – принадлежали к виду *C. albicans*. При этом от 56 больных кандидозом мочевыделительной системы было выделено 46 штаммов *C. albicans* (82,1% случаев), что согласуется с данными других авторов, отмечавших при кандидозе мочевыводящих путей преобладание *C. albicans* над остальными грибами этого рода [1, 8].

Среди прочих видов: *C. glabrata*, выделенный в 16 случаях (8,1% от общего количества высеянных грибов), *C. parapsilosis* – в 14 (7,1%), *C. krusei* – в 9 (4,5%). Остальные виды *Candida* spp. (*C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*) встречались реже и составляли в общей сложности 5,5% от выделенных культур грибов.

У 16 (9,0%) пациентов имели место ассоциации из нескольких видов грибов рода *Candida*. У 7 больных (3,9% случаев) выявили ассоциации *C. albicans* + *C. krusei*, у 3 пациентов одновременно высевали *C. albicans* + *C. glabrata*, у 2 пациентов – ассоциации *C. albicans* + *C. guilliermondii*, у 2 пациентов – *C. glabrata* + *C. krusei*, сочетания других видов грибов отмечали менее чем в 1% случаев. Результаты анализа бактериальной микробиоты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Частота выделения бактериальных микроорганизмов и экологическая значимость *Candida*-бактериальных ассоциаций при инфекциях мочевыводящих путей

Микроорганизмы	Бактериальные инфекции (абс./%)	<i>Candida</i> -бактериальные инфекции (абс./%)	Коэффициент Жаккарда (%)
а	б	в	г
<i>Escherichia coli</i>	162/30,1	16/28,1	5,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	141/26,2	14/24,6	5,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59/11,1	7/12,3	3,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	54/10,2	4/7,0	2,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/6,5	5/8,8	3,2
<i>Proteus mirabilis</i>	28/5,2	3/5,2	2,0
<i>Streptococcus spp.</i>	15/2,8	2/3,5	1,5
<i>Klebsiella spp.</i>	14/2,6	2/3,5	1,5
<i>Enterococcus faecium</i>	8/1,5	1/1,8	0,8
Другие микроорганизмы	22/4,1	3/5,2	-

Выявили, что как при бактериальных, так и при смешанных *Candida*-бактериальных видах ИМП наиболее часто из мочи выделяли *E. coli*.

При бактериальных ИМП этот микроорганизм выделяли у 30,1% больных, при смешанных *Candida*-бактериальных ИМП – у 28,1%. Второе место по частоте инфицирования мочевыводительной системы занимал *S. epidermidis*. У больных с бактериальной ИМП он был выделен в 26,2% случаев, при *Candida*-

бактериальной – в 24,6%. *Pseudomonas aeruginosa* занимал третье место по частоте выделения и составлял 11,1% при бактериальных ИМП и 12,3% – при смешанных. Остальные бактериальные виды отмечали при бактериальном инфицировании в 1,5-10,2%, при смешанных – в 1,8-8,8% случаев.

На основании полученных данных, мы изучили экологическую общность отдельных видов бактерий с *C. albicans* в мочевыводящей системе (табл.2). Как видно из таблицы, при всех исследованных ассоциативных связях между грибом и различными видами бактериальных микроорганизмов коэффициент Жаккарда не превышал 5,4%, что свидетельствовало о том, что в мочевыводительных путях изученные бактериальные микроорганизмы находятся в антагонистических взаимоотношениях с *C. albicans*.

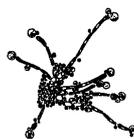
Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что наиболее часто этиологическим фактором НИМП являются представители бактериобиоты. Среди грибов рода *Candida* инфицирование мочевыводящих путей чаще всего обуславливается *C. albicans*. При смешанных *Candida*-бактериальных инфекциях мочевыводящей системы имеют место антагонистические взаимоотношения между *C. albicans* и бактериями-ассоциантами [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Климко Н.Н. Кандидурия и кандидоз мочевыводящих путей: врачебная тактика// Рациональная антимикробная терапия для практич. врача. – 2002. – Т.4, № 3. – С. 11-13.
2. Richardson M. Fungal Infections. – Blackwell Science, 2000. – 114 p.
3. Елинов Н.П. *Candida* species и кандидемии. Состояние проблемы (Обзор)//Ж.Проблемы мед. микологии. – 2001. – №2. – С. 3-5.
4. Venkatesh M.P., Pham D., Fein M., et al. Neonatal Coinfection Model of Coagulase-Negative Staphylococcus (*Staphylococcus epidermidis*) and *Candida albicans*: Fluconazole Prophylaxis Enhances Survival and Growth// Antimicrob Agents Chemother. – 2007. – Vol. 51, №4. – P. 1240-1245.
5. Хомич Ю.С., Бурмистрова А.А., Самышкина Н.Е. и др. Оценка характера взаимоотношений грибов рода *Candida* и некоторых микроорганизмов при совместном культивировании на поверхности плотной питательной среды // Успехи медицинской микологии. Материалы 4-го Всероссийского конгресса по медицинской микологии. – М., 2006. - Т.7. – С. 25-26.
6. Gupta N., Haque A., Mukhopadhyay G. Interactions Between Bacteria and *Candida* in the Burn Wound// Burns. – 2005. – Vol. 31. – P. 375-378.
7. Jabra-Rizk M.A., Meiller T.F., James C.E., et al. Effect of Farnesol on *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Antimicrobial Susceptibility // Antimicrob Agents and Chemother. – 2006. – Vol. 50, №4. – P. 1463-1467.
8. Kremery S., Dubrava M., Krcmery V. Jr. Fungal urinary tract infections in patients at risk// Int. J. Antimicrob. Agents. – 1999. – Vol. 46, № 10. – P. 289-291.

Поступила в редакцию журнала 20.05.2010

Рецензент: И.А. Босак



ИММУНО- МИКРОБИОЛОГИ- ЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *CANDIDA*- НОСИТЕЛЬСТВА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

**Ивахнюк Т.В. (ассистент кафедры)*,
Каплин Н.Н. (профессор кафедры)**

Сумской государственной университет Медицинский институт (кафедра инфекционных болезней), г. Сумы, Украина

© Ивахнюк Т.В., Каплин Н.Н., 2010

В статье проанализированы результаты микологического, бактериологического и иммунологического исследований новорожденных детей, естественно рожденных и путем кесарева сечения. Представлены адгезивные свойства выделенных чистых культур Candida spp. Выявили выраженное угнетение Т-клеточного звена иммунитета у новорожденных детей – Candida-носителей, рожденных путем кесарева сечения. Кроме того, у данной группы детей наблюдали сниженную в 1,2 раза продукцию INF-γ по сравнению с естественно рожденными детьми.

Ключевые слова: адгезивные свойства, *Candida*-носительство, нейтрофилы, новорожденные дети, Т-лимфоциты

IMMUNE- MICROBIOLOGICAL PECULIARITIES OF *CANDIDA*-CARRIER BETWEEN NEWBORN CHILDREN

Ivakhnyuk T.V. (lecture assistant), Kaplin N.N. (professor of the chair)

Sумы State University Medical institute (department of infection disease), Sумы, Ukraine

© Ivakhnyuk T.V., Kaplin N.N., 2010

Results of the mycological, bacteriological and immunological studies of newborns by cesarean section and natural way have been analysed. Presented adhesive properties of pure cultures of Candida spp. The marked inhibition of T-immunity in newborn children – Candida-carrier born by caesarean section has been revealed. In addition, this group of children found to decrease 1,2 times the concentration of INF-γ compared with children born naturally.

Key words: adhesive properties, *Candida*-carrier, neutrophiles, newborn children, T-lymphocytes

* Контактное лицо: Ивахнюк Татьяна Васильевна
Тел.: (0542) 66-17-62

В последнее время в педиатрической практике регистрируют интенсивное увеличение грибковых заболеваний, особенно – у новорожденных и детей раннего возраста. Частота кандидозов достигает 15% среди всех инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных. В большинстве случаев (90-95%) идет речь о кандидозе, обусловленном *Candida albicans* [1]. Отсутствие необходимой регистрации гнойно-воспалительных инфекций в родильных домах, недостаточные знания особенностей их этиологии и эпидемиологии исключают возможность оценить распространенность перинатальных инфекций и принять целенаправленные профилактические мероприятия.

Новорожденные дети чаще, чем дети старшего возраста, болеют инфекционными заболеваниями. Это связано, с одной стороны, с функциональной незрелостью иммунной системы [2], с другой стороны известно, что функционирование иммунной системы в перинатальный период и на первом году жизни зависит в значительной степени от состояния здоровья матери и особенностей течения беременности [3]. Среди факторов риска развития кандидоза у новорожденных детей главную роль играют иммунодефицитные состояния.

Высокая восприимчивость организма новорожденного ребенка к заболеваниям обусловлена совокупностью многих факторов: несовершенством регуляторных адаптационных механизмов, морфофункциональной незрелостью иммунной системы, широким распространением штаммов условно-патогенных микроорганизмов, в том числе *Candida* spp., имеющих высокую колонизационную способность [4].

На протяжении последних десятилетий значительное количество исследований было посвящено изучению механизмов приобретенного иммунного ответа [5]. Меньшее внимание уделяли изучению врожденного иммунитета, особенно, у новорожденных детей. Исследование механизмов врожденного иммунитета стало одним из главных приоритетов клинической иммунологии [6].

Известна роль фагоцитарной системы в резистентности организма к *Candida* spp. Считают, что нейтрофилы и макрофаги играют активную роль в обезвреживании клеток гриба за счет того, что обладают рядом фунгицидных свойств и способностью разрушать как бластоспоры, так и псевдомицелиальные элементы *Candida* spp. [7]. Кроме того, доказана роль Т-лимфоцитов: продуцируемый ими INF-γ активизирует антимикотическую активность фагоцитов [4].

Мы изучили видовой состав и биологические свойства возбудителей, а также особенности иммунологических и микробиологических сдвигов при *Candida*-носительстве у новорожденных детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 25 штаммов *Candida* spp., выделенных от 63 новорожденных детей, рожденных путем кесарева сечения (на 3-20 сутки). Эти штаммы мы отнесли к *Candida* spp. 1 группы.

Клинические штаммы *Candida* spp. 2 группы (n=25) были выделены от 85 доношенных новорожденных детей, рожденных естественным путем. При микробиологическом исследовании анализировали микробиоту кишечника и ротовой полости. Идентификацию выделенных культур бактерий и грибов проводили по общепринятым методикам [8]. Для сравнения адгезивных свойств штаммов 1 и 2 групп использовали 20 штаммов *Candida* spp., выделенных из объектов внешней среды.

Изучение адгезивных свойств *Candida* spp. 1 и 2 групп, выделенных от новорожденных детей, проводили с помощью методики А.Н. Маянского [9]; стафилококков – по методике В.И. Бриллиса и соавторов (1986).

Объектом нашего исследования служили нейтрофилы, которые были получены из периферической крови 15 клинически здоровых доноров в возрасте 20-22 лет. Нейтрофилы крови выделяли по общепринятой методике и культивировали в пластиковых пробирках при 37 °С в среде ДМЕМ с помощью ранее описанной методики [9].

Фунгицидные свойства нейтрофилов относительно выделенных штаммов *Candida* spp. изучали по активности (фагоцитарный индекс – ФИ) и интенсивности (фагоцитарное число – ФЧ) [10].

Степень адгезии штаммов *Candida* spp. изучали на фиксированных и окрашенных азур-эозином препаратах.

Для постановки данного опыта *in vitro* использовали *Candida* spp., которые получали в дрожжевой фазе на агаре Сабуро (24 часа, 37 °С). Смывы посевов дважды отмывали (1000 г, 15 мин.) десятикратным объемом забуференного (рН 7,2-7,4) физиологического раствора; клеточные агрегаты удаляли центрифугированием (40 г, 2 мин.) и ресуспендировали в забуференном физиологическом растворе в концентрации 10⁵ КОЕ/мл. Концентрацию *Candida* spp. определяли спектрофотометрическим методом.

Для определения показателей клеточного иммунитета проводили определение количества Т-лимфоцитов крови путем феномена спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Т-общие) и определение субпопуляций тефиллин-модулирующих (тефиллин-резистентные Т-хелперы / индукторы; тефиллин-чувствительные Т-супрессоры / цитотоксические) [10].

Производство INF-γ оценивали методом ИФА тест-системами «Вектор-Бест».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микотическом исследовании у новорожденных детей – *Candida*-носителей были выделены раз-

личные виды *Candida* spp. (n=50). Из 25 штаммов *Candida* spp., выделенных от детей, рожденных путем кесарева сечения, идентифицированы: *C. albicans* (n=7), *C. tropicalis* (n=5), *C. kefyr* (n=8), *C. krusei* (n=3), *C. parapsilosis* (n=2).

Клинические штаммы *Candida* spp. 2 группы (n=25) изолированные от доношенных детей, рожденных естественным способом, определены: *C. albicans* (n=6), *C. tropicalis* (n=5), *C. kefyr* (n=8), *C. krusei* (n=3), *C. parapsilosis* (n=3). Кроме того, из различного материала от новорожденных детей выявляли другую сопутствующую условно-патогенную бактериобиоту (табл. 1).

Таблица 1

Грамположительная сопутствующая бактериобиота при *Candida*-носительстве у новорожденных детей

Вид возбудителя	Частота встречаемости		Количество бактерий в единице объема
	Количество штаммов	%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	87,5	10 ³ КОЕ/г
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	25,0	10 ² КОЕ/мл
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	5,0	10 ² КОЕ/мл

Как видно из таблицы 1, видовой состав грамположительных бактерий, которые могут стать причиной гнойно-воспалительных заболеваний у новорожденных детей, был менее разнообразным, по сравнению со спектром грамотрицательных бактерий из содержимого толстой кишки. Из 57 штаммов грамположительных кокков наибольший удельный вес приходился на *Staphylococcus aureus*. На втором месте по частоте распространения был *S. epidermidis*, изолированный от новорожденных детей – *Candida*-носителей в 25% случаев, что в 3,5 раза меньше по сравнению с аналогичным показателем для золотистого стафилококка. Минимальный удельный вес среди ассоциативных стафилококков имел коагулазонегативный *S. saprophyticus* (5,0%). При исследовании факторов патогенности у *S. aureus*, установлено, что все штаммы обладали выраженной плазмокоагулирующей (коагулировали плазму в течение 2 часов) гемолитической и лецитиназной активностями; гиалуронидазу вырабатывали 68,6% штаммов. Таким образом, в ассоциации с *Candida* spp. в 87,5% случаев выделяли *S. aureus* с выраженными патогенными свойствами. На наш взгляд, этот факт следует рассматривать как важный критерий при суждении о патогенной роли стафилококка в генезе ассоциированной бактериально-кандидозной инфекции, поскольку стафилококки обладают повышенной проницаемостью кожных покровов, слизистых оболочек и соединительной ткани.

При изучении степени адгезии штаммов *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей двух групп (n=50), выявили, что количество штаммов *Candida* spp. с нулевой адгезивной активностью составляет 5 (20%) штаммов в 1-й группе и 8 (32%) – во 2-й. Количество *Candida* spp. с высокой степенью

Таблица 3

адгезии было в 1,2 раза больше среди штаммов 1-й группы (табл. 2).

Таблица 2

Адгезивная активность *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей, рожденных путем кесарева сечения и естественным путем

Характеристика адгезивных свойств <i>Candida</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	Количество штаммов <i>Candida</i> spp.	
		1 группы, %	2 группы, %
Нулевая степень адгезии	<i>C. albicans</i>	-	16,7
	<i>C. tropicalis</i>	-	-
	<i>C. kefyr</i>	60,0	100
	<i>C. krusei</i>	33,3	33,3
	<i>C. parapsilosis</i>	50,0	33,3
Низкая степень адгезии	<i>C. albicans</i>	14,3	33,4
	<i>C. tropicalis</i>	60,0	60,0
	<i>C. kefyr</i>	53,3	50,0
	<i>C. krusei</i>	-	-
	<i>C. parapsilosis</i>	50,0	-
Средняя степень адгезии	<i>C. albicans</i>	57,1	33,3
	<i>C. tropicalis</i>	20,0	-
	<i>C. kefyr</i>	86,7	50,0
	<i>C. krusei</i>	66,7	66,7
	<i>C. parapsilosis</i>	-	66,7
Высокая степень адгезии	<i>C. albicans</i>	28,6	16,6
	<i>C. tropicalis</i>	20,0	40,0
	<i>C. kefyr</i>	-	-
	<i>C. krusei</i>	-	-
	<i>C. parapsilosis</i>	-	-

При анализе адгезивной активности *Candida* spp., выделенных от разных групп новорожденных детей, и видового состава ассоциативной микробиоты, показано, что все штаммы грибов, которые проявляли высокую адгезивную способность, выделяли из указанных локусов в ассоциации с *S. aureus*, обладающими всеми факторами патогенности (лецитиназная, гиалуронидазная, гемолитическая активности и др.).

