

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Чарушина Ирина Петровна

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ (КРИПТОКОККОЗ,
КАНДИДОЗ) У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ**

14.02.02 – Эпидемиология

14.01.09 – Инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени доктора
медицинских наук

Научные консультанты:

Фельдблюм Ирина Викторовна
доктор медицинских наук, профессор

Воробьева Наталья Николаевна
доктор медицинских наук, профессор

Пермь – 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ У ВИЧ- ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	16
1.1. Историческая справка.....	16
1.2. Криптококкоз.....	22
1.2.1. Этиология.....	22
1.2.2. Эпидемиология.....	24
1.2.3. Патогенез и патоморфология.....	26
1.2.4. Клиника.....	29
1.2.5. Лабораторная диагностика.....	32
1.2.6. Лечение.....	33
1.3. Кандидоз.....	34
1.3.1. Этиология.....	35
1.3.2. Эпидемиология.....	38
1.3.3. Патогенез и патоморфология.....	43
1.3.4. Клиника.....	46
1.3.5. Лабораторная диагностика.....	51
1.3.6. Лечение.....	55
1.4. Профилактика.....	56
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	61
2.1. Материалы исследования и группы пациентов.....	62
2.2. Методы исследования.....	64
ГЛАВА 3. КРИПТОКОККОЗ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ.....	73
3.1. Распространенность и факторы риска криптококкоза у ВИЧ- инфицированных пациентов.....	73
3.2. Клиническая характеристика криптококкоза у ВИЧ- инфицированных.....	80
3.3. Патоморфологические изменения при криптококкозе.....	90

ГЛАВА 4. ИНВАЗИВНЫЙ КАНДИДОЗ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ.....	109
4.1. Распространенность и факторы риска инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.....	109
4.2. Клиническая характеристика инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.....	117
4.3. Патоморфологические изменения при инвазивном кандидозе.....	132
ГЛАВА 5. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОНТАМИНАЦИИ МИКРОМИЦЕТАМИ ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКИХ И НЕМЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ.....	150
ГЛАВА 6. УРОВЕНЬ И ИНТЕНСИВНОСТЬ КОНТАМИНАЦИИ МИКРОМИЦЕТАМИ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ ВЫСОКОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ.....	163
6.1. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды медицинской организации онкологического профиля.....	163
6.2. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды медицинской организации гематологического профиля.....	167
6.3. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии.....	171
6.4. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов.....	176
6.5. Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды в медицинских организациях риска возникновения инвазивных микозов.....	184
ГЛАВА 7. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ В СТАЦИОНАРЕ ДЛЯ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ.....	192
7.1. Изучение циркуляции микромицетов <i>Cryptococcus neoformans</i> среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды	

специализированного стационара в разные периоды эпидемического благополучия по криптококкозу.....	192
7.2. Изучение циркуляции <i>C. albicans</i> среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды специализированного стационара в разные периоды эпидемиологического благополучия по инвазивному кандидозу с оценкой биологических свойств возбудителя, характеризующих его патогенные свойства.....	194
7.3. Обоснование контактно-бытового пути передачи инвазивного кандидоза, вызванного <i>C.albicans</i> в условиях специализированного стационара (молекулярно-генетическое исследование).....	203
7.4. Дезинфекция в стационаре для ВИЧ-инфицированных.....	211
7.5. Профилактика инвазивного кандидоза в специализированном стационаре.....	216
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	218
ВЫВОДЫ.....	236
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	240
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	242
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	243

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Оппортунистические инвазивные микозы представляют значительную проблему для здравоохранения, в связи с их ежегодным ростом [50,65,153]. К наиболее уязвимым категориям относятся иммунокомпрометированные больные с высоким риском развития этих заболеваний. Эпидемия ВИЧ-инфекции способствует формированию популяции людей с повышенной восприимчивостью к грибковым болезням [90].

Наиболее часто у ВИЧ-инфицированных лиц встречаются такие нозологические формы инвазивных микозов, как криптококкоз и кандидоз.

Начиная с 80-х гг. 20 столетия наблюдается значительный рост случаев криптококкоза у ВИЧ-инфицированных людей [23]. В мире ежегодно регистрируется около 1 млн. больных, из них умирает 680 тыс. Распространенность заболевания составляет от 0,3 до 0,5 на 100 тыс. населения [23,147].

