

ЧАСТОТА ВЫДЕЛЕНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ГРИБОВ РОДА CANDIDA ОТ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФИЦИЕЙ В ИРКУТСКЕДолаана Александровна Донгак¹, Ольга Геннадьевна Карноухова¹, Галина Юрьевна Коган¹,
Любовь Алексеевна Распопина², Александр Дмитриевич Ботвинкин¹¹Иркутский государственный медицинский университет, ректор — д.м.н., проф. И.В. Малов;
²Иркутская областная инфекционная клиническая больница, гл. врач — к.м.н. В.А. Хабудаев)

Резюме. Проведено сравнительное рандомизированное исследование в двух группах пациентов: 104 больных ВИЧ-инфекцией из инфекционного стационара и 205 амбулаторных пациентов с неустановленным ВИЧ-статусом. Изучено 57 изолятов *Candida*, в том числе *C. albicans* — 73,7% и *C. non-albicans* — 22,3% (*C. krusei*, *C. glabrata* и *C. tropicalis*). Частота выделения *Candida* была выше в группе больных ВИЧ-инфекцией, в сравнении с амбулаторными пациентами: 38,5% (29,0÷48,0) против 6,8% (3,2÷10,4). Различия для *C. non-albicans* выражены сильнее. Все изоляты *C. albicans* были чувствительны к нистатину, от 45 до 62 % резистентны к флуконазолу, интраканозолу и кетаканозолу, от 10 до 46% — к амфотерицину В и клотримазолу, без статистически значимых различий между группами (χ^2 от 0,01 до 2,70).

Ключевые слова: *Candida*, лекарственная резистентность, ВИЧ-инфекция, Иркутск.

FREQUENCY OF ISOLATION AND DRUG RESISTANCE OF FUNGI CANDIDA GENUS FROM THE PATIENTS WITH HIV-INFECTION IN IRKUTSKD.A. Dongak¹, O.G. Karnoukhova¹, G.U. Kogan¹, L.A. Raspopina², A.D. Botvinkin¹
(¹Irkutsk State Medical University, Russia; ²Irkutsk Regional Infectious Clinic, Russia)

Summary. Two groups of the patients were tested in comparative randomised study: 104 hospital patients with HIV-infection and 205 outpatients with unknown HIV-status. In the study 57 strains of *Candida* were isolated: *C. albicans* — 73,7% и *C. non-albicans* — 22,3% (*C. krusei*, *C. glabrata* и *C. tropicalis*). The frequency of confirmation of *Candida* infection were greater among HIV-patients, in compare with outpatients: 38,5% (29,0÷48,0) against 6,8% (3,2÷10,4). These differences were more obvious for *C. non-albicans*. All the isolates of *C. albicans* demonstrated the sensitivity to Nystatine, 45 — 62 % had resistance to Fluconazole and Ketakanazole, 10-46% — had resistance to Amphotericine B and Clotrimazole, without statistically significant differences between the groups (χ^2 0,01-2,70).

Key words: *Candida*, drug resistance, HIV-infection, Irkutsk-city.

Проблема распространения ВИЧ-инфекции более 25 лет остается актуальной для мирового сообщества. Масштабы распространения вируса иммунодефицита человека приобрели глобальный характер и представляют реальную угрозу социально-экономическому развитию большинства стран мира [3]. Причиной летальных исходов у более 90% больных СПИДом являются вторичные заболевания, в число которых входят как оппортунистические инфекции, так и другие болезни инфекционной и неинфекционной природы, характерные для ВИЧ-инфекции [5]. Кандидоз развивается на ранних стадиях ВИЧ-инфекции (начиная с 2В) и играет значительную роль в формировании клинической картины на поздних стадиях с тяжелыми поражениями бронхов, пищевода и других органов в финале болезни [6]. По распространенности ВИЧ-инфекции Иркутская область занимает одно из первых мест в Российской Федерации. В Иркутске инфицировано ВИЧ более 1% населения. Неуклонно увеличивается число больных ВИЧ-инфекцией с клиническими проявлениями болезни, в том числе, в терминальной стадии [9]. Возросла актуальность диагностики и лечения кандидозов [1,6,7,8, 11].