При сравнении адгезивных свойств клинических штаммов (1, 2 групп) и штаммов, выделенных из объектов внешней среды, нами установлено, что в видовом составе штаммов 1 группы и штаммов, выделенных из объектов внешней среды, доминировали *Candida* spp. с высокой и средней степенью адгезии (52% и 65% соответственно).

В различной устойчивости отдельных органов к *Candida* важное значение придают особенностям реакции полиморфноядерных лейкоцитов (нейтрофилов) [4].

При совместном культивировании нейтрофилов с живыми штаммами *Candida* spp. 1-й и 2-й групп выявили, что нейтрофилы обладали выраженной фунгицидной активностью. При сравнении активности фагоцитоза к *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей, было установлено, что активность нейтрофилов была выше относительно высоко- и среднеадгезивных штаммов и не зависела от времени инкубации (табл. 3). Относительно *Candida* spp. 1-й группы с нулевой и низкой степенью адгезии, фагоцитарная активность нарастала с увеличением времени инкубации.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов по отношению к *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов	Степень проявления адгезивных свойств <i>Candida</i> spp., выделенных от новорожденных детей							
	1 группа				2 группа			
	нулевая	низкая	средняя	высокая	нулевая	низкая	средняя	высокая
Фагоцитарное число, абс.ед	2,1 ±0,2	3,4 ±0,4	6,42 ±0,34	6,64 ±0,30	2,6 ±0,32	5,71 ±0,40	6,48 ±0,34	7,11 ±0,29
Фагоцитарный индекс, %	40,2 ±2,0	44,6 ±2,4	51,6 ±2,7	54,8 ±2,3	47,5 ±2,9	48,2 ±1,4	55,8 ±2,8	59,9 ±2,7

p>0,05 – достоверность различий между первой и второй группами

Адгезию *Candida* spp. на клетках организма, в том числе на нейтрофилах, можно рассматривать как начальный этап развития инфекционного процесса. При этом в развитии кандидоза играют роль совокупность факторов: резистентность организма к прикреплению и размножению гриба, степени его патогенности и др.

В опыте с нейтрофилами доказано, что фагоцитарная активность в отношении клинических штаммов *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей, отличается и зависит от степени проявления адгезивных свойств грибов.

При изучении клеточного иммунитета у новорожденных детей – *Candida*-носителей 1-й и 2-й групп, которое проводили на 18-20 день, показано, что в иммунном статусе обследованных детей имелись существенные изменения. С целью получения собственных нормативных показателей мы обследовали 20 практически здоровых новорожденных детей в возрасте от 18 до 20 дней. Результаты исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4

Показатели клеточного иммунитета у новорожденных детей – *Candida*-носителей (n=50)

Показатели	Референтная норма	Количество иммуноцитов (10 ⁹ /л)	
		1 группа	2 группа
Т-лф	5,5±0,3	3,6±0,2**	5,0±0,2**
ТФР	4,1±0,25	2,3±0,07**	3,0±0,1*
ТФЧ	1,8±0,1	2,3±0,1*	2,0±0,1*
0-клетки	1,7±0,1	2,5±0,2**	2,0±0,1*

Примечание: ТФР – теофиллин-резистентные Т-хелперы/индукторы; ТФЧ – теофиллин-чувствительные Т-супрессоры/цитотоксические; ** - p < 0,05, * - p < 0,01 (расчет произведен относительно контрольной группы).

Как видно из таблицы 3, у новорожденных детей – *Candida*-носителей, рожденных путем кесарева сечения (1 группа), имело место угнетение Т-клеточного звена иммунной системы. Это проявлялось в снижении общего количества Т-лимфоцитов (кратность снижения составляла 1,5 раза по сравнению с контрольной группой).

При анализе результатов исследования субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у детей 1 группы наблюдали снижение количества ТФР-хелперов и увеличение уровня ТФЧ-клеток, обладающих цитотоксической активностью.

Кроме того, необходимо отметить, что у детей – *Candida*-носителей 1-й группы наблюдали увеличе-

ние уровня О-клеток в 1,5 раза по отношению к контрольной группе.

При сравнении показателей клеточного иммунитета (табл. 4), полученных от новорожденных детей – *Candida*-носителей, рожденных естественным способом, выявили, что эти показатели к 18-20 дню жизни имели тенденцию к нормализации параметров, хотя полного их восстановления не наблюдали.

На наш взгляд, особенности *Candida*-носительства существенно влияют на показатели иммунного статуса новорожденного ребенка. Возможно, этим можно объяснить то, что более существенные изменения клеточного звена наблюдали у новорожденных детей – *Candida*-носителей, от которых выделяли ассоциативный *S. aureus*.

При исследовании адгезивных свойств культур стафилококков, выделенных от новорожденных детей – *Candida*-носителей обеих групп, установлено, что наибольший индекс адгезии наблюдали у *S. aureus* ($5,04 \pm 2,13$), который наиболее часто (87,5% случаев) выделяли в ассоциации с *Candida* spp.

Особое значение уделяют цитокинам, влияющим на функцию полиморфно-ядерных лейкоцитов, как на одну из главных линий защиты от *Candida* spp. Исследуя количественное содержание наиболее сильного стимулятора эффекторных функций макрофагов – INF- γ , установлено, что продукция данного цитокина у детей 1-й группы в 1,2 раза ниже, чем у 2-й — показатель INF- γ в 1-й группе был $21,7 \pm 4,2$ и во 2-й группе $26,0 \pm 4,6$ при референтной норме $32,0 \pm 4,9$ ($p < 0,05$).

Референтная норма данного показателя была получена при обследовании 20 практически здоровых новорожденных детей в возрасте от 18 до 20 дней.

В ходе повторного микологического обследования (через 7 дней) новорожденных детей обеих групп, нами установлено, что количество *Candida* spp. в исследуемом материале от детей 1-й группы увеличивалось с 10^2 КОЕ/мл до 10^3 КОЕ/мл материала.

В соответствии с выявленными фактами, необходим всесторонний подход к изучению *Candida*-носительства с учетом возможной роли бактерий-ассоциантов в патологическом процессе.

ВЫВОДЫ

1. В видовом составе микробиоты толстой кишки и ротовой полости новорожденных детей, рожденных путем кесарева сечения, доминируют штаммы *Candida* spp. с высокой и средней степенью адгезии (52%); среди *Candida* spp., выделенных от детей, рожденных естественным способом, доминируют штаммы (60%) с нулевой и низкой степенью адгезии.

2. В видовом составе сопутствующей микробиоты у новорожденных детей – *Candida*-носителей 1 и 2 групп доминирует *S. aureus* с выраженными патогенными свойствами.

3. Фагоцитарная активность нейтрофилов здоровых доноров в отношении клинических штаммов *Candida* spp., выделенных от новорожденных детей, отличается и зависит от степени проявления адгезивных свойств грибов: активность нейтрофилов выше относительно высоко- и среднеадгезивных штаммов.

4. У новорожденных детей – *Candida*-носителей, рожденных путем кесарева сечения, установлено выраженное угнетение Т-клеточного звена иммунной системы: снижение общего числа Т-лимфоцитов и усиление их дифференцировки в сторону Т-цитотоксической субпопуляции.

5. У детей – *Candida*-носителей, рожденных естественным способом, к 18–20 дню жизни наблюдали тенденцию к нормализации параметров клеточного иммунитета, но не полностью.

6. Снижение продукции INF- γ у новорожденных детей, рожденных путем кесарева сечения, обусловлено функциональной недостаточностью Т-клеточного звена иммунного ответа и может быть причиной кандидоза у данной группы детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безкоровайний Б.О., Сіротченко Т.А. Етіотропна терапія та профілактика поверхневого кандидозу ротової порожнини у новонароджених та дітей раннього віку // Клиническая педиатрия. – 2007. – Т.1, №4. – С. 87-89.
2. Klein J, Remington J. Current concepts of infections of the fetus and new-born infant. Infectious diseases of the fetus and newborn infants. 6th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2000. – P. 1-23.
3. Толстопятова М.А., Булаева Г.А., Козлов И.Г. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей // Педиатрия. – 2009. – Т. 86. – С. 115-120.
4. Лебедева Т.Н. Иммунитет при кандидозе (обзор) // Ж.Проблемы мед. микологии. – 2004. – Т.6, №4. – С.8-16.
5. Zinkernagel R.M. Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases // N. Engl. J. Med. – 2001. – P. 345:1331-1335.
6. Lewis D.B., Wilson C.B. Developmental immunology and role of host defenses in fetal and neonatal susceptibility to infection / In: Infectious diseases of the fetus and newborn infants. Saunders. Philadelphia, 2001. – P. 25-138.
7. Кантин О.М., Сюч Н.И., Корсунская И.М. Влияние кандидоносительства беременных на заболеваемость у детей первого года жизни // Гинекология. – 2008. – №10/1. – С. 60-61.
8. Аравийский Р.А., Клишко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. – СПб: СПбМАПО, 2004. – 187 с.
9. Маянский А.Н., Салина Е.В., Заславская М.И. Способ оценки прочности адгезии *Candida albicans* на эпителиоцитах // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №2. – С. 53-54.
10. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). – М.: Медицинская книга, Н.-Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 443 с.

Поступила в редакцию журнала 16.06.2010

Рецензент: А.Е.Учеваткина

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ И ДИАБЕТИЧЕСКИХ ПОЛИНЕВРОПАТИЙ

¹Жулёв С.Н. (доцент кафедры)*,

²Скоромец А.А. (зав.кафедрой),

³Беляков Н.А. (руководитель)

¹Кафедра функциональной диагностики ГОУ ДПО Санкт-Петербургской академии последипломного образования; ²кафедра неврологии с клиникой ГОУ ВПО СПб ГМУ им.И.П.Павлова; ³СПб ГУЗ «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Россия

© Коллектив авторов, 2010

В нарушении иммунитета участвуют многие факторы, одним из которых являются микозы, в частности – кандидозы. Нарушения иммунитета приводят к развитию тяжёлых демиелинизирующих заболеваний, одним из которых является синдром Гийена-Барре. Это заболевание, особенно на ранних этапах, необходимо дифференцировать с диабетической полиневропатией. При комплексном клиническом и нейрофизиологическом обследовании больных определяют степень демиелинизации и аксональной дегенерации при обоих заболеваниях. С учётом полученных данных обследования нашим больным было проведено этиотропное, патогенетически обоснованное и симптоматическое лечение, обеспечившее наилучший эффект.

Ключевые слова: аксональная дегенерация, демиелинизация, диабетическая полиневропатия, иммунитет, кандидоз, микоз, синдром Гийена-Барре

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF IMMUNODEFICIENT AND DIABETIC POLYNEUROPATHY

Zhulev S.N. (associate professor of the chair), Skoromets A.A (head of the chair), Belyakov N.A. (head of the Center)

¹Chair of functional diagnosis SEI APE St. Petersburg Academy of Postgraduate Education; ²Chair of Neurology, SEI HPE St. Petersburg State Medical University im.I.P.Pavlova; ³SPb GUZ «Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases», Russia

© Collective of authors, 2010

* Контактное лицо: Жулев Сергей Николаевич
Тел.: (812) 275-18-54

In violation of the immunity are involved many factors, one of which are mycoses, in particular - candidosis. Immunity disorders cause severe demyelinating disease, one of which is Guillain - Barre syndrome. This disease, especially in the early stages must be differentiated from diabetic polyneuropathy. Integrated clinical and neurophysiological examination was used to determine, demyelination and axonal degeneration in both diseases. In view of the survey data of our patients was conducted etiotropic pathogenetic and symptomatic treatment, ensuring the best effect.

Key words: axonal degeneration, candidosis, demyelinating, diabetic polyneuropathy, Guillain-Barre, immunity, mycosis

В практике неврологов, инфекционистов и других специалистов наиболее часто встречаются хронические полиневропатии. Обострения некоторых хронических полиневропатий может угрожать жизни больных. Прежде всего, к таким поражениям относят синдром Гийена-Барре (СГБ) – тяжелую острую демиелинизирующую полиневропатию. Синдром Гийена-Барре является аутоиммунным заболеванием. В ходе лечения аутоиммунных заболеваний пациенты нередко длительное время получают иммуносупрессивную терапию, что приводит к развитию оппортунистических инфекций, в частности кандидоза. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* сравнительно широко распространены в окружающей среде. Их можно обнаружить в почве (особенно – садовой), воде, на предметах обихода, сахаристых пищевых продуктах, а также на слизистой оболочке пищеварительного тракта, гениталий и на коже у людей.

Основным фактором в развитии кандидоза является фоновое состояние или заболевания организма, при которых условно-патогенные возбудители приобретают патогенные свойства. К ним относят паранеопластические процессы, первичные и вторичные иммунодефицитные состояния, аутоиммунные процессы, заболевания, связанные с нарушением экологической среды и др.

СГБ характеризуется аутоиммунным поражением периферической нервной системы, которое приводит к демиелинизации и/или аксональной деструкции нервных клеток. Под действием возможных пусковых факторов развивается специфический иммунный ответ [1].

Разрушение гематоневрального барьера приводит к внедрению специфических аутоантител, макрофагов и Т-лимфоцитов в периферический нерв. В результате цитотоксического действия Т-клеток, рецепторно-опосредованного фагоцитоза комплекс-связанных антител происходит деструкция миелиновой оболочки и аксонов. По мере естественного течения заболевания аутоиммунная реакция постепенно затухает и сменяется процессом ремиелинизации [1].

Патогенез поражения периферических нервов: клинические проявления СГБ в период разгара заболевания складываются из двигательных, чувствительных и вегетативных нарушений, сухожильной гипо- или арефлексии и болевого синдрома. Черепные нервы поражаются в 50–90% случаев при СГБ и

до 100% случаев – при демиелинизирующей полиневропатии, при этом наиболее часто вовлекаются VII, IX пары. Развивающиеся вялые пара- и тетрапарезы, как правило, симметричны и сопровождаются сухожильной гипо- или арефлексией. Преимущественно вовлекаются дистальные отделы конечностей. В основном, наблюдают восходящий тип развития мышечной слабости. В тяжелых случаях у большинства больных также отмечают поражение мышц туловища, включая мышцы шеи, спины, живота и диафрагмы. При значительной слабости дыхательной мускулатуры, когда жизненная емкость легких (ЖЕЛ) достигает менее 50% от должных величин, возникает необходимость проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Вялые параличи сопровождаются развитием мышечной гипотонии. В тяжелых случаях, которые характеризуются аксональным поражением нервов, появляются мышечные гипотрофии и/или атрофии [2].

Нарушения чувствительности носят полиневритический характер («перчатки», «носки» и т.д.) и характеризуются преимущественно симметричностью. Глубокая чувствительность (чаще всего – суставно-мышечная и вибрационная), как правило, поражается в большей степени, чем поверхностная. Это выражается в виде утраты чувства положения тела, рук и ног, при ходьбе имеют место неуверенность и неустойчивость, пациент ходит с широко расставленными ногами, осторожно, под контролем зрения, переставляя ноги (сенситивная атаксия). Симптомы выпадения поверхностной (обычно болевой) чувствительности проявляются в виде гипестезии [3]. Наиболее информативным нейрофизиологическим методом оценки функционального состояния периферической нервной системы по-прежнему остается электронейромиография (ЭНМГ). Данным методом удается оценить степень и характер поражения (аксональный, демиелинизирующий или смешанный), определить уровни преимущественного поражения (корешок, нерв), а также контролировать динамику изменений под влиянием проводимой терапии и прогнозировать исход патологического процесса. Снижение скорости проведения импульсов по нервам, наличие блока проведения, задержка F-волны и увеличение дистальной латентности M-ответа являются следствием демиелинизации исследуемого нерва. В тех случаях, когда основное демиелинизирующее поражение осложняется аксональной дегенерацией, при проведении игольчатой ЭМГ в мышцах регистрируют потенциалы фибрилляций и положительные острые волны, свидетельствующие о денервационных изменениях. При комплексном ЭНМГ обследовании пациентов с СГБ в разные периоды заболевания выявляют изменения проводимости по нервам в 100% случаев. Демиелинизирующее поражение в тяжелых случаях сопровождалось вторичной аксональной дегенерацией в исследуемых нервах. Анализом полученных данных показана схожесть выявленных изменений при СГБ. Установлено,

что длительность восстановления утраченных функций прямо пропорциональна глубине блока проведения возбуждения, являющегося ведущим патофизиологическим механизмом развития слабости при демиелинизирующих полиневропатиях. Дополнительные денервационные (аксональные) изменения в виде спонтанной активности мышечного волокна существенно отягощают течение заболевания и тогда, в большинстве случаев, необходимы неотложные мероприятия, включая ИВЛ. Присоединение аксонального повреждения обуславливает более длительное пребывание пациентов на ИВЛ (по сравнению с «чисто» демиелинизирующими формами) и увеличивают продолжительность периода восстановления утраченных функций.