На долю больных криптококкозом приходится от 3 до 8% пациентов с ВИЧ-инфекцией в странах Европы и США [39]. В настоящее время это заболевание входит в число трех наиболее опасных для жизни оппортунистических инфекций у больных СПИДом. Без лечения от криптококкового менингоэнцефалита умирает 100% пациентов [20,72, 98].

Наряду с этим, в последние годы во всем мире отмечается увеличение количества больных инвазивным кандидозом (ИК). Ежегодно регистрируется более 400000 случаев этого заболевания. По данным Brown G. et al. (2012 г.), заболеваемость ИК составляет от 2,4 до 29,0 на 100 тыс. населения в год [153]. Летальность среди отдельных групп больных достигает 73%.

У пациентов с иммуносупрессией ИК может возникать как внутрибольничная инфекция [141,143,169,185,203,222,235,240]. Развитие инвазивных микозов обуславливает увеличение сроков госпитализации и стоимости лечения в 2-8 раз. Так, каждый случай ИК у госпитализированного

пациента приводит к росту расходов на его лечение примерно на 40000 долларов США [31, 175, 216,233,235,].

Степень разработанности темы

В литературе имеется немало исследований, проводимых в РФ [17,50,83,93,113] и за рубежом [160,169,193,205,208,214,215,224,229,233,282], посвященных изучению факторов риска возникновения инвазивных грибковых инфекций у различных категорий пациентов. Ими являются иммунодефицитные состояния, инвазивные вмешательства с нарушением целостности кожи и слизистых оболочек, использование антибиотиков, глюкокортикостероидов, цитостатиков, системных противогрибковых препаратов и др.

Возбудители грибковых инфекций широко распространены в природе и могут находиться на любых объектах внешней среды, том числе на предметах больничной обстановки. Инвазивные микозы возникают в результате эндогенного или экзогенного инфицирования. Среди возможных путей передачи наиболее изученным является искусственный - при введении наркотических препаратов и применении инвазивных медицинских манипуляций. Некоторые авторы выделяют алиментарный, воздушно-капельный и контактно-бытовой пути передачи, однако убедительных доказательств их реализации в доступной литературе мы не встретили [4,36,40,77,107,185,234,239].

Многие ученые отмечают большое разнообразие патоморфологических изменений, вызванных микромицетами в различных органах, а также поражение сосудов [126,129]. Часто наблюдается образование участков некроза, либо гранулем, зависящих от длительности патологического процесса [28,32,61,64,124,126,129,196, 274], однако сочетанное воздействие на организм грибов, бактерий, простейших требует дальнейшего изучения.

Патогенез инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) представлен исследованиями отечественных и зарубежных авторов, однако данные об отдельных этапах патологического процесса - входных воротах, первичных очагах, механизмах дальнейшего распространения весьма противоречивы [36,107,121,126,144,158,239,240].

Клиническая картина инвазивных грибковых инфекций проявляется большим разнообразием форм и тяжести течения [56]. Так, криптококкоз может протекать как острое или хроническое заболевание. Клинические проявления его обусловлены выраженностью иммунодефицита пациента и характеризуются поражением ЦНС, легких и других органов [4,12,36,57,144,204,245].

ИК также имеет множество вариантов клинического течения, когда в патологический процесс вовлекаются практически все органы и ткани. Нередко его симптомы сходны с таковыми при бактериальном сепсисе, что вызывает значительные трудности в их дифференциальной диагностике.

Несмотря на имеющиеся исследования, многие вопросы, касающиеся различных аспектов инвазивных микозов, до настоящего времени остаются малоизученными у такой категории пациентов, как ВИЧ-инфицированные.

В мире не существует обязательной регистрации инвазивных микозов, поэтому истинная заболеваемость, в том числе среди ВИЧ-инфицированных, не известна.

Факторы риска их возникновения у больных с ВИЧ-инфекцией изучены недостаточно.

Механизмы развития эпидемического процесса инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных лиц, госпитализированных в специализированный стационар, исследованы не в полной мере. Имеются доказательства роли инвазивных процедур в развитии ИК, однако убедительные данные о возможности передачи заболевания контактно-бытовым путем в доступной нам литературе отсутствуют.

У ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания нередко имеет место большое количество других патогенов, кроме грибковых – бактерий, вирусов, простейших. Их сочетанное воздействие на организм и ответные реакции тканей мало изучены и требуют проведения дальнейших исследований.