Цель исследования: характеристика частоты выделения грибов рода *Candida* от больных ВИЧ-инфекцией в стационаре, в сравнении с амбулаторными пациентами с неизвестным ВИЧ-статусом в г. Иркутске, и оценка резистентности выделенных культур к антимикотикам.

Материалы и методы

В 2011г. в бактериологической лаборатории центра лабораторной диагностики «Мечников» (ЦЛД) Иркутского государственного медицинского университета исследована 201 проба биоматериала от 104 ВИЧ-инфицированных больных (от 1 до 3 проб на одного пациента), госпитализированных в областную клиническую инфекционную больницу. Пациенты обследованы по клиническим показаниям. Персональные данные

пациентов были скрыты; пробы регистрировали под условными номерами по мере поступления в лабораторию. Контрольную группу формировали методом случайной выборки (с использованием генератора случайных чисел в программе Excel) из числа 1922 амбулаторных пациентов, обратившихся за медицинской помощью в различные медицинских организаций г. Иркутска и обследованных бактериологически в ЦЛД ИГМУ в 2011 г. ВИЧ-статус пациентов контрольной группы не был известен. Исходя из распространенности ВИЧ-инфекции в Иркутской области, среди амбулаторных пациентов ожидаемая доля ВИЧ-инфицированных не превышала 5%. В контрольную группу вошли 205 пациентов, от каждого из которых исследовано по одной пробе биологического материала. Опытная и контрольная группы обозначены условно в тексте и таблицах как ВИЧ (+) и ВИЧ (-), соответственно.

Всего исследовано 406 проб биологического материала, в том числе: из органов дыхательной системы — мазки из зева и носа; желудочно-кишечного тракта — мазки из глотки, испражнения; мочеполовой системы — моча, соскоб из уретры, соскоб из цервикального канала, секрет предстательной железы, мазки из влагалища, шейки матки, полости матки.

Выделение грибов рода *Candida* проводили на среде Сабуро с антибиотиком цефабол (цефуросксим) методом полуколичественного посева по Гоулду. Учитывали как положительные только те пробы, в которых КОЕ выде-

Таблица 1
Частота выделения (%) грибов рода *Candida* от пациентов с различным ВИЧ-статусом

	Пациенты разных групп		χ^2
	ВИЧ (+) n=104	ВИЧ (-) n=205	
<i>C. albicans</i>	25,9% (17,3÷34,5)	6,3% (2,9÷9,7)	23,57
<i>C. non-albicans</i>	12,5% (6,1÷18,9)	0,5% (0÷1,5)	23,03
<i>CercroCandida</i>	38,4% (28,9÷48,1)	6,8% (3,2÷10,4)	47,87

Частота выделения (%) грибов рода *Candida* из проб различной локализации при обследовании пациентов с различным ВИЧ-статусом

Пробы различной локализации (по системам)	Результаты исследования проб от пациентов разных групп				χ^2
	ВИЧ (+)		ВИЧ (-)		
	Исследовано проб	Выделено культур	Исследовано проб	Выделено культур	
Дыхательная система	134	26,1% (18,5÷33,7)	66	7,6% (1,0÷14,2)	9,50
Мочеполовая система	63	6,4% (0,2%÷12,6)	118	7,6% (6,8%÷4,6)	0,10
Пищеварительная система	4	100%	10	0	-
Прочие	0	0	12	0	-
Всего проб	201	21,4% (18,5÷27,2)	205	6,8% (4,2÷9,4)	17,84

ленных грибов составляло 10^4 и более микробных клеток в 1 мл, что говорит об активности инфекционного процесса и позволяет дифференцировать носительство от патологии. Для первичной идентификации использовалась хромогенная среда CandidaID («BioMerieux», Франция). Все выделенные культуры разделены на две группы: *C. albicans* и *C. non-albicans*.