Вышеуказанное демиелинизирующее заболевание периферической нервной системы необходимо дифференцировать по клинико-нейрофизиологическим признакам, прежде всего, с диабетической дистальной симметричной полиневропатией – наиболее частой формой диабета.

Дистальная симметричная полиневропатия является наиболее частой формой диабетической невропатии, обычно – с вовлечением хорошо и слабо миелинизированных нервных волокон [4]. Невропатия слабо миелинизированных тонких волокон часто сопровождается болью без объективных симптомов или электрофизиологических повреждений поражения нервов и распознается как компонент нарушения толерантности к глюкозе и метаболических синдромов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С учетом клинических и нейрофизиологических данных мы провели лечение 20 больных с синдромом Гийена-Барре и 30 больных – с диабетической симметричной полиневропатией. В каждой подгруппе с помощью нейрофизиологических методик были выявлены нарушения функции как толстых, так и тонких, слабо миелинизированных нервных волокон.

Патогенетическая терапия СГБ основывается на представлениях о том, что в основе заболевания лежат повышение проницаемости гематоневрального барьера и иммунодефицит, в первую очередь, дефицит Т-супрессоров, что приводит к возникновению аутоиммунного процесса с появлением миелинотоксических антител и Т-лимфоцитов-киллеров, разрушающих леммоциты и миелин периферических нервов.

Среди методов, влияющих на аутоиммунные механизмы заболевания, предпочтение отдают плазмаферезу, внутривенному введению человеческого IgG и применению кортикостероидов.

1. Плазмаферез многие исследователи расценивают как наиболее эффективный метод лечения СГБ в стадии нарастания неврологических расстройств. Механизм лечебного действия плазмафереза при аутоиммунных заболеваниях, в частности при СГБ, связывают с удалением из сыворотки крови комплек-

Механизмы иммуномодуляторного действия IgG

Fc - зависимые механизмы действия Ig	Блокада Fc-рецептора на макрофагах. Ингибция B-клеточной пролиферации. Ингибция продукции антител.
V - зависимые механизмы действия Ig	Идиопатическое взаимодействие между Ig и соответствующими аутоантителами (например: anti-anti GM1 или другими миелиновыми идиотипами- anti-anti GD1b)
Природоспецифическое действие Ig	Антиоксидантное и антисупрессорное действие. Антицитокиновое действие. Анти T-клеточно-рецепторное действие.
Неспецифическое действие Ig	Увеличение (ускорение) катаболизма иммуноглобулинов. Связывание комплемента, уменьшение его концентрации в сыворотке крови.
Другие эффекты Ig	Активация CD-8 положительных T-клеток (T - супрессоров)

сов антиген — антитело, элиминацией блокирующих антител и ингибиторов, изменением соотношения цитокинов, неспецифических факторов воспаления, удалением избытка нормальных компонентов плазмы крови (например, фибриногена), улучшением функции фагоцитирующих мононуклеаров, уменьшением вязкости крови и активацией микроциркуляции в органах и тканях. Адекватный плазмаферез приводит к снижению сроков проведения искусственной вентиляции легких, ускорению восстановления двигательных и сокращению длительности пребывания больного в стационаре.

Плазмаферез рекомендуют применять у пациентов с тяжелой формой заболевания, требующей проведения ИВА. Применение плазмафереза у больных, сохранивших способность к самостоятельному передвижению и не имеющих дыхательных расстройств, не всегда является оправданным.

Более эффективным является плазмаферез или обменное переливание плазмы в первые 10 дней от начала появления неврологических расстройств. По данным А.К. Эсбери и Р.У. Джиллиата (1987), для достижения эффекта следует заменять 170–200 мл/кг плазмы крови в течение 1 недели за 3–4 переливания (по данным других авторов – 200–250 мл/кг массы тела в день в течение 5–7 дней, через день). Введение меньших объемов плазмы или начало переливаний в более поздние сроки не дает эффекта. Для восполнения объема удаляемой плазмы, поддержания онкотического давления крови, коррекции электролитных и белковых нарушений, плазмозамещение рекомендуется проводить 5–10% раствором альбумина, гемодезом, реополиглюкином или раствором глюкозы. Имеются указания о большей эффективности переливания свежемороженой плазмы, в которой отсутствуют соли и белок.

Противопоказаниями к проведению плазмафереза у больных с СГБ являются:

- признаки тяжелой дисфункции вегетативной нервной системы;
- септицемия;
- нарушения свертываемости крови;
- тяжелая диспротеинемия.

2. Лечение СГБ человеческим иммуноглобулином G для внутривенного введения (IV Ig).

При острой воспалительной демиелинизирующей полиневропатии (ОВДП) и острой аксональной моторной невропатии (ОАМН) человеческий IgG для внутривенного введения оказывает комплексный иммуномодулирующий эффект. Механизм иммуномодулирующего действия IgG представлен в таблице 1.

Выбор IV Ig для терапевтических целей основывается на ряде факторов: во-первых, из всех иммуноглобулинов IgG присутствует в крови в наибольшей концентрации и, следовательно, дает самый большой выход в процессе фракционирования; во-вторых, наиболее часто диагностируемые иммунодефициты связаны со снижением содержания именно этого белка.

Иммуноглобулин G для внутривенного введения имеет ряд преимуществ. Он оказался активнее у пациентов с чисто моторной формой СГБ с позитивными титрами антител к изолидам GM1. Нашим больным вводили иммуноглобулин нормальный человека для внутривенного введения (производства Нижегородского государственного предприятия по производству бактериальных препаратов, фирма «Им-Био»). Препарат выпускается в виде 5% раствора IgG во флаконах по 25 мл (0,25 г IgG). Показания для применения такие же, как и для интраглобина. Доза – 0,4 г/кг/сутки в течение 5 суток.

3. Кортикостероидная терапия СГБ.

Применение кортикостероидов в качестве иммуносупрессоров при СГ представляется оправданным, если исходить из представлений об аутоиммунной природе повреждения нервных волокон при этом заболевании. Кортикостероиды используют для лечения СГБ как пульс-терапию в больших дозировках в виде коротких курсов. Для лечения эти препараты применяют в адекватно больших дозах с дробно прерывистой схемой приема или по традиционной схеме. Наиболее часто кортикостероидные гормоны в качестве иммуносупрессоров используют в умеренных – до 30 мг преднизолона или больших дозах – до 90 мг преднизолона в день внутрь (или в эквивалентных дозах парентерально) с постепенным уменьшением дозы каждые 4–7 дней. Общая продолжительность курса кортикостероидной терапии составляет 1,5–2,5 месяца в зависимости от тяжести болезни. При назначении кортикостероидной терапии учитывают наличие общеизвестных противопоказаний (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, высокая артериальная гипертензия, диабет и др.), применяют средства, предупреждающие развитие наиболее частых осложнений (язвенная

болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, высокая артериальная гипертензия, диабет и др.), а также применяют средства, предупреждающие развитие наиболее частых осложнений (препараты калия, аскорбиновая кислота, рутин, обволакивающие и подщелачивающие средства и т.п.). При выборе дозы кортикостероидов учитывают также: 1) количество лейкоцитов и лимфоцитов – при значительной лейкопении и лимфопении применяют малые дозы кортикостероидных препаратов в сочетании с иммуномодуляторами, например, с тималином или Т-активином, или эти препараты вообще не назначают; 2) риск развития инфекционных осложнений – наличие хронического бронхита или хронической пневмонии, других хронических инфекций, которые могут обостриться на фоне медикаментозного угнетения иммунитета и представить дополнительную серьезную опасность для жизни больного. В выборе доз кортикостероидных препаратов существенную помощь могут оказать иммунологические исследования, однако они являются малодоступными в большинстве лечебных учреждений. Оправданность риска проведения кортикостероидной терапии определяется, таким образом, лечащими врачами.

Применяют и другие схемы лечения кортикостероидами. В.С. Лобзиным с соавт. (1986) предложена схема лечения под названием: «Лечение аутоиммунных нервно-мышечных заболеваний адекватно большими дозами кортикостероидных препаратов с их дробно-прерывистым приемом».

Схема лечения:

1-й месяц лечения: преднизолон – 1,5 мг/кг массы тела в день с приемом препарата через два дня на третий, при этом суточная доза делится на два приема равного количества препарата: первый прием после завтрака, второй – после полдника.

2-й месяц лечения: 1 мг/кг массы тела через два дня на третий с соблюдением тех же условий;

3-й месяц лечения: 0,5 мг/кг массы тела;

4-6 месяцы: 0,25 мг/кг массы тела, после чего лечение кортикостероидами прекращают.

При данной схеме лечения достигается лучшее согласование времени действия препарата с суточными биоритмами человека, препарат легче переносится, реже возникают осложнения, достигается лучший терапевтический эффект, чем при использовании традиционной схемы.

Восстановительная терапия при СГБ должна начинаться с первых дней болезни. Главными ее задачами в ранней стадии заболевания являются предотвращение развития тугоподвижности, контрактур и патологических поз конечностей, путем активных (в соответствии с возможностями пациента) и пассивных движений во всех суставах с легким массажем мышц. После завершения периода нарастания парезов и параличей и стабилизации состояния больного может быть начато более активное восстановительное лечение, включающее в себя обычные методы лечения периферических парезов и параличей – ме-

ханотерапию в виде ЛФК и массажа, использование различного рода тренажеров, электростимуляцию.

Для лечения таких осложнений кортикостероидной терапии, как кандидоз слизистых оболочек, с успехом используют флуконазол – 100–200 мг/сутки в течение 10–14 дней.

Лечение диабетической невропатии.

Учитывая патогенез диабетической полиневропатии, становится очевидным, что основным видом профилактики и лечения данного осложнения сахарного диабета является оптимальный контроль углеводного обмена. Однако, даже в условиях контролируемой нормогликемии, постоянно сохраняются тканевые обменные нарушения, которые требуют также и специфической терапии [4]. При лечении диабетической полиневропатии мы использовали комплексный подход. Нами разработан алгоритм лечения больных с диабетическими невропатиями, применение которого дало значительный положительный эффект.

Направления лечебного воздействия

Компенсация гипергликемии: инсулин, производные сульфаниламочевины.

Сосудистая и антиагрегантная терапия: трентал, реополиглюкин, компламин, тиклид, сулодексид, вессел – дуэ, курантил.

Метаболическая терапия: α-липоевая кислота, солкосерил, цито-мак и др.

Противоболевые средства: НПВП, анальгетики, седативные средства, антигистаминные препараты

Активация невралгической регенерации и реиннервации: эссенциале, мильгамма, нейромультивит

Антихолинэстеразные препараты: прозерин, нейромедин, калимин

Немедикаментозное лечение: магнитотерапия, лазеротерапия, ИРТ, УФО, ДДТ, СМТ, электрофорез, ультразвук, электроаналгезия

Положительный терапевтический эффект наблюдали у 68% больных с различными проявлениями диабетической невропатии как при инсулинзависимом, так и при инсулиннезависимом сахарном диабете.

При этом особенно отчетливые изменения неврологического статуса отмечали при дистальной полиневропатии (83%). После курса достоверно уменьшались зоны гипестезии, снижался порог болевой и вибрационной чувствительности регрессировали трофические и двигательные нарушения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное клиничко-электрофизиологическое обследование больных с различными формами иммунодефицитных и диабетических полиневропатий позволяет разработать оптимальный алгоритм лечения. Патогенетически обоснованный комплекс лечения данных больных приводит к наилучшему результату.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Nikitin S., Kutidze I.Z., Kraiushkina N.A.* Central motor conduction time in severe forms of Guillain-Barre syndrome //Eur. Neurol. – 2001. – Vol.46, №1. – P. 39-42.
2. *Горбачева Ф.Е., Зиновьева О.Е., Махова О.И.* Демиелинизирующие невропатии у больных сахарным диабетом // Акт. Вопросы неврологии и нейрохирургии детского и подросткового возраста. Здоровоохр. Башкорстана. – 2000. – №2, спец.вып. – С. 62.
3. *Жулёв Н.М., Осетров Б.А., Жулёв С.Н.* «Невропатии».Руководство для врачей. – СПб.: СПбМАПО, 2005. – 415 с.
4. *Балаболкин М.И., Креминская В.М.* Диабетическая невропатия //Ж. неврол. и психиатрии. – 2000. – №10. – С. 57-64.

Поступила в редакцию журнала 10.06.2010

Рецензент: В.С. Митрофанов



ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗА СТОП, ОБУСЛОВЛЕННОГО НИТЧАТЫМИ НЕДЕРМА- ТОМИЦЕТАМИ И ДРОЖЖАМИ

¹Кубасова Н.Л. (аспирант)*, ¹Пупкова М.А. (аспирант), ¹Васильева Н.В. (проф., зав.кафедрой), ²Клиценко О.А. (доцент кафедры)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ГОУ ДПО СПб МАПО, ² кафедра педагогики, философии и права ГОУ ДПО СПб МАПО, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2010

В статье представлены результаты обследования 420 пациентов с онихомикозом стоп. Соотношение выделенных от пациентов дерматомицетов, нитчатых недерматомицетов и дрожжей было 4,7 : 1,05 : 1. Установлено, что тербинафин обладает высокой эффективностью при лечении онихомикоза, обусловленного дерматомицетами, в сравнении с лечением онихомикоза, подтвержденного только микроскопически (92,5% и 67% соответственно; $p < 0,001$). Эффективность лечения онихомикоза итраконазолом при выявлении нитчатых недерматомицетов была низкой и составляла 46,2%, флуконазолом при выявлении дрожжевых организмов — 52%.

Ключевые слова: дерматомицеты, диагностика, дрожжи, лечение, онихомикоз стоп, нитчатые недерматомицеты

PECULIARITIES OF DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FEET ONYCHOMYCOSIS, CAUSED BY NONDERMATOMYCETES AND YEASTS

¹Kubasova N.L. (postgraduate student),
¹Pupkova M.A. (postgraduate student),
¹Vasilyeva N.V. (professor), ²Klicenko O.A.
(associate professor)

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology SEI APE SPb MAPE, ² chair of Pedagogy, Philosophy and Law SEI APE SPb MAPE, Saint Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2010

* Контактное лицо: Кубасова Наталья Леонидовна
Тел.: (812) 303-51-40

We have investigated 420 patients with feet onychomycosis. The correlation of dermatomycetes and nondermatomycetes, nondermatomycetes and yeasts isolated from patients was 4,7 : 1,05 : 1. Terbinafine was highly effective in the treatment of onychomycosis caused by dermatomycetes in comparison with treatment of onychomycosis confirmed only by microscopy (92,5% and 67% respectively, $p < 0,001$). A treatment efficacy of itraconazole in onychomycosis caused by nondermatomycetes was low and composed 46,2%, of fluconazole in onychomycosis caused by yeasts - 52%.

Key words: dermatomycetes, diagnosis, feet onychomycosis, nondermatomycetes, treatment, yeasts

Онихомикозом страдают от 2% до 23% населения планеты [1].

Дерматомицеты, нитчатые недерматомицеты и дрожжи могут быть возбудителями онихомикоза. Бесспорное лидерство среди них принадлежит дерматомицетам (*Trichophyton* spp.). В последние годы разработаны стандартизированные методы диагностики и лечения онихомикоза, обусловленного дерматомицетами [2–4]. Однако основные трудности возникают при диагностике и лечении онихомикозов, обусловленных нитчатými недерматомицетами и дрожжами. Как правило, нитчатые недерматомицеты – изоляты из патологического материала относят к контаминантам из окружающей среды или вообще не выделяют при посеве (если используют среды с ингибиторами роста плесневых грибов), или после выделения в культуру относят к патогенам, не учитывая критериев диагностики. Напротив, при обнаружении в посевах дрожжей рода *Candida*, их значение в этиологической структуре онихомикоза часто переоценивают, не учитывая их принадлежности к нормобиоте нашего организма. Отсутствие четких критериев для дифференциации условно-патогенных недерматомицетов и дрожжей в качестве возбудителей инфекций и контаминантов ставит под сомнение надежность диагноза онихомикоза, обусловленного данной группой микромицетов.

Наряду с этим, есть сведения о том, что стандартная антимикотическая терапия при онихомикозе, обусловленном нитчатými недерматомицетами и дрожжами, недостаточна [5].