Патогенез инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции до конца не выявлен. Требуют уточнения вопросы первичной локализации

возбудителей, их персистенции и дальнейших путей диссеминации в организме человека.

Известно, что своевременное и адекватное применение антимикотических препаратов в значительной степени определяет исход инвазивных грибковых инфекций. Однако до сих пор терапия остается таковой лишь у 15-40% больных [57,65], что связано во многом с недостатком данных о клинических проявлениях этих заболеваний. В связи с этим, выявление клинических особенностей течения инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) у ВИЧ-инфицированных лиц на поздних стадиях заболевания является актуальной задачей.

Все вышеизложенное послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: совершенствование клинико-эпидемиологической диагностики и профилактики инвазивных микозов (криптококкоза, кандидоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Задачи исследования:

1. Определить частоту встречаемости и факторы риска инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов.
2. Выявить клинико-лабораторные особенности течения инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) у ВИЧ-инфицированных лиц.
3. Охарактеризовать патоморфологические изменения органов и тканей и уточнить патогенетические закономерности развития инвазивных микозов (кандидоз, криптококкоз) на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.
4. Изучить контаминацию микромицетами объектов больничной среды медицинских организаций различного профиля как фактора риска развития внутрибольничных микозов.
5. Изучить циркуляцию микромицетов в больничной среде и у ВИЧ-инфицированных пациентов.
6. Изучить возможность развития внутрибольничного инвазивного кандидоза в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов при реализации естественных путей инфицирования.

7. Разработать рекомендации по совершенствованию клинико-эпидемиологической диагностики и профилактики инвазивных микозов в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов.

Научная новизна

Впервые изучена распространенность инвазивных микозов (криптококкоза и кандидоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов в специализированном стационаре.

Впервые проведена идентификация медицинских и общественно-поведенческих факторов риска возникновения инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях.

Дополнена клинико-патогенетическая характеристика криптококкоза на основании изучения патоморфологических изменений органов и тканей. Установлено, что заболевание развивается в виде острого генерализованного процесса с манифестной клинической картиной поражения ЦНС (менингоэнцефалит у всех больных) и легких (38,2% случаев), обусловленного проникновением возбудителя аэрогенным путем с последующей диссеминацией, в отсутствие признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи.

Выявлены особенности клинического течения ИК, который у ВИЧ-инфицированных больных возникает на фоне выраженного иммунодефицита, протекает в виде кандидемии и острого диссеминированного кандидоза (ОДК) с поражением легких, эндокарда и центральной нервной системы, не сопровождаясь в половине случаев высокой лихорадкой.

Установлено, что патоморфологические изменения органов и тканей при ИК у ВИЧ-инфицированных больных зависят от характера сопутствующей микрофлоры и проявляются альтеративным воспалением с возникновением гнойных очагов при бактериальной инфекции и продуктивным, с формированием гранулем – при туберкулезе.

Уточнены патогенетические закономерности ИК у ВИЧ-инфицированных больных. Первичным очагом и отправной точкой для дальнейшего распространения кандид в кровотоке являются ротоглотка и верхние дыхательные

пути. Органами-мишенями становятся легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система.

На основании установленных клинико-патогенетических особенностей ИК предложена новая классификация этой нозологической формы с выделением кандидозного носительства, локализованных и генерализованных форм.

Впервые дана сравнительная эпидемиологическая оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских и немедицинских организаций различного профиля и организационно-правовых форм собственности.

Доказано и научно обосновано выделение специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов как учреждения высокого риска возникновения инвазивных микозов.

Выявлены предвестники развития эпидемического процесса ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных.

Доказано, что в больничной среде могут формироваться, длительно циркулировать госпитальные штаммы *C. albicans* и передаваться контактно-бытовым путем вновь поступающим в стационар пациентам с последующим развитием ИК.

Впервые дана микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика культур *C. albicans*, изолированных от пациентов и с объектов больничной среды специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов.

Разработаны рекомендации по совершенствованию клинико-эпидемиологической диагностики и профилактики инвазивных микозов в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов.

Теоретическая значимость работы

Выявлены особенности клинического течения инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции и патоморфологические изменения органов и тканей в зависимости от характера сопутствующей микрофлоры. Полученные новые данные расширяют представления о морфологических изменениях и

патогенетических механизмах инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания.

