

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЕГКИХ

А.Б. Кулько

ГКУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулёзом Департамента здравоохранения города Москвы»

## THE STUDY ON SENSITIVITY OF FUNGI *CANDIDA* CLINICAL STRAINS, ISOLATED FROM PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS, TO ANTIFUNGAL DRUGS

A.B. Kulko

В статье представлены собственные данные определения чувствительности штаммов *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. tropicalis* и *C. zeylanoides* к противогрибковым препаратам. Проанализирована активность амфотерицина В, флуконазола, итраконазола, вориконазола, флуцитозина (5-фторцитозина) в отношении штаммов *Candida*, выделенных в клинике туберкулёза.

**Ключевые слова:** чувствительность видов *Candida* к противогрибковым препаратам, кандидоз бронхов и легких, туберкулёз легких

The article presents original data on strain sensitivity determination of *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. tropicalis* and *C. zeylanoides* to antifungal drugs. Activity of amphotericin B, fluconazole, itraconazole, voriconazole, flucytosine (5-fluorocytosine) against *Candida* strains, isolated in the tuberculosis clinic, was analyzed.

**Keywords:** susceptibility of *Candida* strains to antifungal drugs, candidiasis of the bronchi and lungs, pulmonary tuberculosis

### Введение

Кандидоз – группа инфекционных оппортунистических заболеваний, вызываемых болезнетворными (условно-патогенными) видами грибов рода *Candida*. Некоторые виды возбудителей кандидоза кожи и слизистых оболочек способны вызывать у предрасположенных лиц развитие глубокого кандидоза, включая различные формы кандидоза бронхов и легких. Отметим, что массивная колонизация бронхов грибами *Candida* может осложнять течение туберкулёзного процесса и хронических обструктивных заболеваний легких [4, 7, 8], являясь существенным фактором риска развития у пациента инвазивного кандидоза легких. Бронхолегочный кандидоз – заболевание преимущественно эндогенной природы, с предшествующей колонизацией слизистых оболочек *Candida spp.* [7, 8]. Из более чем 700 описанных видов грибов рода *Candida* к возбудителям инфекций относят менее 40: *C. africana*, *C. albicans*, *C. catenulata*, *C. chiropterorum*, *C. ciferrii*, *C. dubliniensis*, *C. fabianii*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. haemulonii*, *C. intermedia*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lambica*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. magnoliae*, *C. metapsilosis*, *C. nivariensis*,

*C. norvegensis*, *C. orthopsilosis*, *C. parapsilosis*, *C. pelliculosa*, *C. pseudohaemulonii*, *C. pseudorugosa*, *C. pulcherrima*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *C. utilis*, *C. viswanathii*, *C. zeylanoides* [2, 6, 11]. В группу наиболее распространенных возбудителей кандидоза включают *C. albicans* (главный возбудитель всех форм заболевания), а также *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*. Вместе с тем в последние годы с возрастающей частотой выявляются *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae* и некоторые другие виды [1, 2, 5]. Важно знать, что различные возбудители кандидоза отличны по уровням исходной (природной) чувствительности к противогрибковым препаратам, в первую очередь к азолам – флуконазолу и итраконазолу [1–3, 6; 11; 12]. Для многих редких возбудителей кандидоза уровни чувствительности к антимикотикам к настоящему времени не определены.

Цель настоящего исследования – анализ результатов тестирования чувствительности к противогрибковым препаратам штаммов различных видов *Candida*, выделенных от больных туберкулёзом легких с вторичной грибковой инфекцией органов дыхания.

### Материалы и методы

Материалом для исследования послужили пробы различного диагностического материала (мокрота; материалы, полученные при фибробронхоскопии – БАЛ, бронхиальный секрет, бронхиальный смыв; материалы из полостных образований легких и плевральных полостей – резекционный материал, биоптаты, аспираты, экссудаты), поступавшего на микологическое исследование от больных туберкулёзом, а также штаммы 12 видов грибов рода *Candida*, выделенные в микологической лаборатории Московского научно-практического центра борьбы с туберкулёзом (МНПЦБТ) в 2011-2013 гг.

Выделенные из посевов штаммы дрожжевых грибов идентифицировали до вида с помощью комплекса общепринятых в медицинской микологии современных и классических методик [4]. Штаммы *C. albicans* идентифицировали по наличию ферментативной активности при росте на специальных хромогенных средах («CandiSelect 4», Bio-Rad Labs.; «Brilliance Candida Agar», Oxoid; «chromID Candida», BioMerieux). Штаммы дрожжевых грибов, не относящиеся к виду *C. albicans*, идентифицировали с помощью дифференциальных тест-систем для биохимических исследований («Auxacolor 2», Bio-Rad; «ELichrom FUNGI», ELITech MICROBIO) и дополнительных признаков (температурные границы роста, морфологические характеристики на агаризованных питательных средах и др.).