Целью настоящего исследования была оценка эффективности и диагностики лечения онихомикоза стоп, обусловленного нитчатými недерматомицетами и дрожжами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 420 пациентов обоих полов в возрасте от 18 лет и старше, с изменениями ногтевых пластинок стоп (изменение окраски ногтя, утолщение, деформация, подногтевой гиперкератоз, онихолизис, паронихия).

Не включили в исследование:

- больных, получавших системную противогрибковую терапию в течение 12 месяцев до начала исследований;
- больных, получавших местную противогрибковую терапию.

вую терапию в течение 6 месяцев до начала исследований;

- больных младше 18 лет;
- беременных и кормящих женщин;
- лиц, страдающих алкогольной и наркотической зависимостью;
- больных с кожными заболеваниями, протекающими с изменением ногтевых пластинок (атопия, экзема, псориаз и др.).

Взятие материала (соскоб с ногтевых пластин) для микроскопических и культуральных исследований проводили с учетом типа поражения ногтевой пластины (дистально-латеральный подногтевой, белый поверхностный, проксимальный подногтевой, тотальный дистрофический, проксимальный с паронихией) в максимально большом объеме. Ногтевые пластины стоп предварительно обрабатывали 70% раствором этанола.

Для микроскопии патологического материала использовали 30% раствор КОН с добавлением флюорохрома – калькофлюора белого и просматривали препараты в люминесцентном микроскопе.

При культуральном исследовании патологический материал засеивали на агар Сабуро с левометицином (хлорамфениколом). Посевы инкубировали при 28 °С в течение 2–3-х недель.

Выросшие культуры нитчатых грибов идентифицировали по морфологическим и биохимическим свойствам, для определения дрожжей использовали тест-систему «Аухасолор 2» (BioRad).

При выделении из патологического материала культуры дерматомицета и положительном результате прямой микроскопии диагноз ониомикоза считали установленным.

При выделении из патологического материала дрожжей и нитчатых грибов-недерматомицетов учитывали результаты прямой микроскопии (наличие дрожжевых почкующихся клеток или характерных конидий гриба *Scopulariopsis brevicaulis*), а также количество выросших колоний одного вида гриба (не менее пяти из 20 точек посева), либо повторяли взятие материала и микологическое исследование. Если выделяли в повторных пробах тот же вид гриба-недерматомицета, а рост дерматомицета по-прежнему отсутствовал, диагностировали ониомикоз, обусловленный недерматомицетом [2, 6].

После проведения антимикотического лечения оценивали клиническую и микологическую излеченность; микологическую – по отсутствию возбудителя в исследуемом материале из очагов поражения при микроскопическом и культуральном исследованиях, клиническую эффективность – при отрастании 5 мм и более здоровой ногтевой пластины, затем в конце 12-недельного периода наблюдения оценивали микологическое, клиническое и полное излечение.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Statistica 6 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследовано 420 лиц с клиническими признаками микотического поражения ногтевых пластин на пальцах стоп, обратившихся в НИИ медицинской микологии. Средний возраст пациентов составил $50,5 \pm 1,5$ лет. Среди них лиц мужского пола было 135 человек, женского – 285.

В исследование были включены 66 (16%) больных со злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей.

При прямой микроскопии 420 образцов (соскобы с ногтевых пластин) в 294 образцах были обнаружены элементы грибов, что составило 70%; из них в 121 образце (41%) грибы были выделены в высевах на среде Сабуро.

Культуральное исследование проводили только для образцов, в которых обнаружены элементы гриба.

Основными возбудителями ониомикоза были представители рода *Trichophyton*, которые составили 69,4% от выделенных культур (*T. rubrum* – 64,4%, *T. interdigitale* – 0,8%, *T. tonsurans* – 4,1%) (табл. 1).

Таблица 1.

Спектр возбудителей ониомикоза стоп (n = 121)

Дерматомицеты, n=84	Дрожжи, n= 19	Нитчатые недерматомицеты, n=18
<i>Trichophyton rubrum</i> (n=78)	<i>Candida</i> spp. (n=11) <i>Candida parapsilosis</i> (n=3)	<i>Aspergillus versicolor</i> (n=3) <i>Aspergillus terreus</i> (n=1) <i>Aspergillus nidulans</i> (n=1)
<i>Trichophyton interdigitale</i> (n=1)	<i>Candida lusitanae</i> (n=1) <i>Candida albicans</i> (n=3) <i>Candida guilliermondii</i> (n=1)	<i>Acremonium</i> spp. + <i>Scytalidium</i> (n=1) <i>Fusarium</i> spp. (n=7) <i>Chaetomium</i> sp. (n=1) <i>Chaetomium globosum</i> (n=1) <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (n=1)
<i>Trichophyton tonsurans</i> (n=5)		

Как следует из таблицы 1, дерматомицеты составляли 69,4%, нитчатые грибы-недерматомицеты – 15,7%, дрожжевые организмы – 14,9%. Дрожжи были представлены разными видами рода *Candida*. Среди нитчатых грибов-недерматомицетов *Fusarium* spp. составляли 39%, *Aspergillus* spp. – 28%, *Acremonium* spp. – 16,5%, *Chaetomium* spp. – 11%, *Scopulariopsis brevicaulis* – 5%.

Дистально-латеральный тип поражения при ониомикозе пальцев стоп наблюдали в 277 случаях (94,2%); тотальный – в 12 (4,1%); белый поверхностный тип поражения – в 5 (1,7%).

Среди факторов риска развития ониомикоза, обусловленного нитчатыми грибами-недерматомицетами, преобладали травмы ногтевых пластин (56%), в случае кандидоза ногтевых пластин – заболевания эндокринной системы (37%), при ониомикозе стоп, обусловленном дерматомицетами, – нарушение кровообращения в нижних конечностях (44%).

Лечение больных, у которых диагноз ониомикоза был подтвержден только микроскопически (173 больных) или микроскопически и культурально (121 больной), проводили системными антимикотиками по стандартным схемам.

Так, 223 больных получали тербинафин в течение 12 недель в дозе 250 мг в сутки; 13 больным с онихомикозом стоп, обусловленным нитчатыми недерматомицетами, назначали итраконазол в дозе 400 мг в сутки (пульс-терапия составляла 3 курса) и 18 больных получали флуконазол 150 мг в течение 6 месяцев (табл. 2). Одновременно с системной терапией, все пациенты получали наружную терапию лаком «Лоцерил» с предварительной аппаратной подчисткой ногтевых пластин.

Таблица 2.

Оценка эффективности лечения онихомикоза

Возбудитель	Микромицеты (прямая микроскопия «+», посев «-») (n=143)	Микромицеты (прямая микроскопия «+», посев «+»)					
		дерматомицеты		недерматомицеты			
		(n = 80)	p	Дрожжи (n=18)	p	нитчатые грибы (n=13)	p
По стандартным схемам	Тербинафин 250 мг/сут. 12 нед.	Тербинафин 250 мг/сут. 12 нед.		Флуконазол 150 мг в неделю 6-12 мес.		Итраконазол 400 мг/сут. 3 курса пульс-терапии	
микологическая	125 (87%)	78 (97,5%)	<0,05*	16 (84%)	>0,05* <0,05**	10 (76%)	>0,05* <0,01**
клиническая	114 (79%)	76 (95%)	<0,01*	13 (68%)	>0,05* <0,05**	8 (61%)	>0,05* <0,05**
полная	96 (67%)	74 (92,5%)	<0,001*	10 (52%)	<0,001* <0,001**	6 (46,2%)	<0,001* <0,001**

* - сравнение с эффективностью лечения тербинафином при онихомикозе, подтвержденном микроскопически;

** - сравнение с эффективностью лечения тербинафином при онихомикозе, подтвержденном микроскопически и культурально.

Высокую эффективность лечения онихомикоза, подтвержденного микроскопически и при посеве, отмечали для тербинафина – 92,5%, низкую – у больных с онихомикозом (67%), подтвержденным только микроскопически (p<0,001). В группе больных с онихомикозом, обусловленным дрожжевыми организмами, эффективность лечения флуконазолом составила 52%, в случае онихомикоза, обусловленного нитчатыми недерматомицетами, эффективность стандартной терапии итраконазолом составила 46,2%.

На основании полученных нами результатов, подтверждающих клинический диагноз онихомикоза при прямой микроскопии только в 70% случаев, можно говорить о том, что начинать лечение пациента с измененными ногтевыми пластинами антимикотиками можно только после лабораторного подтверждения диагноза онихомикоза. Тем более, что некоторые авторы сообщают о своих наблюдениях, когда в 50% случаев изменение ногтевой пластины не было обусловлено грибами [4]. Наиболее частым используемым лабораторным критерием для постановки диагноза онихомикоза и рекомендуемым в стандартах лечения онихомикоза в России является положи-

тельный результат при прямом микроскопическом исследовании. Однако следует помнить, что в этой ситуации можно констатировать лишь факт наличия гриба на/в ногтевой пластине без родовой и видовой дифференциации микромицетов.

Культуральное подтверждение клинического диагноза мы получили только в 41% случаев. По данным других исследователей, чувствительность культурального метода при однократном исследовании патологического материала составляет 30-50-73% [2,7].

Особое внимание следует уделять интерпретации результатов микологического исследования образцов ногтевых пластин в случае выделения в культуру недерматомицетов, чтобы разграничить клинически значимые микологические находки и контаминацию. Summerbell и соавторы полагают, что обнаружение грибов при прямой микроскопии в сочетании с воспроизводимостью роста грибов в нескольких пробирках при посеве обеспечивают вероятность онихомикоза, обусловленного недерматомицетами, до 90% [2].

Другие авторы полагают, что выделение *Fusarium spp.* на среде Сабуро без циклогексимида в сочетании с наличием нерегулярных структур при прямой микроскопии, болезненностью в очаге поражения и паронихии может указывать на патогенность фузариума [5].

Как видно, микологическая диагностика сопряжена с заметными сложностями, что затрудняет не только установление истинной причины онихомикоза, но и принятие решения об адекватном лечении. Отметим, что соотношение дерматомицеты/нитчатые недерматомицеты/дрожжи среди возбудителей онихомикоза стоп в этом исследовании составляло 4,7 : 1,05 : 1 соответственно.

По нашим данным, эффективность лечения тербинафином пациентов с онихомикозом стоп, подтвержденным только микроскопическим исследованием, была достоверно ниже, чем эффективность лечения тем же препаратом онихомикоза, вызванного дерматомицетами. Можно предполагать, что в первой группе получали лечение пациенты с онихомикозом, обусловленным дерматомицетами и недерматомицетами, так как при прямой микроскопии идентифицировать микромицеты не представляется возможным. По данным многоцентрового международного исследования (LION study group), эффективность лечения онихомикоза стоп, обусловленного дерматомицетами, тербинафином в течение 12 недель, оцененная через 72 недели, составляла 46%, итраконазолом (3 курса) – 23% [3].

В нашем исследовании клиническая эффективность лечения тербинафином (12 недель) онихомикоза, обусловленного дерматомицетами, оцененная через 24 недели, составила 92,5%, при лечении итраконазолом и флуконазолом эффективность лечения плесневых и дрожжевых онихомикозов была ниже (соответственно, 46,2% и 52%). Этим подтверждается необходимость проведения контролируемых клини-

ческих исследований для разработки методов лечения таких вариантов онихомикозов.

ВЫВОДЫ

1. Лечение пациента с измененными ногтевыми пластинами необходимо начинать только после лабораторного подтверждения диагноза онихомикоза (включая микроскопическое и культуральное).

2. Тербинафин обладает высокой эффективностью при лечении онихомикоза, обусловленного

дерматомицетами, в сравнении с лечением онихомикоза, подтвержденного только микроскопически (92,5% и 67% соответственно; $p < 0,001$).

3. Применение флуконазола для лечения онихомикоза, обусловленного дрожжами, эффективно в 52% случаев.

4. Применение итраконазола для лечения онихомикоза, обусловленного нитчатыми недерматомицетами, эффективно в 46,2% случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Baran, et al.* Onychomycosis. The current approach to diagnosis and therapy. 2nd edition, 2006.
2. *Summerbell R., Cooper E., Bunn U., et al.* Onychomycosis: a critical study of techniques and criteria for confirming the etiologic significance of nondermatophytes // *Medical Mycology.* – 2005. – Vol.43. – P.39-59.
3. *Evans E.G.V., Sigurgeirsson B.* for the LION Study Group Double blind randomized study of continuous terbinafine compared with intermittent itraconazole in treatment of toenail of onychomycosis // *Br. Med. J.* – 1999. – Vol. 318, № 7. – P. 1031-1035.
4. *Gupta A.K., Ryder J.E., Lynch L.E., Tavakkol A.* The use of terbinafine in the treatment of onychomycosis in adults and special populations: a review of the evidence // *J. Drugs Dermatol.* – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 302- 308.
5. *Guilhermetti E., Takahachi G., Shinobu C.S., Svidzinski T.* *Fusarium* spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts // *Int. J. of Dermatology.* – 2007.- Vol.46. - P.822-826.
6. *Васильева Н.В., Разнатовский К.И., Котрехова А.П. и др.* Этиология онихомикоза стоп в г. Санкт-Петербурге и г. Москве. Результаты проспективного открытого многоцентрового исследования // *Ж. Проблемы мед. микологии.* – 2009. – Т.11, №2. – С.14-18.

Поступила в редакцию журнала 30.06.2010

Рецензент: Климко Н.Н.



КЕРАТИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НОГТЕВЫХ ПЛАСТИН ПАЦИЕНТОВ С ОНИХОМИКОЗОМ

Пупкова М.А. (аспирант)*, Кубасова Н.Л. (аспирант)

НИИ медицинской микологии им.П.Н.Кашкина ГОУ ДПО СПб МАПО, Санкт-Петербург, Россия

© Пупкова М.А., Кубасова Н.Л., 2010

В статье приведены результаты определения кератинолитической активности дерматомицетов и недерматомицетов, выделенных из ногтевых пластин при онихомикозе.

Ключевые слова: дерматомицеты, кератин, кератинолитическая активность, недерматомицеты

KERATINOLYTIC ACTIVITY OF FUNGI ISOLATED FROM PATIENTS' NAILS WITH ONYCHOMYCOSIS

Pupkova M.A. (postgraduate student), Kubasova N.L. (postgraduate student)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology SEI APE SPb MAPE, Saint Petersburg, Russia

© Pupkova M.A., Kubasova N.L., 2010

The article presents the results of determination of keratinolytic activity of dermatomycetes and non-dermatomycetes isolated from patients' nails with onychomycosis.

Key words: dermatomycetes, keratin, keratinolytic activity, nondermatomycetes

Наиболее частыми возбудителями онихомикоза признаны первичные патогены – дерматомицеты (*Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* и др.). Условно-патогенные недерматомицеты, такие как дрожжевые (*Candida* spp. и др.), нитчатые (*Fusarium* spp., *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp. и др.) также могут играть важную роль в возникновении этого заболевания, и их доля в этиологической структуре онихомикоза, по данным разных авторов, составляет 10–30% [1–3]. Однако существуют объективные трудности при интерпретации результатов культурального исследования патологического материала (ногтевых пластин) в случае выделения недерматомицетов. Поскольку ногтевые чешуйки не являются в норме стерильным субстратом, то имеет место контаминация на разных этапах проведения материала от пациента до чашки Петри при посеве. Поэтому нередко грибы-недерматомицеты относят к контаминантам и не учитывают как истинных возбудителей онихомикоза. В этой связи определение кератинолитической активности микромицетов может быть полезным при оценке результатов микологического исследования ногтевых пластин при онихомикозе.

Цель исследования – изучить кератинолитическую активность дерматомицетов и недерматомицетов (дрожжевых и нитчатых грибов), выделенных из ногтевых пластин при онихомикозе.

Среди наиболее часто используемых методов, с помощью которых оценивают кератинолитическую активность грибов, выделяют пять основных:

1. определение содержания в среде цистеина, белка и внеклеточной кератиназы с помощью спектрофотометра и/или электрофореза [4];
2. рост на кератиновых субстратах с последующей их микроскопией [5, 6];
3. визуальное определение лизиса на твердой питательной среде с кератином [7];
4. определение pH жидкой среды после инкубации [8];
5. с помощью химических реагентов – кератиназура [9].