На основании установленных клинико-патогенетических закономерностей предложена новая классификация кандидоза как нозологической формы, с выделением кандидозного носительства, локализованных и генерализованных форм заболевания.

Уточнены эпидемиологические аспекты инвазивных микозов у данной категории больных. Определена частота встречаемости, идентифицированы факторы риска развития инвазивных микозов, источники и резервуары инфекции. На основе молекулярно-генетических методов установлена возможность контактно-бытового пути передачи инвазивного кандидоза в стационаре.

Представлена микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика культур *C. albicans*, изолированных от пациентов и с объектов больничной среды специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных лиц, дана оценка их эпидемиологической значимости.

Практическая значимость работы

Полученные новые данные о клинических проявлениях и патогенетических механизмах развития инвазивных микозов повышают настороженность врачей различных специальностей, нацеливают их на проведение углубленного комплексного обследования, дают возможность совершенствования их ранней клинической диагностики до получения окончательных результатов микологического обследования с целью своевременной и адекватной антимикотической терапии.

Предложенная нами классификация кандидоза может использоваться в практической деятельности врачей разных специальностей.

Знание факторов риска позволит врачу-клиницисту уже при первичном осмотре ВИЧ-инфицированного пациента прогнозировать высокую вероятность возникновения у него инвазивных микозов без применения дорогостоящих и трудоемких методов обследования и выиграть время для проведения лечебных и профилактических мероприятий.

Выделение специализированных стационаров для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов в группу медицинских организаций высокого риска возникновения инвазивных микозов диктует необходимость постоянного микробиологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП), что позволит обеспечить максимальную обоснованность профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Разработаны практические рекомендации по совершенствованию клинической диагностики и профилактики инвазивных микозов в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов.

Методология и методы исследования.

Для достижения цели и решения поставленных задач в работе использовалась общенаучная методология, основанная на комплексном системном подходе с применением эпидемиологических, клинических, микробиологических, молекулярно-генетических и статистических методов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Инвазивные микозы (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания характеризуются высокой распространенностью с тенденцией к росту. Факторами риска их развития являются как медицинские (тяжесть состояния пациентов, предшествующее стационарное лечение, оперативные вмешательства, нахождение в ОРИТ и ИВЛ, длительность ВИЧ-инфекции, наличие сопутствующей патологии, степень иммуносупрессии), так и общественно-поведенческие (нахождение в учреждениях ФСИН, отсутствие трудоустройства, зависимость от ПАВ, жилищные условия) факторы.
2. Клинико-патогенетические особенности инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции характеризуются развитием тяжелого генерализованного процесса. При криптококкозе возникает манифестная клиническая картина поражения ЦНС и легких в отсутствии признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи. Инвазивный кандидоз протекает как кандидемия или

острый диссеминированный кандидоз с поражением легких в виде пневмонии, абсцесса, плеврита; эндокарда и мозговых оболочек при отсутствии в половине случаев высокой лихорадки.

3. Специализированный стационар для ВИЧ-инфицированных пациентов является медицинской организацией высокого риска возникновения инвазивных микозов. Установлена возможность развития внутрибольничного инвазивного кандидоза в специализированном стационаре контактно-бытовым путем. Определены предвестники осложнения эпидемической ситуации по ИК в стационаре.

Степень достоверности и апробация работы.

Достоверность результатов и обоснованность выводов подтверждается длительным периодом наблюдений, большим объемом фактического материала, разнообразием современных, адекватных поставленным задачам, методов исследования. Результаты базируются на открытых проверяемых данных. Для статистической обработки результатов исследования использовался встроенный пакет анализа MS Excel, программа Statistica-6.

Результаты работы были представлены, доложены и обсуждены на: Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2010, 2015); Всероссийских научно-практических конференциях по медицинской микологии – XIII Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2010); VI Всероссийском конгрессе по медицинской микологии с международным участием (Москва, 2014); 3 конгрессе евро-азиатского общества по инфекционным болезням с международным участием (Екатеринбург, 2014); Ежегодных Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2015, 2016)» (Москва, 2015, 2016); Международном научном конгрессе, посвященном 100-летию ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера «Актуальные вопросы медицины – 21 век» (Пермь, 2016); ежегодных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы инфекционных болезней» (Пермь, 2013, 2014, 2015); конференции «Об

организации работы по раннему выявлению и профилактике ВИЧ-инфекции в Пермском крае» (Пермь, 2015); выставке «Медицина и здоровье» (Пермь, 2015), конференции «Итоги работы по профилактике, выявлению и лечению больных ВИЧ-инфекцией за 2017 г» (Пермь, 2018).