Ряд выделенных от пациентов штаммов грибов рода *Candida* тестировали на чувствительность к пяти распространенным противогрибковым препаратам: амфотерицину В, флуконазолу, итраконазолу, вориконазолу, флуцитозину (5-фторцитозину). Чувствительность штаммов исследовали микрометодом серийных разведений в бульоне со средой RPMI 1640 [9, 10] с помощью тест-системы «FUNGIFAST AFG» (ELITech MICROBIO, Франция). Препараты в выбранной нами тест-системе представлены в нескольких концентрациях (трех или четырех), что позволяет лабораторному микологу интерпретировать результат тестирования штамма *Candida*, согласно официальной международной методологии, как чувствительный (S), промежуточный / чувствительный-дозозависимый (I / S-DD) или устойчивый (R). В случае выделения возбудителя кандидоза с зависимой от дозы препарата чувствительностью, для успешной терапии следует подбирать дозу антимикотика, превышающую среднюю терапевтическую [2, 8].

### Результаты и обсуждение

Всего был протестировано 138 клинических штаммов грибов *Candida*, из них 81 штамм *C. albicans*, 3 – *C. dubliniensis*, 15 – *C. glabrata*, 3 – *C. guilliermondii*, 7 – *C. kefyr*, 12 – *C. krusei*, 2 – *C. lipolytica*, 1 – *C. lusitaniae*, 4 – *C. parapsilosis*, 2 – *C. rugosa*, 6 – *C. tropicalis*, 2 – *C. zeylanoides*.

Обобщенные результаты исследования активности противогрибковых препаратов в отношении *Candida spp.* представлены в таблице.

Подавляющее большинство протестированных штаммов *C. albicans* (99%) определялись как чувствительные к флуконазолу. Таким образом, у штаммов *C. albicans*, выделенных от больных туберкулёзом, сохранялся высокий уровень чувствительности *in vitro* к флуконазолу, что и характерно для главного возбудителя кандидоза [2, 7, 8].

Напротив, у вида *C. krusei* не было выявлено ни одного чувствительного к флуконазолу штамма, а доля устойчивых штаммов составила 75%. К настоящему времени установлено, что вид *C. krusei* обладает исходной устойчивостью к препарату флуконазол [1, 2, 5, 8]. Согласно последним рекомендациям Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST), при выявлении *C. krusei* в качестве возбудителя кандидоза следует обозначать штамм как устойчивый к флуконазолу без проведения исследования *in vitro*.

Значительное число выявленных штаммов *C. glabrata*, устойчивых к флуконазолу (33%), объясняется тем, что данный вид из группы основных возбудителей кандидоза обладает пониженной исходной чувствительностью к этому азоловому препарату [2, 7, 8]. Обращает на себя внимание наличие устойчивых к флуконазолу штаммов не только у вида *C. tropicalis* (гриб, с вариабельной исходной чувствительностью к азолам [7, 8], но также у *C. guilliermondii* и *C. zeylanoides*.

Проведенные исследования показали относительно низкую активность итраконазола в отношении *C. albicans*, причем доля чувствительных штаммов (53%) ненамного превышала долю устойчивых штаммов (46%). Полученные нами результаты не подтверждают данные литературы о высокой активности итраконазола *in vitro* в отношении *C. albicans* [7, 8] и скорее свидетельствуют о ее вариативности у разных штаммов. С другой стороны, заметное присутствие штаммов *C. albicans*, устойчивых к итраконазолу, может объясняться селекцией устойчивых штаммов или накоплением штаммов с приобретенной лекарственной устойчивостью на фоне широко распространенного лечения итраконазолом.

Доля чувствительных к итраконазолу штаммов *C. glabrata* (66%) заметно превышала долю устойчивых (34%). У *C. krusei* устойчивых к итраконазолу штаммов выявлено не было вовсе и более 80% исследованных штаммов определялись как чувствительные.

Из 138 протестированных штаммов *Candida spp.* только шесть (4,3%) обладали перекрестной устойчивостью к флуконазолу и итраконазолу: четыре штамма *C. glabrata* (27% от общего числа штаммов данного вида), а также, неожиданно, по одному штамму *C. guilliermondii* и *C. zeylanoides*.

В сравнении с флуконазолом и итраконазолом, активность *in vitro* третьего азолового препарата – вориконазола –

Таблица. Чувствительность к противогрибковым препаратам штаммов *Candida spp.* (%), выделенных от больных туберкулёзом легких

Вид (n)	КЧ	Препарат				
		Амфотерицин В	Флуконазол	Итраконазол	Вориконазол	Флуцитозин
<i>C. Albicans</i> (81)	S	100	99	53	99	99
	I	0	0	1	1	0
	R	0	1	46	0	1
<i>C dubliniensis</i> (3)	S	100	100	100	100	67
	I	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	33
<i>C. glabrata</i> (15)	S	100	33	66	86	86
	I	0	33	0	14	7
	R	0	33	34	0	7
<i>C. guilliermondii</i> (3)	S	100	67	67	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	33	33	0	0
<i>C. kefyr</i> (7)	S	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
<i>C. krusei</i> (12)	S	100	0	83	100	67
	I	0	25	17	0	33
	R	0	75	0	0	0
<i>C. lipolytica</i> (2)	S	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i> (1)	S	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
<i>C. parapsilosis</i> (4)	S	100	100	100	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
<i>C. морщинистая</i> (2)	S	100	50	100	100	100
	I	0	50	0	0	0
	R	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i> (6)	S	100	66	83	100	83
	I	0	17	0	0	0
	R	0	17	17	0	17
<i>C. zeylanoides</i> (2)	S	100	50	50	100	100
	I	0	0	0	0	0
	R	0	50	50	0	0

Примечание: (n) – число протестированных штаммов данного вида; КЧ – категория чувствительности: S – чувствительные к препарату штаммы, I – штаммы с промежуточной чувствительностью (дозозависимые), R – устойчивые (резистентные).