Для изучения кератинолитической активности грибов в данном исследовании использовали метод посева исследуемых микромицетов на кератиновые субстраты [5, 6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали кератинолитическую активность дерматомицетов и недерматомицетов (дрожжевые и нитчатые грибы), выделенных с ногтевых пластин пациентов с подозрением на онихомикоз. Среди дерматомицетов регистрировали наиболее частых возбудителей инфекции ногтевых пластин – *Trichophyton rubrum* и *T. interdigitale***, среди дрожжевых недерматомицетов – в основном, грибы рода *Candida* (*C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae*)

* Контактное лицо: Пупкова Марианна Андреевна
Тел.: 921-398-26-17

** Самостоятельный таксон вида (а не варианта) приведен в версии атласа медицински значимых грибов де Хоога с коллегами в 2009 г. [17].

и *Trichosporon mucoides*, среди нитчатых недерматомицетов – *Acremonium potronii*, *A. hyalinulum*, *Aspergillus versicolor*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor racemosus* и *Penicillium commune*.

Использовали специальную жидкую питательную среду для теста на перфорацию волоса, содержащую 5 мл дистиллированной воды и 20 мкл 10% дрожжевого экстракта [10]. В качестве кератинового субстрата в данную среду вносили несколько стерильных светлых детских волоса и 5 срезов со здоровых детских ногтей в каждую чашку Петри. Затем в среду с кератином вносили взвеси испытуемых культур густотой 10 ЕД (для нитчатых грибов) и 5 ЕД (для дрожжевых) по стандарту мутности в объеме 400 мкл. Контролем служила среда с кератином без культуры гриба. Инкубация проходила при 28 °С для нитчатых грибов, при 32 °С – для дрожжевых грибов в течение 2 недель. Затем кератин-содержащие субстраты отмывали от мицелия механическим путем в дезинфицирующем растворе и просматривали в световом микроскопе с использованием раствора KOH (10%) и DMSO с целью обнаружения перфорации волоса грибом, а в ногте – инвазии микромицета [5, 6, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кератинолитическую активность грибов оценивали по наличию и интенсивности поражения волоса (поверхностная эрозия и перфорация), а также по наличию инвазии гриба и его распространенности в ногте по четырехбалльной шкале (таблица 1).

Таблица 1.

Система оценки поражения волос и ногтевых пластин исследуемыми культурами микромицетов

Оценка	Наличие перфорации и эрозии волос (активность)	Наличие инвазии микромицета в ноготь
++++ (очень высокая)	В каждом волосе	В каждом или почти каждом поле зрения
+++ (высокая)	Почти в каждом волосе	В 2/3 полей зрения
++ (умеренная)	В половине из исследуемых волос	В 1/3 полей зрения
+ (низкая)	Редко	Редко (единичные элементы гриба в 1-м или 2-х полях зрения)
- отрицательная)	отсутствует	отсутствует

Для того, чтобы провести дифференцирование между истинным присутствием гриба и случайно попавшим на ноготь из среды, учитывали тот мицелий в качестве истинного, который был обнаружен в глубине ногтевой пластины после ее размягчения с помощью KOH и DMSO. Тот же мицелий, который обнаруживали у свободного края размягченной пластинки, не учитывали.

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты теста на перфорацию волоса и способность к инвазии ногтевой пластины

Группы грибов	Исследуемая культура, штамм №	Наличие перфорации волоса	Наличие поверхностной эрозии волос	Инвазия гриба в ногтевую пластину	Примечание
Грибы – дерматомицеты	<i>Trichophyton rubrum</i> 597	-	+	++++	
	<i>Trichophyton interdigitale</i> 148	++++	++++	++++	
Грибы – не дерматомицеты	<i>Mucor racemosus</i> 100	+++	++	-	В ногте обнаружены единичные споры.
	<i>Penicillium commune</i> 550	-	-	-	
	<i>Aspergillus nidulans</i> 424	++	+++	++	
	<i>Aspergillus versicolor</i> 557	+++	++	+	
	<i>Aspergillus versicolor</i> 514	++	+++	-	
	<i>Aspergillus versicolor</i> 290	-	++	+	Мицелий в ногте очень тонкий (1,6 мкм).
	<i>Aspergillus terreus</i> 213	++++	-	-	В ногте обнаружены единичные споры
	<i>Acremonium hyalinulum</i> 627	+++	++	++	Мицелий в ногте очень тонкий (1,5 мкм).
	<i>Acremonium potronii</i> 9	++++	+++	+++	
	<i>Fusarium oxysporum</i> 39	++	++	++	У данного штамма мицелий в ногте тоньше, чем у других штаммов этого рода гриба (2,2 мкм).
	<i>Fusarium oxysporum</i> 566	-	++++	++++	
	<i>Fusarium oxysporum</i> 671	+++	+	++++	
	Дрожжевые организмы	<i>Candida albicans</i> 362	+++	++	++
<i>Candida albicans</i> 499		++	++	+	
<i>Trichosporon mucoides</i> 281		++	++	+	
<i>Candida parapsilosis</i> 504		++	++	+	
<i>Candida parapsilosis</i> 614		+++	++	+	
<i>Candida lusitanae</i> 126		+++	++	+	
<i>Candida dubliniensis</i> 343	+++	++	+		

В контрольной чашке Петри, где культура гриба отсутствовала изначально, волосы и ногти оставались интактными (Рис. 1).

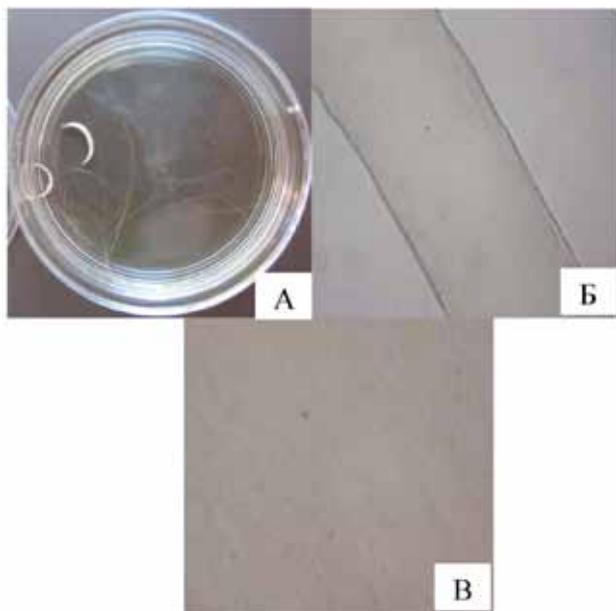


Рис. 1. Контрольная чашка Петри (среда с кератином без посева гриба). Отсутствие роста гриба на среде с кератином в контрольной чашке (А), здоровый волос (Б) и отсутствие мицелия в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Нами обнаружено, что *Trichophyton rubrum* (Рис. 2.) волосы не перфорирует, но слабо эрозирует кутикулу волоса, что совпадает с известными видовыми характеристиками; распространенность мицелия в ногте оценили максимальной (++++) как для *T. rubrum*, так и для *T. interdigitale* (Рис. 3.). Причем, для *T. interdigitale* перфорацию и поверхностную эрозию также оценивали максимально (++++).

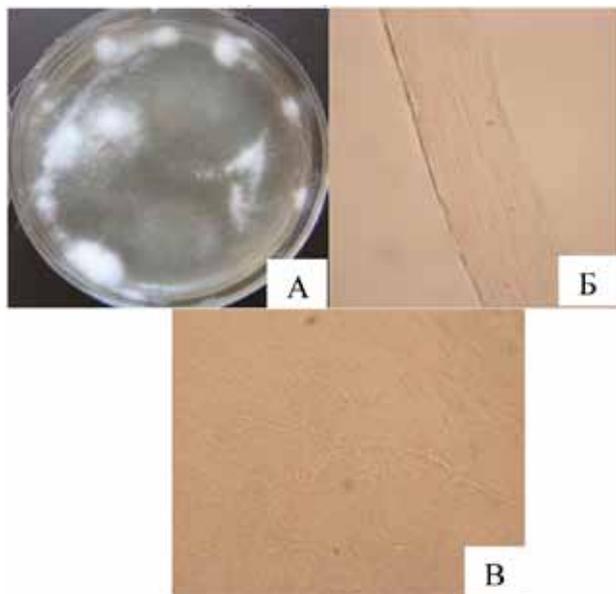


Рис. 2. *Trichophyton rubrum*. Рост на среде с кератином (А), эрозированный волос (Б) и активная инвазия гриба в чешуйки ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

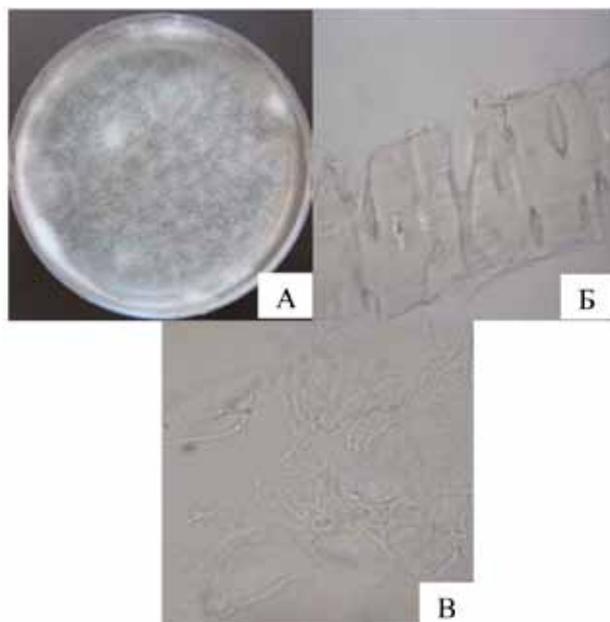


Рис. 3. *Trichophyton interdigitale*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и активная инвазия гриба в чешуйки ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Micor racemosus (Рис. 4) обладал умеренной активностью при перфорации волоса (+++) и поверхностной эрозии (++) , но не инвазировал ногтевую пластину. *Penicillium commune* был не активен по этим показателям (Рис. 5)

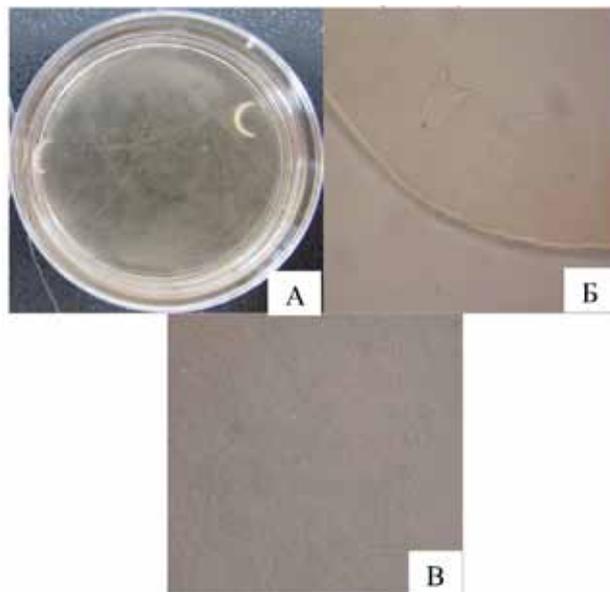


Рис. 4. *Micor racemosus*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и отсутствие инвазии гриба в чешуйки ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

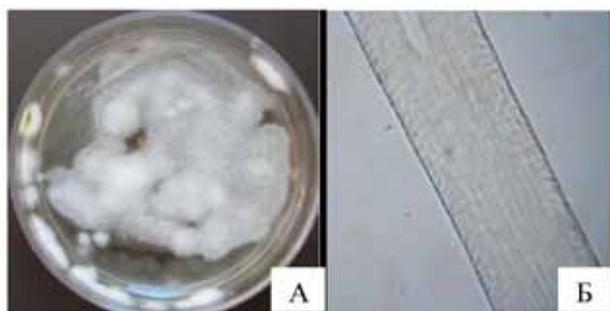


Рис. 5. *Penicillium commune*. Рост на среде с кератином (А), здоровый волос (Б) и отсутствие мицелия в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400.

Aspergillus nidulans (Рис.6) и *Acremonium hyalinulum* (Рис. 7) были сравнимы по оцениваемым показателям (++).

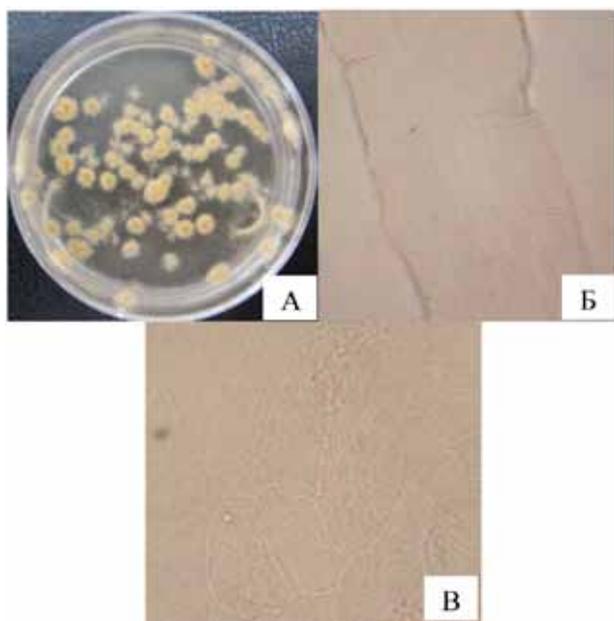


Рис. 6. *Aspergillus nidulans*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и наличие мицелия в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

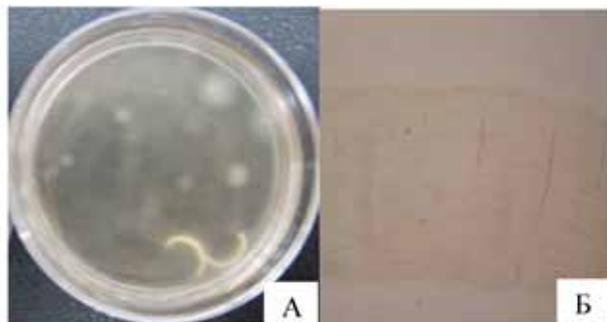


Рис. 7. *Acremonium hyalinulum*. Рост на среде с кератином (А), измененный волос (Б) и наличие тонкого мицелия (1,5 мкм) в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Штаммы *Aspergillus versicolor* (557, 514, 290) были умеренно активными в отношении волос и, как правило, неактивными – в отношении инвазии ногтевой пластины. Хотя *A. versicolor* 557 (Рис. 8.) перфорирует волос (+++) и эрозирует кутикулу волоса (++), размножение этого штамма в ноге оценивали как низкое (+). Примерно такую же картину отмечали в ноге для *A. versicolor* 290 (Рис. 9), однако, в отличие от предыдущего штамма, перфорация волос отсутствовала при наличии их слабой эрозии. Для 514-го штамма *A. versicolor* (Рис. 10) было характерно разрушение волос при отсутствии размножения в ноге.