Чувствительность к шести антимикотикам: амфотерицину В, нистатину, клотримазолу, флуконазолу, интраконазолу и кетоконазолу определяли диско-диффузионным методом.

Опытную и контрольную группы сравнивали по частоте выделения различных видов грибов, с учетом места выделения, и частоте встречаемости резистентных изолятов. Статистическую значимость различий оценивали по доверительному интервалу для уровня значимости 95% ($\pm 2m$) и критерию χ^2 . Результаты считали достоверными, если вероятность нуль-гипотезы не превышала 0,05 ($p < 0,05$). Статистическая обработка данных проведена с использованием программы *Microsoft Excel*, 2007.

Результаты и обсуждение

Всего выделено 57 культур грибов рода *Candida*, в том числе 42 (73,7%) — *C. albicans* и 15 (22,3%) — *C. non-albicans* (*C. krusei*, *C. glabrata* и *C. tropicalis*). Таким образом, доминирующим является *C. albicans*. От больных ВИЧ-инфекцией выделено 29 культур *C. albicans*, при этом от одного пациента одновременно выделены культуры *C. albicans* и *C. non-albicans* (*C. krusei*); от двух пациентов грибы *Candida* выделены из проб разной локализации (мокрота, моча и кал). В пересчете на число пациентов, доля обследованных с положительным результатом больных в стационаре составила 38,4%. От больных ВИЧ-инфекцией выделено 14 культур *C. non-albicans* двух видов (*C. krusei* и *C. glabrata*). От амбулаторных пациентов с неустановленным ВИЧ-статусом выделено всего 14 культур грибов рода *Candida*, в том числе 13 — *C. albicans* и лишь 1 — *C. non-albicans* (*C. krusei*).

Частота выделения грибов рода *Candida* от больных ВИЧ-инфекцией, как и ожидалось, была значительно выше, чем от амбулаторных пациентов (табл. 1). Группы сравнения отличались по частоте выделения грибов разных видов: если для *C. albicans* число больных ВИЧ-инфекцией, обследованных с положительным результатом, было в 2 раза выше в сравнении с амбулаторными пациентами, тогда как для — *C. non-albicans* — в 13 раз.

Основная часть культур грибов рода *Candida* вы-

Таблица 2

делена из проб с органов дыхательной системы — 70,2%; примерно четверть — 22,8% из проб с органами мочеполовой системы, остальные — из проб из желудочно-кишечного тракта, которые были представлены в небольшом количестве. Частота выделения грибов по отношению к числу исследованных проб составила 20%, 7,2% и 28,6%, соответственно. Как видно из табл. 2, различия между группами ВИЧ-инфицированных и амбулаторных пациентов по частоте лабораторного подтверждения кандидоза были обусловлены, главным образом, различиями в частоте поражения дыхательной системы.

Все изоляты *C. albicans*, независимо от источника выделения, были чувствительны к нистатину. Примерно половина изолятов от пациентов обеих групп была резистентна к флуконазолу, интраконазолу и кетаконазолу.

Таблица 3

Частота встречаемости лекарственной резистентности культур *C. albicans*, выделенных от пациентов с различным ВИЧ-статусом (%)

Препарат	Культуры от пациентов разных групп		χ^2
	ВИЧ (+) n=29	ВИЧ (-) n=13	
Нистатин	0	0	-
Амфотерицин В	10% (0÷21,2)	30,8% (5,3÷56,4)	2,70
Клотримазол	24,1% (8,3÷39,9)	46,2% (18,6÷73,8)	2,04
Флуконазол	44,8% (26,4÷63,2)	46,2% (18,6÷73,8)	0,01
Интраконазол	58,6% (40,4÷76,8)	61,5% (34,5÷88,5)	0,03
Кетаконазол	48,3% (29,7÷66,9)	53,8% (26,2÷81,4)	0,11

нозолу. Более выраженные, но статистически не значимые, различия между изолятами от больных ВИЧ-инфекцией и амбулаторных пациентов отмечены для амфотерицина В и клотримазола (табл. 3).