в отношении штаммов *Candida spp.* была заметно выше. Было выявлено 99% чувствительных к вориконазолу штаммов *Candida spp.* и только 1% штаммов с дозозависимой чувствительностью (штамм *C. albicans* и два штамма *C. glabrata*).

Следует отметить, что все протестированные штаммы *C. dubliniensis*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* и *C. rugosa* были чувствительны одновременно к трем азолам – флуконазолу, итраконазолу и вориконазолу.

Все исследованные штаммы определялись как чувствительные к амфотерицину В, в том числе и штамм *C. lusitanae*, рассматриваемый рядом авторов как вид, устойчивый к данному препарату [6-8].

При относительно высокой активности *in vitro* флуцитозина, штаммы устойчивые к данному препарату были выявлены у видов *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata* и *C. tropicalis*.

## Заключение

Проведенные исследования показали, что флуконазол сохраняет высокую фунгицидную активность в отношении штаммов главного возбудителя кандидоза *C. albicans*. Штаммы *C. albicans* заметно варьировали по чувствительности к итраконазолу, что дает основание предположительно расценивать *C. albicans*, как вид с вариабельной чувствительностью к данному азоловому препарату.

Проведенное исследование выявило высокую активность итраконазола в отношении *C. krusei* – возбудителя кандидоза, устойчивого к флуконазолу.

У более четверти протестированных штаммов *C. glabrata* определялась перекрестная устойчивость к вориконазолу и итраконазолу, что осложняет подбор препарата для лечения кандидоза, вызванного *C. glabrata*.

Вместе с тем, из 138 протестированных штаммов *Candida spp.* не было выявлено ни одного штамма, обладающего устойчивостью к вориконазолу (98% чувствительных штаммов) и амфотерицину В (100% чувствительных штаммов), что позволяет использовать данные препараты для проведения эмпирической терапии кандидоза легких у больных туберкулезом. Перед проведением противогрибковой терапии бронхолегочного кандидоза флуконазолом и итраконазолом необходимо выполнить полное лабораторное исследование с идентификацией возбудителя до уровня вида и определением его чувствительности к противогрибковым препаратам *in vitro*.

## Литература

1. Атлас грибковых заболеваний. Под ред. К.А. Кауфман, Д.Л. Манделла (Kauffmann C.A., Mandell G.L.) Пер. с англ. под ред. Ю.В.Сергеева. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 240 с.
2. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика. Под редакцией з.д.н. РФ проф. Елинова Н.П. – СПб.: Коста, 2010. – 224 с.
3. Кулько А.Б. Исследование чувствительности к противогрибковым препаратам клинических штаммов *Candida krusei*, выделенных от больных туберкулезом легких // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53. – № 11-12. – С. 22-24.
4. Кулько А. Б., Дорожкова И.Р., Исаева Е.Л., Кузьмин Д.Е. Методические подходы к проведению микологических исследований во фтизиатрической практике // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 6. – С. 56-59.
5. Кулько А.Б. Спектр возбудителей глубоких микозов человека // Онкогематология. – 2012. – № 3. – С. 55-61.
6. Самтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. (Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M.) *Определитель патогенных и условно патогенных грибов*: Пер. с англ. – М.: Мир, 2001. – 468 с.
7. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз: природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, диагностика и лечение. – М.: Триада-Х, 2001. – 472 с.
8. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. – М.: Бином, 2008. – 480 с.
9. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard – Third edition. CLSI document M27A3, 2008. – 40 p.*
10. Rodriguez-Tudela J.L., Arendrup M.C., Barchiesi F. et al. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts // Clin. Microbiol. Infect. – 2008. – Vol. 14. – P. 398–405.
11. Hoog de G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi. Electronic Version 3.1 – CBS: Reus, 2011.
12. Kulko A., Mitrokhin S. Species distribution and antimycotic susceptibility of *Candida* strains isolated from pulmonary tuberculosis patients // 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Copenhagen, Denmark. 2-5 April 2005. Abstracts // Clinical Microbiology and Infection. – 2005. – Vol. 11. Suppl. 2. – P. 714-715.

## Сведения об авторе

**Кулько Александр Борисович** – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГКУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат биологических наук  
 Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д.10.  
 Телефон: 8 (499) 268-70-33.  
 e-mail: kulko-fungi@yandex.ru