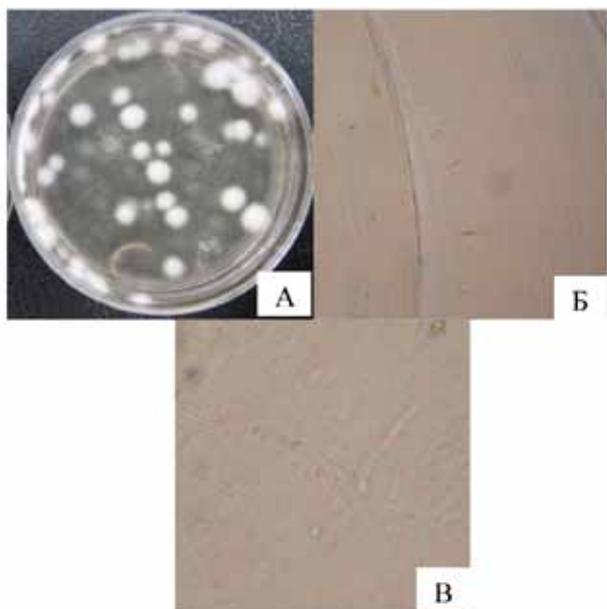


Рис. 8. *Aspergillus versicolor* 557. Рост на среде с кератином (А), поврежденный волос (Б) и наличие мицелия в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

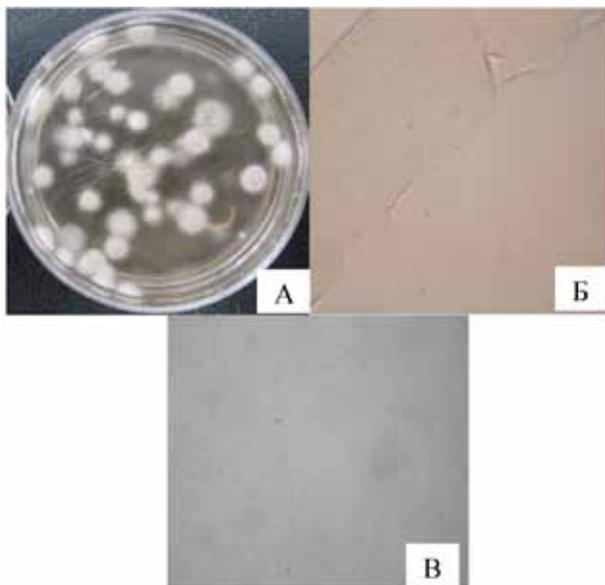


Рис. 9. *Aspergillus versicolor* 290. Рост на среде с кератином (А), поврежденный волос (Б) и отсутствие инвазии гриба в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

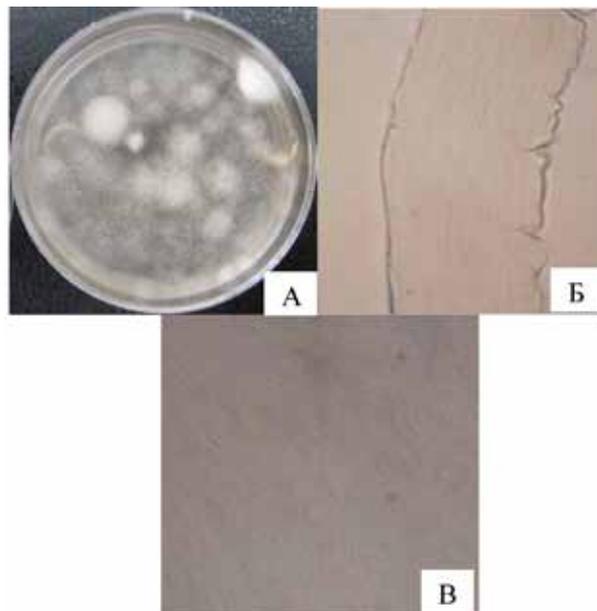


Рис. 11. *Aspergillus terreus*. Рост на среде с кератином (А), поврежденный волос (Б) и отсутствие инвазии гриба в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

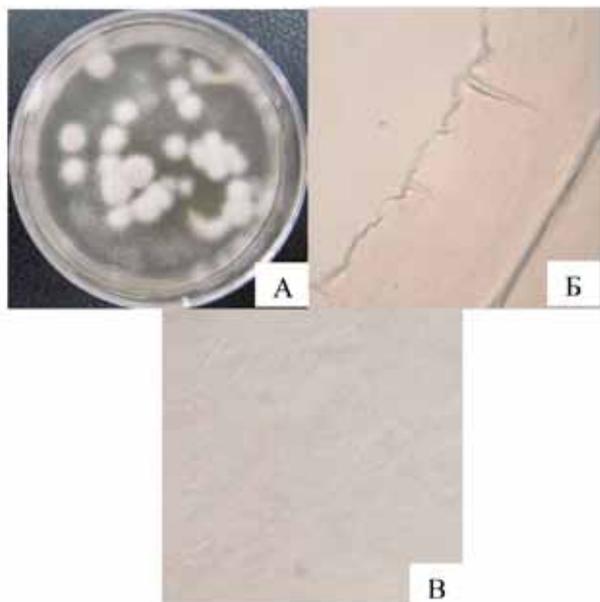


Рис. 10. *Aspergillus versicolor* 514. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и отсутствие размножения гриба в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Несмотря на то, что разрушительная активность *Aspergillus terreus* (Рис. 11) и *Trichophyton interdigitale* в отношении волоса была оценена как очень высокая, следует отметить разный характер поражения волоса. Так, *T. interdigitale* практически «пробуравливает» волос, тогда как *Aspergillus terreus* сильно изменяет конфигурацию волоса, т.е. его стенки не параллельны друг другу и сильно бугристы, а перфорация, как таковая, незначительна, однако поражение наблюдали в каждом волосе. В ногте *A. terreus* не размножался.

В результате исследования *Acremonium potronii* (Рис. 12) обнаружили высокую активность по оцениваемым показателям, сравнимую с активностью *T. interdigitale*. Примечательно, что *Fusarium oxysporum* 566 (Рис. 13) не перфорирует волосы при высокой поверхностной эрозии и обильном размножении в ногтевой пластине. Для *F. oxysporum* 671 (Рис. 14) характерно не только его обильное наличие, как у предыдущего штамма, но и высокая активность в отношении перфорации волос (+++). *F. oxysporum* 39 (Рис. 15) обладает умеренной активностью по перечисленным выше показателям (++)

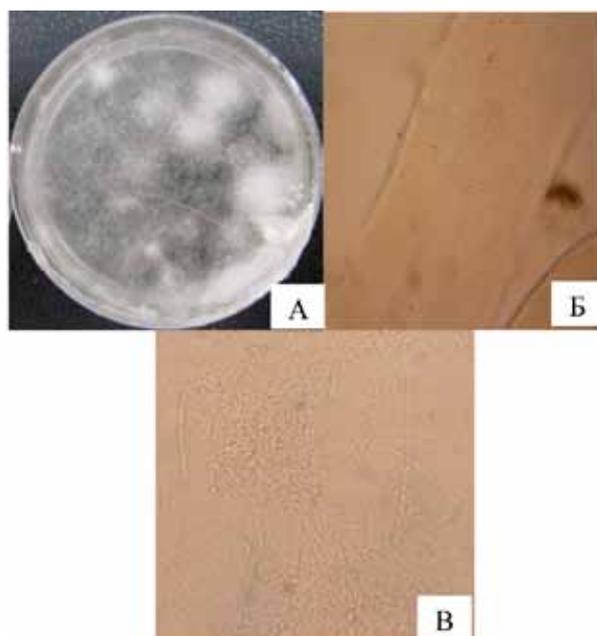


Рис. 12. *Acremonium potronii*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и обилие тонкого мицелия (2 мкм) в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

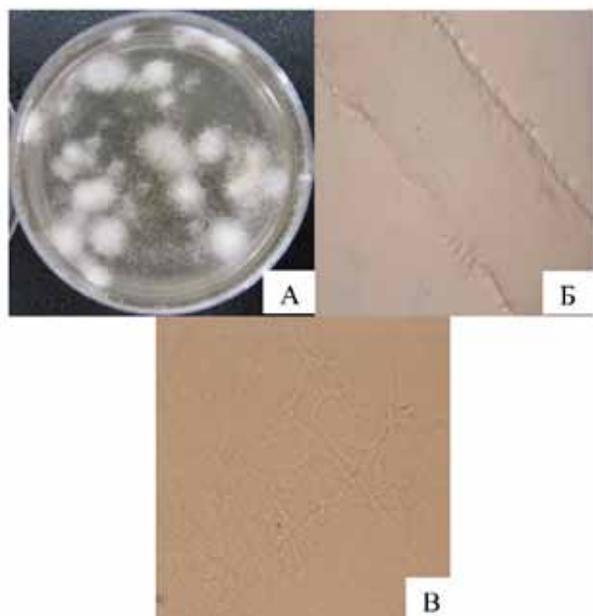


Рис. 13. *Fusarium oxysporum* 566. Рост на среде с кератином (А), поверхностная эрозия волоса (Б) и обилие широкого мицелия (3 мкм) в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

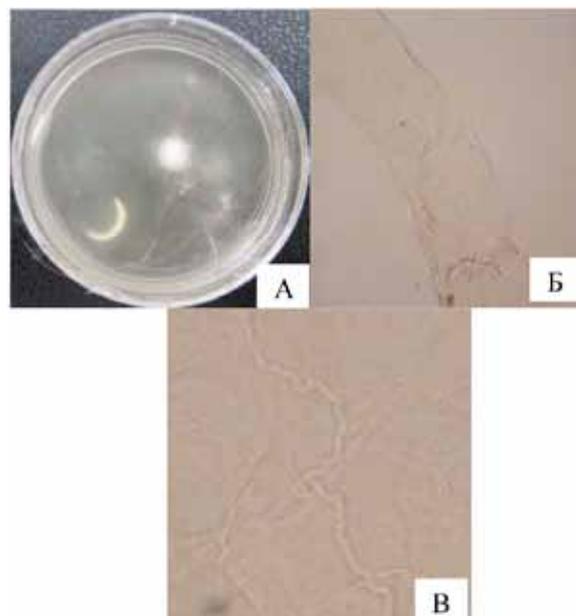


Рис. 15. *Fusarium oxysporum* 39. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и мицелий в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

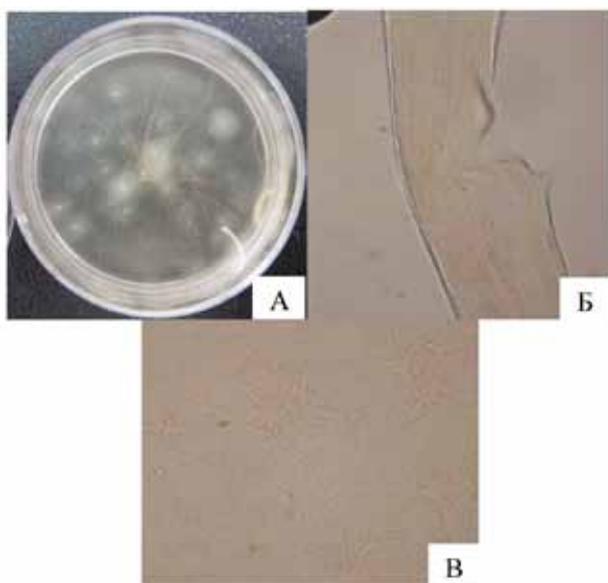


Рис. 14. *Fusarium oxysporum* 671. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и обилие широкого мицелия (4 мкм) в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

При оценке дрожжевых микромицетов, установлено, что почти все дрожжи оказались малоактивными в отношении волоса (в основном, это была поверхностная эрозия в виде лизиса кутикулы и небольшого изменения структуры волоса) и неактивными в отношении ногтевой пластины (единичные, редко почкующиеся дрожжевые клетки, которые вызывают сомнение в действительном размножении внутри ногтя), за исключением штамма *Candida albicans* 362 (Рис. 16). Этот штамм отличали высокая перфорирующая активность по отношению к волосу (+++), способность к лизису кутикулы и размножение в ногте (скопление активно почкующихся клеток).

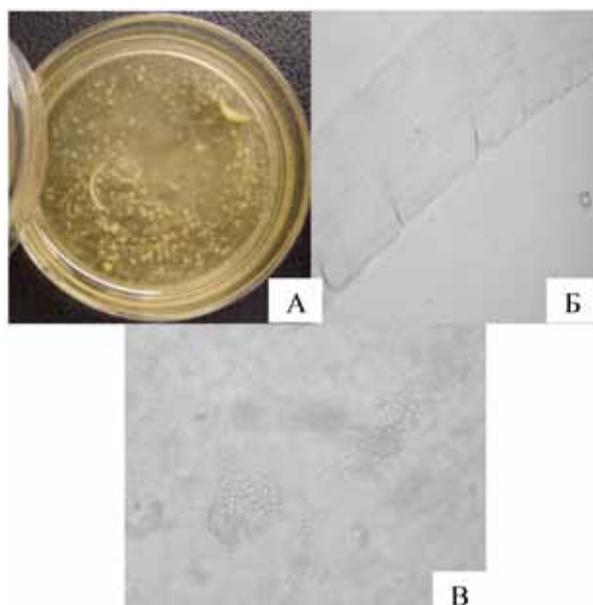


Рис. 16. *Candida albicans* 362. Рост на среде с кератином (А) перфорация волоса (Б) и активно почкующиеся клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Trichosporon mucoides (Рис. 17) обнаруживали в ногтевой пластине редко (+), однако сомнений о том, что гриб размножается именно внутри ногтя не было, т.к. наблюдали растущий мицелий, наряду с единичными почкующимися клетками. *T. mucoides* так же, как и *Candida albicans* 499 (Рис.18) и *C. parapsilosis* 504 (Рис.19), перфорировали волос с умеренной активностью (++).

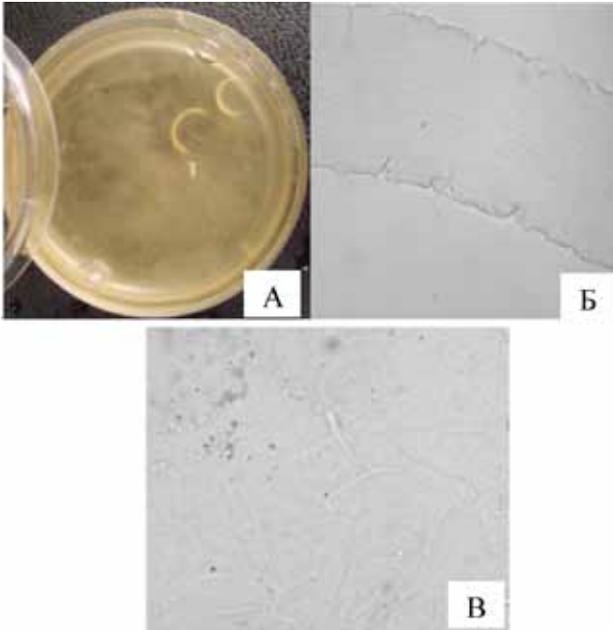


Рис. 17. *Trichosporon mucoides*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и мицелий в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

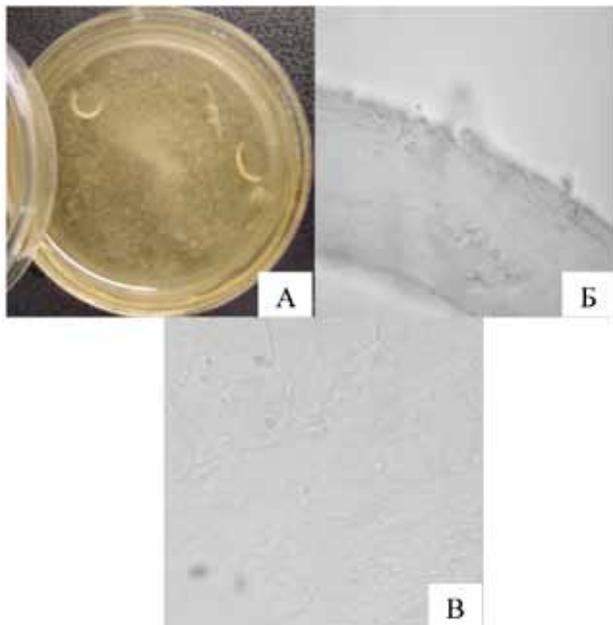


Рис. 18. *Candida albicans* 499. Рост на среде с кератином (А), измененный волос (Б) и единичные клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

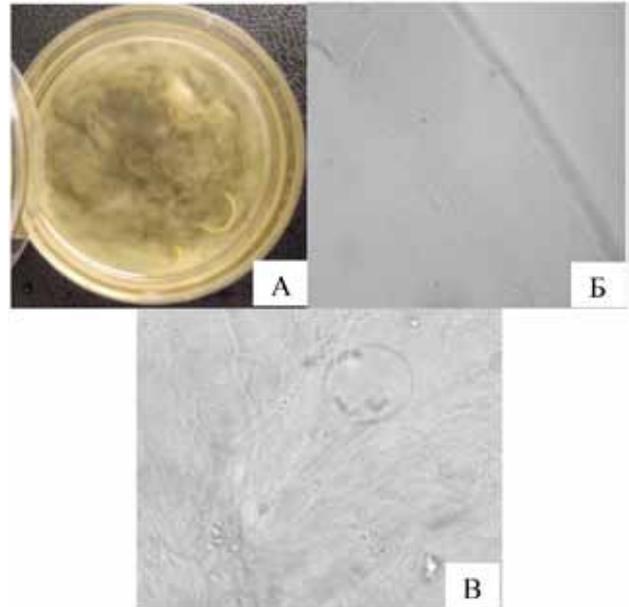


Рис. 19. *Candida parapsilosis* 504. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и почкующиеся клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

Candida parapsilosis 614 (Рис. 20), *Candida lusitanae* (Рис. 21) и *Candida dubliniensis* (Рис. 22) изменяли структуру волоса (+++), однако наличие их в ногте регистрировали редко, в единичных полях зрения, равно как и у остальных дрожжевых организмов.