Известно, что наиболее вирулентным видом дрожжеподобных грибов рода *Candida* является вид *C. albicans*, который может вызывать заболевания у людей с нормальным функционированием иммунной системы [4]. У больных ВИЧ-инфекцией, возрастает частота выделения грибов группы *C. non-albicans*, которые на фоне глубокого иммунодефицита способны к интенсивному размножению. В первую очередь страдают органы дыхательной системы, что подтверждается увеличением частоты выделения со слизистых оболочек носа и зева у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Полученные результаты согласуются с литературными данными [5, 6].

Резистентность к противогрибковым препаратам является одним из факторов патогенности [1, 2, 10, 11]. Для возникновения заболевания необходимы сочетания нескольких факторов, а именно: достаточное количество микробов (КОЕ) и наличие у них факторов агрессии, в том числе резистентности к антимикотикам. Результаты сравнения частоты лекарственной резистентности у изолятов *C. albicans* от ВИЧ-инфицированных и амбулаторных пациентов не выявили существенных различий. Однако тенденция к меньшей частоте резистентности к двум из шести из исследованных антимикотиков заслуживает внимания и дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анкирская А.С., Муравьева В.В., Миронова Т.Г. и др. Генитальный кандидоз в структуре оппортунистических инфекций влагалища. Принципы лабораторной диагностики и значение мониторинга чувствительности грибов к антимикотикам. // Акушерство и гинекология. — 2009. — № 5. — С. 31-37.
2. Веселов А.В., Мултых И.Г., Клясова Г.А. и др. Эпидемиология возбудителей кандидозов и их чувствительность к азо-

лам: результаты исследования ARTEMISDisk в России. // Клиническая микробиол. антимикробн. химиотер. — 2005. — Т. 7. №1. — С. 68-76.

3. Голиусова М.Д. Эпидемия ВИЧ-инфекции в Российской Федерации и ее особенности на современном этапе. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2011. — № 6. — С. 97-100.

4. Годовалов А.П., Быкова Л.П., Ожгибесов Г.П. Значение грибов рода *Candida* при заболеваниях дыхательных путей. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2008. — №7. — С. 10-12.

5. Ермак Т.Н., Кравченко А.В., Шахгильдян В.И. и др. Анализ причин летальных исходов больных ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации. // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2010. — №3. — С. 19-22.

6. Ермак Т.Н., Перегудов А.В., Груздев Б.М. Оппортунистические инфекции у ВИЧ-инфицированных: чудес не бывает. // Терапевтический архив. — 2006. — №11. — С. 80-81.

7. Кулько А.Б. Исследование чувствительности к противомикробным препаратам клинических штаммов *Candida krusei*, выделенных от больного туберкулезом легких. // Антибиотики и химиотерапия. — 2008. — Т. 53. №11-12. — С. 22-24.

8. Кудрина М.И. Вульвовагинальный кандидоз — современ

ный подход к выбору лекарственных препаратов. // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2011. — Т. 11. № 6. — С. 89-93.

9. Шарифулина Н.Л., Аитов К.А. Анализ смертности от ВИЧ-инфекции в стадии СПИД в Иркутской области в 2007 г. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2008. — №7. — С. 85-87.

10. Soll D.R. Mating in *Candida albicans* and Related Species. // Biology 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.

11. 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.

Информация об авторах: Донгак Долаана Александровна — интерн; Карноухова Ольга Геннадьевна — доцент кафедры, к.м.н., e-mail: olga196464@rambler.ru; Коган Галина Юрьевна — заведующая центром лабораторной диагностики; Распопина Любовь Алексеевна — заведующая лабораторией; Ботвинкин Александр Дмитриевич — заведующий кафедрой, профессор, д.м.н., 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, тел. (3952) 240841, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru

© САМОЙЛЕНКО И.Е., ШПЫНОВ С.Н., ЯКИМЕНКО В.В., РУДАКОВ Н.В. — 2013
УДК 616:579.61

ИЗУЧЕНИЕ АДАПТАЦИИ *RICKETTSIA RAOULTII* К ОСНОВНЫМ ПЕРЕНОСЧИКАМ — КЛЕЩАМ РОДА *DERMACENTOR* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ