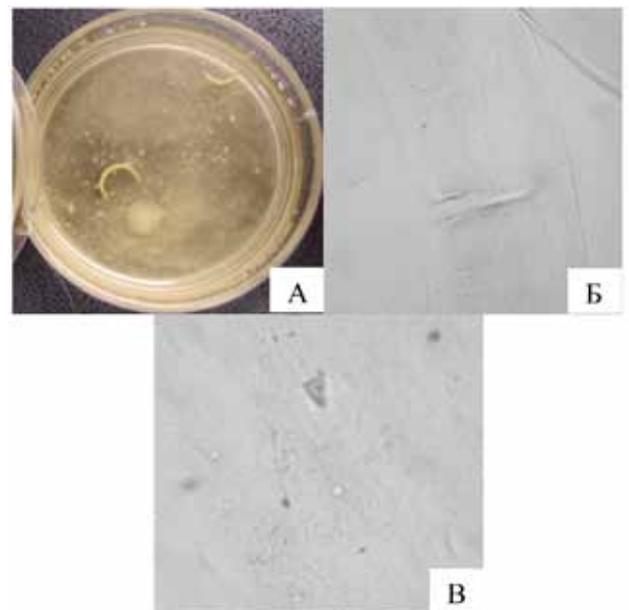


Рис. 20. *Candida parapsilosis* 614. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и единичные клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

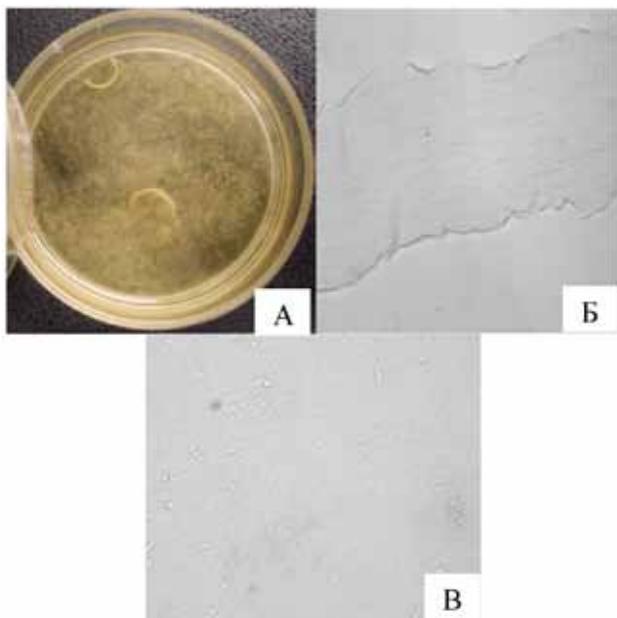


Рис. 21. *Candida lusitanae*. Рост на среде с кератином (А), сильно измененная структура волоса (Б) и почкующиеся клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

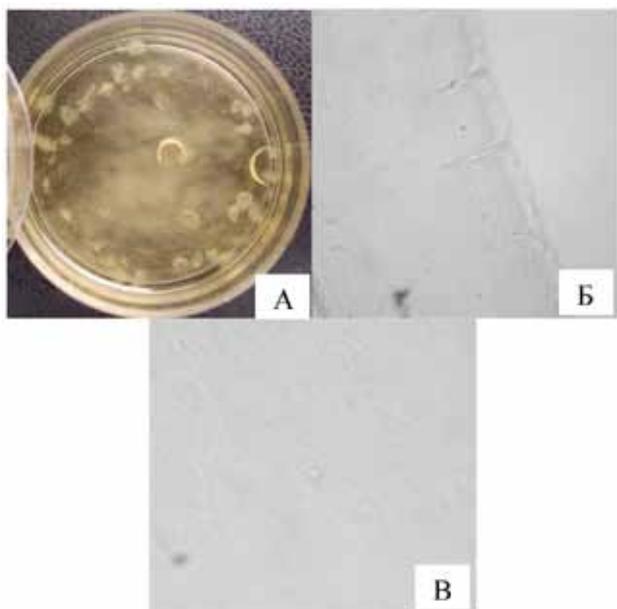


Рис. 22. *Candida dubliniensis*. Рост на среде с кератином (А), перфорация волоса (Б) и единичные клетки в чешуйках ногтевой пластины (В). Световая микроскопия (раствор 10% KOH и DMSO). Увеличение x 400

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным научной литературы [12], среди высокоактивных кератинолитиков – микромицетов, способных образовывать инвазивные структуры, вызывающие радиальную пенетрацию и поверхностную эрозию волоса одновременно, выделяют *Chrysosporium keratinophilum*, *Microsporium gypseum*, *Penicillium frequentas*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichophyton ajelloi*. *Acremonium* sp., *Aspergillus carneus*, *Nectria inventa*, *Penicillium citrinum*, *Paecilomyces varioti*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Verticillium nubilum* не проявляли такой активности. Эти же авторы впервые

описали кератинолитическую активность по аналогичным критериям у следующих грибов: *Acremonium strictum*, *Chrysosporium pannorum*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium tricinctum*, *Gliocladium viride*, *Humicola fuscoatra* var. *fuscoatra*, *Nectria ventricosa*, *Penicillium griseofulvum*, *P. islandicum*, *Verticillium catenulatum*, *V. psalliotae*. Также к высокоактивным видам в отношении перфорации и эрозии относят *Scopulariopsis brevicaulis* [11], *Chrysosporium georgiae*, *C. lucknowense*, *C. queenslandicum* и *C. tropicum* [5].

Что касается других методов исследования кератинолитической активности, то были проанализированы дерматомицеты на предмет лизиса кератина на плотной среде вокруг колоний. Установлено, что *T. verrucosum* дает рост маленьких колоний (около 2 мм в диаметре), но при этом широкую зону лизиса (22–26 мм в диаметре), в связи с этим считают, что вид активен в секреции ферментов, разрушающих кератин. Большинство же штаммов формировали колонии 10–40 мм в диаметре, в то время как диаметр зоны лизиса был либо равен диаметру колонии, либо — немногим больше [7]. Ряд других авторов исследовали, кроме дерматомицетов, и другие грибы. Среди них по широкому диаметру лизиса вокруг колоний лидерами являлись виды рода *Chrysosporium* (*C. indicum*, *C. keratinophilum*, *C. tropicum*, *C. queenslandicum*, *C. georgiae*, *C. luteum*, *C. pannicola*). Для видов рода *Microsporium* характерны очень маленькие зоны лизиса, хотя рост на среде с нативным кератином был обильным. *Trichophyton* spp., в сравнении с *Microsporium* spp., отличался более высокой активностью в образовании зон лизиса и слабым ростом на среде с кератином. Активными из них были *Trichophyton mentagrophytes* и *T. equinum*. *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. не образовывали зоны лизиса, что может свидетельствовать об отсутствии у них кератинолитической активности [13]. При сравнении результатов, полученных этим методом и определением кератинолитической активности с помощью спектрофотометра, установили, что *Acremonium* spp. и *Geotrichum* sp. образуют широкие зоны лизиса – на всю чашку, однако кератиназная активность, оцениваемая биохимическим методом, равна нулю. И, наоборот, для *Aspergillus flavus* характерна высокая, в сравнении с другими грибами, ферментативная активность (781 мЕд/мл), но зоны лизиса на чашках не слишком большие [14]. Показано, что *Aspergillus niger* и *Trichoderma viride* образуют широкую зону лизиса (Ø10 и 9,5 мм соответственно), но при низкой кератинолитической активности (0,66 и 0,27 КЕ/мл соответственно)***. Однако авторы выделяют два рода, имеющие наивысшие значения как зон лизиса, так и ферментативной активности. К ним относят *Scopulariopsis brevicaulis* и *Trichophyton mentagrophytes* (зоны лизиса 10 и 11,5 мм в диаметре, и 1,9 и 1,7 КЕ/мл соответственно). При исследовании кератинолитической активности методом подщелачивания среды выяснили, что оба вида изменяли

*** КЕ – единица кератиназной активности.

pH с 7,5 до 8,7 на солевой среде с перьями домашних птиц [8].

Индийские ученые [15] сравнили несколько методов: содержание цистина и белка в среде, определение кератинолитической активности с помощью спектрофотометра и определение pH центрифугата. По содержанию цистина наиболее активен *Chrysosporium* spp. (от 28 мкг/мл), белка *Scopulariopsis brevicaulis* (65 мкг/мл) и *Chrysosporium pannorum* (56 мкг/мл), по кератинолитической активности – *Chrysosporium keratinophilum* (12,5 КЕ/мл), и наименее активен – *Microascus manganii* (4,0 КЕ/мл). Исследуемые грибы, за исключением *M. manganii*, защелачивали среду, в которой они росли [15]. При оценке результатов несколькими методами [16] (определение конечного pH среды, содержание в среде белка, цистина и внеклеточной кератиназы) максимальные изменения pH были вызваны *Chrysosporium queenslandicum* (9,2), минимальные – *Sepedonium maheshwarianum* (7,9). По количеству высвобождаемого в среду цистина максимальные значения установлены для *Chrysosporium tropicum* (27 мкг/мл) и *Malbranchea chrysosporoidea* (26 мкг/мл), минимальные – для *Sepedonium maheshwarianum* и *Aspergillus flavus* (10 мкг/мл). Максимум белка в среде обнаруживали у *Scopulariopsis brevicaulis* (60 мкг/мл) и *Chrysosporium tropicum* (54 мкг/мл), минимум – у *Chaetomium globosum* и *Curvularia lunata* (24 мкг/мл). Содержание внеклеточной кератиназы было максимальным у *Chrysosporium keratinophilum* (12 КЕ/мл) и *Ch. tropicum* (11,3 КЕ/мл), минимальным – у *Chaetomium globosum* (5,5 КЕ/мл). Как следует из вышесказанного, совпадения результатов, полученных разными методами, имели место для некоторых культур.

Многие штаммы микромицетов, протестированные другими авторами на кератинолитическую активность с помощью кератин азур, давали очень быстрый результат (окраска появлялась в течение недели). Однако несколько изолятов, известных *a priori* как кератинолитики, показали негативную реакцию по разрушению кератина в течение 4-х недель инкубации и, только по истечении 6 недель, давали слабую положительную реакцию (например, *Trichophyton rubrum*). Густота роста гриба на этой среде не была взаимосвязана со степенью окрашивания среды. Например, *Amauroascus purpureus* давал хорошее окрашивание среды при отсутствии видимого роста и, наоборот, *Chrysosporium vollenarense*

давал хороший рост, но без окрашивания среды [9].

С помощью этого метода было протестировано 20 штаммов из семейства *Arthrodermataceae*, выделенных из кератиновых субстратов. По некоторым данным, 14 из них разрушали волос перфорацией или эрозией. В основном, это члены рода *Microsporum* с позитивным тестом на перфорацию волоса и, как правило, с позитивным тестом с кератин азуром после 7 дней инкубации. *Trichophyton* spp. медленнее реагировал на кератин азур с тенденцией к положительному результату между 7 и 28 днями инкубации. Ни один из тестируемых членов семейств *Gymnoascaceae* (5 видов) и *Trichocetaceae* (6 видов) не давал положительного результата с тестами ни на перфорацию волоса, ни на эрозию.

30% тестируемых видов порядка *Onygenales* (исследовали 24 вида) дали положительную реакцию с кератин азуром в течение 7 дней инкубации, после 28 дней процент возрос до 39. Также были исследованы *Chaetomium globosum*, *Pochonia chlamydosporia* и *Schizophyllum commune*. Первые два вида, хотя и образуют органы перфорации на волосе, но ни один из перечисленных трех не окрашивал среду с кератин азуром [9].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что универсального метода определения кератинолитической активности не предложено до настоящего времени, т.к. ни один из этих методов, ни при использовании нескольких методов не давали сравнимых результатов по кератинолитической активности гриба.

На основании данных настоящего исследования кератинолитической активности микромицетов можно заключить, что наиболее активными были дерматомицеты как в отношении волос, так и ногтевых пластин. Нитчатые недерматомицеты обладали высокой, умеренной или низкой активностью, дрожжевые организмы – высокой или умеренной, за исключением низкого показателя инвазии в ногтевую пластину. Наряду с этим, необходимо помнить о межштаммовых различиях микромицетов.

Следовательно, инвазия гриба вглубь здоровой ногтевой пластины является ярким показателем способности микромицета поражать кератинизированные ткани и может служить одним из критериев определения патогенности микромицета в свете оценки результатов культурального исследования поражения ногтевых пластин при онихомикозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Н.В., Разнатовский К.И., Котрехова А.П. и др. Этиология онихомикоза стоп в г. Санкт-Петербурге и г. Москве. Результаты проспективного открытого многоцентрового исследования //Ж.Проблемы мед. микологии. – 2009 – Т.11, №2. – С. 14-18.
2. Сергеев А.Ю. Грибковые заболевания ногтей: 2-е изд. – М.: «Национальная академия микологии», 2007. – 156 с.
3. Baran R., et al. Onychomycosis. The current approach to diagnosis and therapy. 2nd edition, 2006.
4. Gradisar H., Friedrich J., Krizaj I. and Jerala R. Similarities and Specificities of Fungal Keratinolytic Proteases: Comparison of Keratinases of *Paecilomyces marquandii* and *Doratomyces microsporus* to Some Known Proteases// Appl. and Env. Microbiol. – 2005. – P. 3420-3426.

5. *Mitola G., Escalona F., Salas R., et al.* Morphological characterization of *in-vitro* human hair keratinolysis, produced by identified wild strains of *Chrysosporium* species//Mycopathologia. – 2002. – Vol.156. – P.163-169.
6. *Kushwaha R.K.S. and Gupta P.* Relevance of keratinophilic fungi//Current Science.– 2008. –Vol. 94, №6.
7. *Wawrzekiewicz K., Wolski T. & Lobarzewski J.* Screening the keratinolytic activity of dermatophytes in vitro// Mycopathologia. – 1991. – Vol.114. – P. 1-8.
8. *Anbu P., Gopinath S.C.B., Hilda A., et al.* Secretion of keratinolytic enzymes and keratinolysis by *Scopulariopsis brevicaulis* and *Trichophyton mentagrophytes*: regression analysis// Can. J. Microbiol. – 2006. – Vol.52. – P. 1060–1069.
9. *Scott J.A. & Untereiner W.A.* Determination of keratin degradation by fungi using keratin azure// Med. Mycology. – 2004. – Vol. 42. – P. 239-246.
10. *Shu-hui Tan C., Hoekstra E.S. and Samson R.A.* Fungi that cause superficial mycoses. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. In collaboration with the Dr. Paul Janssen Medical Institute. – 1994. – P.108.
11. *Marchisio V.F., Fusconi A. and Querio F.L.* *Scopulariopsis brevicaulis*: a keratinophilic or a keratinolytic fungus? // Mycoses. – 2000. – Vol.43. – P. 281-292.
12. *Gupta R., Ramnani P.* Microbial keratinases and their perspective applications: an overview// Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – Vol.4.- P.1-13.
13. *El-Naghy M. A., El-Ktatny M.S., Fadel-Allah E.M. & Nazeer W.W.* Degradation of chicken feathers by *Chrysosporium georgiae*// Mycopathologia. – 1998. – Vol.143. – P. 77-84.
14. *Friedrich J., Gradišar H., Mandin D. and Chaumont J.P.* Screening fungi for synthesis of keratinolytic enzymes// Letters in Applied Microbiology. – 1999. – Vol.28. – P. 127-130.
15. *Kaul S. & Sumbali G.* Keratinolysis by poultry farm soil fungi // Mycopathologia. – 1997. – Vol.139. – P. 137-140.
16. *Kaul S. & Sumbali G.* Production of extracellular keratinases by keratinophilic fungal species inhabiting feathers of living poultry birds (*Gallus domesticus*): A comparison // Mycopathologia. – 1999. – Vol.146. – P. 19-24.
17. *de Hoog G.S. et al.* Atlas of clinical fungi. Atlas version 2009.05 CBS, Universitat Rovira i Virgili. 2009.

Поступила в редакцию журнала 30.06.2010

Рецензент: Богомолова Т.С.



КОНГРЕССЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

INTERNATIONAL MEETING ON EMERGING DISEASES AND SURVEILLANCE

FEBRUARY 4-7, 2011, VIENNA, AUSTRIA

МЕЖДУНАРОДНОЕ СОВЕЩАНИЕ ПО ВОПРОСАМ ВОЗНИКАЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЯ И НАБЛЮДЕНИЯ

4-7 ФЕВРАЛЯ, 2011, ВЕНА, АВСТРИЯ

Preliminary Program: The preliminary program will be available in July 2010.

It will be found at <http://imed.isid.org>

Abstract Submission: The deadline for abstract submission is December 1, 2010

For further information contact:

International Society for Infectious Diseases

1330 Beacon Street, Suite 228

Brookline, MA 02446 USA

Phone: (6 17) 277-055

Fax: (6 17) 278-9113

E-mail: info@isid.org

<http://imed.isid.org>

21ST EUROPEAN CONGRESS OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES (ECCMID)/

27TH INTERNATIONAL CONGRESS OF CHEMOTHERAPY (ICC)

7-10 MAY 2011, MILAN, ITALY

21 ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС ПО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ /

27 МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС ПО ХИМИОТЕРАПИИ

7-10 MAY 2011, МИЛАН, ИТАЛИЯ

Call for Papers

Deadline for submission of abstracts: 21 December 2010

Preliminary Programme

The Preliminary Programme will be available in September 2010 and will include information on abstract submission, registration and hotel reservation. Please return the attached card to receive the Preliminary Programme.

Administrative Secretariat

21th ECCMID/27th ICC 2011

c/o Congress Switzerland

Association House

Freie strasse 90

4002 Basel, Switzerland

Phone +41 61 686 77 11

Fax +41 61 686 77 88

E-mail: basel@congress.com

www.escmid-icc2011.org

Scientific Secretariat

21th ECCMID/27th ICC 2011

c/o ESCMID Executive Office

Association House

Freie strasse 90

4002 Basel, Switzerland

Phone +41 61 686 77 99

Fax +41 61 686 77 98

E-mail: eccmid@escmid.org

5TH TRENDS IN MEDICAL MYCOLOGY

2-5 OCTOBER 2011

VALENCIA, SPAIN

5 КОНФЕРЕНЦИЯ «ТЕНДЕНЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

2-5 ОКТЯБРЯ 2011

ВАЛЕНСИЯ, ИСПАНИЯ

Congress secretariat:

P.O. Box 440, 5201 AK's-Hertogenbosch

The Netherlands

Tel +31-73- 690-1415, Fax+31-73-690-1417

info@congresscare.com, www.congresscare.com

**ESCMID (EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL MICROBIOLOGY
AND INFECTIOUS DISEASES)
ЕВРОПЕЙСКОЕ ОБЩЕСТВО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ
И ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Postgraduate education courses and workshops in 2010-2011

Посдипломные образовательные курсы и практические занятия в 2010-2011 гг.

2-4 Sep.2010: **An Infection That Will Never Be out of Date: Influenza**

(Istanbul, Turkey) ESCMID Postgraduate Education Course

2-4 Sep.2010: **Инфекции, которые никогда не устареют: грипп**

(Стамбул, Турция) ESCMID курс последипломного образования

6 - 8 Sep. 2010: **Meningitis 2010**

(Izmir, Turkey) ESCMID Postgraduate Education Course

6 - 8 сентября 2010: **Менингиты 2010**

(Измир, Турция) ESCMID курс последипломного образования

18 Sep. 2010: **Antimicrobial Chemotherapy in Daily Practice**

(Barcelona, Spain) GRACE Postgraduate Education Course

18 сентября 2010: **Антимикробная химиотерапия в повседневной практике**

(Барселона, Испания) GRACE курс последипломного образования

27-30 Sep. 2010: **Antimicrobial Susceptibility Testing and Surveillance: from Laboratory to Clinic - the EUCAST and ESGARS Perspective** (Madrid, Spain) ESCMID Postgraduate Education Course

27-30 сентября 2010: **Тестирование антимикробной чувствительности и наблюдение: из лаборатории в клинику - EUCAST и ESGARS перспектива** (Мадрид, Испания) ESCMID курс последипломного образования

3-7 Oct. 2010: **Infectious Diseases in Pregnant Women, Fetuses and Newborns**

(Bologna area, Italy) ESCMID Postgraduate Education Course

3-7 октября 2010: **Инфекционные заболевания у беременных женщин, плода и новорожденного**

(Болонья области, Италия) ESCMID курс последипломного образования

2 - 5 Nov. 2010: **Intracellular Bacteria: from Biology to Clinic**

(Sousse, Tunisia) ESCMID Postgraduate Education Course

2 - 5 ноября 2010: **Внутриклеточные бактерии: от биологии до клиники**

(Сус, Тунис) ESCMID курс последипломного образования

4-5 Nov. 2010: **Hot Topics in Lower Respiratory Tract Infections**

(Budapest, Hungary) GRACE Workshop

4-5 ноября 2010: **Горячие темы в инфекций нижних дыхательных путей**

(Будапешт, Венгрия) GRACE семинар

18 - 19 Feb. 2010: **Invasive Fungal Infections** (Rome, Italy) ESCMID Conference

18 - 19 февраля 2010: **Инвазивные грибковые инфекции** (Рим, Италия) ESCMID конференция

Oct. 2010: **Salmonella** (Villars-sur-Ollon, Switzerland) ESCMID/FEMS Conference

Октябрь 2010: **Сальмонелла** (Виллар-сюр-Оллон, Швейцария) ESCMID / FEMS конференции

7-10 May 2011: **21st ESCMID/27th ICC** (Milan, Italy)

7-10 мая 2011: **21 ESCMID/27 ICC** (Милан, Италия)

3 -9 Jul. 2010: **9th ESCMID Summer School** (Cappadocia, Turkey)

3 -9 июля 2010: **9 ESCMID Летняя школа** (Каппадокия, Турция)

Summer 2011: **10th ESCMID Summer School** (Treviso, Italy)

Лето 2011: **10 ESCMID Летняя школа** (Тревизо, Италия)

Information

ESCMID Executive Office, c/o Congrex Switzerland Ltd

Association House, P.O. Box, 4002 Basel, Switzerland

Phone + 41 61 686 77 99

Fax + 41 61 686 77 98

www.escmid.org

info@escmid.org

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Журнал «Проблемы медицинской микологии» нацелен на публикацию оригинальных, ранее не опубликованных в других изданиях в России или за рубежом, статей, научных обзоров, дискуссий, рецензий на книги, методических разработок, хроники и информации. Предварительные сообщения не принимаются. Статьи необходимо сопровождать направлением от учреждения (-й), в котором (-ых) выполнена работа.

Каждый автор может представить не более 2-х статей в один номер журнала.

Статьи представляются на русском языке с обязательным расширенным резюме на английском языке объемом не более 20 строк. Можно представлять статьи на английском языке с рефератом на русском языке в объеме до 20 строк.

Статьи представляются в редакцию по почте с приложением диска (с распечаткой текста на бумаге в 2-х экземплярах) или по электронной почте (mycobiota@spbmapo.ru), подготовленными в текстовом редакторе Win Word. Статьи должны быть напечатаны шрифтом № 12 через 1,5 интервала. Все страницы должны быть пронумерованы.

Размер рукописей не должен превышать 12 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы, фотографии и подписи к ним, список цитированной литературы, представляемые на отдельных листах. Количество иллюстраций не должно превышать двух страниц при их плотном размещении друг к другу.

Рукопись статьи подписывается автором (соавторами), на отдельной странице написать ф.и.о. (полностью) одного из авторов, его должность, адрес электронной почты (для связи) и номер телефона.

Правила оформления статей:

Сначала пишется название статьи заглавными буквами (шрифт 12 – жирный). Затем через 2 интервала указываются фамилии авторов, инициалы и должности (шрифт 12 – жирный). Далее через 2 интервала пишется название учреждения, в котором выполнена работа. Затем через 2 интервала печатать резюме на русском языке (без написания слова «резюме»). Через 2 интервала указать до 7 ключевых слов. Затем через 2 интервала (шрифт – 12) пишется заголовок на английском языке, фамилии, инициалы и должности автора (-ов), резюме (без написания слов «abstract, summary») и ключевые слова (не более 7).

Затем через 3 интервала и с красной строки печатать текст статьи в следующем порядке: краткое

введение, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы, цитированная литература.

Латинские названия грибов необходимо писать курсивом; если в заголовке названы род и вид гриба, то после него следует указывать автора, впервые писавшего вид (например, *Aspergillus fumigatus* Fres.); в тексте такая форма уже не повторяется и при повторном упоминании гриба название рода сокращают до первой буквы (например, при первом написании в тексте *Aspergillus fumigatus*, при повторениях — *A. fumigatus*).

Автор (-ы) вида должен (-ны) быть указан (-ы) не только в заголовке к статье, но и при первом упоминании в тексте (если нет этого в заголовке) и в возможном списке видов. В подписях к рисункам и в надписях к таблицам полные названия рода и вида приводятся один раз.

Названия учреждений при первом упоминании в тексте даются полностью, и сразу же в скобках приводят их принятые сокращения, которыми пользуются в последующем тексте статьи, например, Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования (ГОУ ДПО СПб МАПО), Московская государственная медицинская академия им. И.М. Сеченова (ММА им. Сеченова) и т.д.

Четко писать и различать О, о, и 0 (нуль), 1 и I (единицу и заглавную латинскую И), I и J, q и g, заглавные буквы О по-русски и Q по-английски. Подстрочные примечания должны иметь сквозную нумерацию по всей статье. Содержание таблиц не должно дублировать текст. Таблицы должны иметь порядковые номера, если их больше одной. Текст таблиц печатать через 2 интервала.

Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и т.д.), названия лекарственных средств - Государственной Фармакопее, единицы физических величин - международной системе единиц (СИ).

В тексте при ссылке на работу иностранных авторов их фамилии приводятся в русском написании и рядом в скобках — в оригинальном написании с указанием года опубликования работы, например: «Штайб (Staib, 1992) наблюдал...». Ссылки на работы располагать в хронологическом порядке годов опубликования работ.

Литература, упоминаемая в тексте (не должна быть старше 10 лет), приводится списком в конце статьи в том порядке, в котором она цитирована в тексте работы; соответствующие номера статей проставляются в тексте в квадратных скобках.

Рисунки (фото) должны иметь порядковые номера, на которые следует ссылаться в тексте статьи. Рисунки (фото) прилагаются в отдельном конверте (фотоснимки — в двух экземплярах) или в электронном виде. На микрофотографиях изображается масштаб, в подписях к ним необходимо указывать собственные увеличения объектива и окуляра, и, возможно, коэффициент усиления увеличения за

счет дополнительных оптических приспособлений (например, для некоторых бинокулярных микроскопов × 1,5). На обороте рисунка указываются мягким карандашом без нажима фамилия автора, номер и желательное — уменьшение рисунка (фото), верх рисунка.

Для статей, написанных на английском языке, литература, цитируемая в тексте и приводимая в списке, должна быть представлена в английском переводе, например: *Брондз Б.Д.* Т-Лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании. — М.: Наука, 1987. — 472 с. *Brondz B.D.* T-Lymphocytes and their receptors in the immunological recognition. — Moscow: Science, 1987. — 472 p. (in Rus).

Оформление списка литературы.

Для книг указываются фамилии и инициалы авторов, название книги, место издания (город), издательство, год, общее количество страниц, например: *Беккер Э.Э.* Физиология и биохимия грибов. — М.: Изд-во МГУ, 1988. — 216 с. Для статей, опубликованных в журналах, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы статьи, например: *Антонюк В. А.* Характеристика лектина из плодовых тел *Boletus Luridus* Schff.ex, Fr. // Микология и фитопатология. — 1997. — Т. 31, Вып. 1. — С. 35-41.

Для статей, опубликованных в сборниках, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название сборника, место издания (город), издательство, год, первая и последняя страницы статьи, например: *Пармасто Э.* Жизненные формы высших

базидиальных грибов // Проблемы изучения грибов и лишайников. — Таллинн: Изд-во АН ЭССР, 1965. — С. 64-68.

Для авторефератов диссертаций, например: *Аванесов С. Г.* Биологические основы отбора вирулентных штаммов энтомопатогенного гриба *Verticillium lecanii* Zimm: Автореф. дисс...канд. биол. наук. — Л., 1987. — 19 с.

Редакция оставляет за собой право сокращать статьи и вносить редакционные исправления.

В случае возвращения автору рукописи статьи на переработку дата ее поступления сохраняется в течение 4 месяцев. При отклонении работы статья не подлежит возвращению автору.

В конце статьи, принятой к публикации, приводится фамилия рецензента.

Частота выпуска журнала: 1 номер в квартал, 1 том в год.

Все статьи публикуются БЕСПЛАТНО.

По вопросам размещения рекламы обращаться по адресу редакции (см. ниже).

Вся корреспонденция направляется по адресу: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28, НИИ ММ им.П.Н.Кашкина СПб МАПО.

Тел: (812) 303-51-45;

тел./факс: (812) 510-62-77

E-mail: mycobiota@spbmapo.ru;

egukova@mail.ru

Заведующая редакцией: Гукова Елена Станиславовна

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ СТАТЕЙ!

Направляя статью для размещения в журнале ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (далее – Академия) «Проблемы медицинской микологии» автор статьи предоставляет Академии право использовать статью в любой форме и любым способом, предусмотренными п. 2 ст. 1270 Гражданского Кодекса Российской Федерации, в том числе: воспроизведение статьи; распространение статьи путем продажи или иного отчуждения его оригинала или экземпляров; сообщение в эфир; сообщение по кабелю; перевод или другая переработка статьи; доведение статьи до всеобщего сведения; передача права использования статьи третьим лицам (сублицензионный договор); извлечение и обработка метаданных статьи.

Автор статьи гарантирует, что он является обладателем передаваемых Академии прав (правообладателем). Территория, на которой допускается использование прав на статью, не ограничена.

Передача прав на статью осуществляется без выплаты автору статьи вознаграждения.

Академия вправе использовать статью в течение срока действия исключительного права правообладателя на статью.

Автор предоставляет Академии право обработки своих персональных данных.

В связи с вышеизложенным, редакционная коллегия журнала «Проблемы медицинской микологии» просит авторов, **вместе с сопроводительным письмом от организации, присылать бумагу с текстом следующего содержания:**

«Направляя статью для размещения в журнале ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (далее – Академия) «Проблемы медицинской микологии» я _____ (указать ФИО) предоставляю Академии право использовать мою статью _____ (название статьи) в любой форме и любым способом, указанным в «Правилах предоставления рукописей авторами» журнала «Проблемы медицинской микологии».

Сопроводительное письмо к статье должно быть написано и подписано собственноручно автором статьи.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ЦИКЛОВ НА 2010 Г.

Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии

Зав. кафедрой профессор Н.Н. Климко

Адрес: г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28

Адрес базы кафедры: НИИ ММ им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28

телефон, факс: (812) 303-51-46

№	Название цикла	Вид обучения	Продолжительность цикла (месяцы)	Число слушателей	Сроки проведения циклов
532	Клиническая микология. Подготовка и прием экзамена на сертификат специалиста (для врачей лечебного профиля детских и взрослых ЛПУ с выдчей диплома и сертификата).	ПП	3,5	14	31.08-19.11
533	Сестринское дело в аллергологии. Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (для медицинских сестер).	ТУ	1	21	04.10-23.10
534	Иммунология и аллергология (для врачей лечебного профиля).	ТУ	1	21	15.11-04.12
535	Иммунология и аллергология. Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (для аллергологов и иммунологов).	ОУ	1,5	21	15.11-15.12

Кафедра лабораторной микологии и патоморфологии микозов

Зав. кафедрой профессор Н.В. Васильева

Адрес: г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28

Адрес базы кафедры: НИИ ММ им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28

телефон, факс: (812) 303-51-40; 510-62-69; 303-51-45

№	Название цикла	Вид обучения	Продолжительность цикла (месяцы)	Число слушателей	Сроки проведения циклов
557	Патоморфология инфекций (для патоморфологов)	ТУ	1	10	29.11-18.12



**Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования (СПб МАПО)
Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина (НИИ ММ) СПб МАПО**

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

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

**Saint Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education
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@spbmapo.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

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

Журнал включен в реферативный журнал и базы ВИНТИ.

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

«Ulrich's Periodicals Directory».

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

Подписано в печать 10.10.2010. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 6. Тираж 999 экз.

Уважаемые читатели журнала
«Проблемы медицинской микологии!»

Сообщаем, что открыта подписка на журнал на 1-ое полугодие 2011 года (**каталог «Роспечать»**).

Наш подписной индекс - **83006**

Периодичность – **4** номера в год.

Стоимость 1 номера – 150 руб.

Стоимость подписки на 1-ое полугодие – 300 руб.

Ф. СП-1	АБОНЕМЕНТ на газету			83006
	журнал			(индекс издания)
	<i>Проблемы медицинской микологии</i>			Количество комплектов
	на 2011 год по кварталам:			
	1	2	3	4
	Куда			
	(почтовый индекс)		(адрес)	
Кому				
(фамилия, инициалы)				



			ДОСТАВочНАЯ КАРТОЧКА	
			на газету	83006
ПВ	место	литер	журнал	(индекс издания)
<i>«Проблемы медицинской микологии»</i>				
(наименование издания)				
Стои- мость	подписки	руб. коп.		Количество комплектов:
	переадресовки	руб. коп.		
На 2011 год по кварталам:				
1	2	3	4	
Куда:				
(почтовый индекс)		(адрес)		
Кому:				
(фамилия, инициалы)				