Ирина Евгеньевна Самойленко¹, Станислав Николаевич Шпынов^{1,2},
Валерий Викторович Якименко¹, Николай Викторович Рудаков^{1,2}

(¹Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, директор — д.м.н., проф. Н.В. Рудаков, лаборатория зоонозных инфекций, зав. — к.м.н. Г.В. Березкина; ²Омская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. А.И. Новиков)

Резюме. Три генотипа недавно описанного нового вида *Rickettsia raoultii* выявлены в России в нескольких видах клещей рода *Dermacentor*. Проведено изучение экологической специфичности четырех видов клещей рода *Dermacentor*: *D. nuttallii*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *D. silvarum* в качестве вектора *R. raoultii* с использованием экспериментальных методов. Наши данные показывают, что все четыре изучаемые виды клещей *Dermacentor* являются эффективными векторами *R. raoultii*.

Ключевые слова: *R. raoultii*, векторы, экологическая специфичность.

THE STUDY OF ADAPTATION OF *RICKETTSIA RAOULTII* TO MAJOR VECTORS — TICKS OF THE GENUS *DERMACENTOR* USING EXPERIMENTAL METHODS

I.E. Samoylenko¹, S.N. Shpynov^{1,2}, V.V. Yakimenko¹, N.V. Rudakov^{1,2}

(¹Omsk Research Institute of Natural Foci Infections, Russia; ²Omsk State Medical Academy, Russia)

Summary. Three genotypes of the recently described species *Rickettsia raoultii* have been identified in several *Dermacentor* species in Russia. The ecological specificity of four *Dermacentor* species: *D. nuttallii*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *D. silvarum* as vectors *R. raoultii* was studied with use of experimental methods. Our data shows that all four studied species of *Dermacentor* ticks are efficient vectors of *R. raoultii*.

Key words: *R. raoultii*, vectors, the ecological specificity.

В 1999 г. в клещах, собранных на территории России, с использованием амплификации и секвенирования *rrs* (16S rRNA), *gltA* и *ompA* генов были идентифицированы три новых генотипа риккетсий: RpA4, DnS14 и DnS28 [9]. *Rickettsia* sp. генотипы DnS14 и DnS28 были выявлены в клещах *Dermacentor nuttalli*, собранных в Сибири, в то время как генотип RpA4 был обнаружен в клещах *Rhipicephalus pumilio*, из Астраханской области. Эти риккетсиальные агенты формируют достоверный кластер внутри группы *Rickettsia massiliae* [10]. Данная группа имеет определенные генотипические и фенотипические характеристики [4,8,9] и включает *R. massiliae*, *R. rhipicephali*, *R. aeschlimannii* и *R. montanensis*, которые отличаются от остальных представителей рода *Rickettsia* своей устойчивостью к рифампицину, обусловленной мутацией в гене *groB* [4,8]. В связи с филогенетической гомогенностью *Rickettsia* sp. генотипов RpA4, DnS14 и DnS28 было высказано предположение, что эти три генотипа принадлежат к

новому виду [10]. В 2008 г. эти генотипы описаны как принадлежащие к новому виду риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки *Rickettsia raoultii* sp. nov. (вид назван в честь руководителя лаборатории риккетсиозов Средиземноморского университета профессора Didier Raoult [6].

Вероятно, географическое распространение *R. raoultii* соответствует распространению клещей рода *Dermacentor* [7], ареал этого вида риккетсий занимает обширные территории от азиатской части России [13] до Северной Африки. Патогенность для человека окончательно не установлена, но часть случаев синдрома TIBOLA связывают с *R. raoultii* [5, 7].

Экологические особенности риккетсий обусловлены их облигатным внутриклеточным паразитизмом с широким кругом хозяев — кровососущих членистоногих и их теплокровных прокормителей. Высокая адаптация к организму членистоногих большинства видов риккетсий, в том числе патогенных для позвоночных живот-