По теме диссертации опубликовано 50 научных работ, в том числе 19 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования использованы:

1. При разработке методических рекомендаций (Оппортунистические микозы: методические рекомендации / соавт. Воробьева Н.Н. – Пермь: ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А.Вагнера Росздрава, 2011. – 35 с.; Микологическое исследование помещений различного функционального назначения. Исследование биологического материала от групп риска на грибы в медицинских организациях: методические рекомендации/ соавт. Александрова Г.А., Крылова И.О., Семериков В.В., Четина О.А., Варецкая Т.А. и др. – Пермь: ФБГОУ ВПО «ЕНИ ПГНИУ», 2012.- 31 с.;
2. При разработке федеральных клинических рекомендаций (Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных пациентов. Клинические рекомендации/соавт. Фельдблюм И.В., Воробьева Н.Н., Чарушин А.О., Баландина С.Ю. и др. – Н.Новгород: Изд-во «Ремедиум Приволжье», 2018.- 40 с.)
3. Основные положения, изложенные в диссертации, внедрены в учебный процесс кафедр инфекционных болезней, оториноларингологии и эпидемиологии ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России (акты внедрения от 12.03.18, 26.03.18, 17.04.18 г.).
4. Результаты научных исследований используются в практике деятельности медицинских организаций: Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Пермский краевой центр по борьбе и профилактики СПИД и инфекционных заболеваний, МСЧ №9 им. М.А.Тверье г.Перми (акты внедрения от 15.03.18, 12.04.18, 07.05.18 г.).

5. Получен патент на полезную модель «Устройство для одновременного забора биологического материала с поверхности и из глубины лакун небных миндалин №153969» (соавт.Чарушин А.О., Еловигов А.М., Воробьева Н.Н.) 13 июля 2015 г.

6. Рационализаторское предложение «Классификация кандидоза у ВИЧ-инфицированных больных» (удостоверение №2737 от 19.09.17 г.).

Личный вклад автора

Планирование темы диссертации, постановка целей, формулировка задач и положений, выносимых на защиту, проведены лично автором. Автор самостоятельно осуществлял обследование, лечение и динамическое наблюдение больных инвазивными микозами в инфекционном стационаре, проводил забор биосубстратов для микологического и молекулярно-генетического исследования.

Автор участвовал в заборе проб воздуха и смывов с объектов больничной среды медицинских организаций различного профиля.

Автор провел аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автором лично выполнен статистический анализ полученных результатов, сформулированы выводы, практические рекомендации и положения, выносимые на защиту, написаны тезисы и статьи в журналах, подготовлены выступления на конференциях различного уровня.

Личный вклад автора составил более 80%.

Микологические исследования проводились на базе лаборатории «Бактерицид» Пермского государственного национального исследовательского университета, бактериологической лаборатории Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями и Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Молекулярно-генетические исследования выполнялись на базе Пермского института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Историческая справка

Грибковые инфекции знакомы человечеству с древнейших времен. Уже в первом веке нашей эры древнеримский писатель и натуралист Плиний разделил шляпочные грибы на съедобные и вредные или пагубные. Попытки систематизировать грибы и дать им бинарную номенклатуру предложены Шарлем де Эклюзем и Карлом Линнеем. Расцвет систематики грибов пришелся на вторую половину XIX века – ее основы заложены в работах Персона и Фриза; Адамец в 1886 г. изолировал грибы из почвы на питательные среды. Первым российским микологом 19 века можно считать И. А. Веймана, описавшего более тысячи видов грибов в своей монографии «Гимено- и гастеромицеты, наблюдавшиеся в Российской империи» [38,79]. Профессор Императорского Казанского университета Николай Васильевич Сорокин впервые в мире опубликовал капитальный труд по патогенным микромицетам и бактериям и впервые в России начал университетское преподавание общей и медицинской микологии. XX век отмечен выдающимися достижениями в микологии: Дарлинг в 1906 г. описывает возбудителя гистоплазмоза (*H. Capsulatum*), Сабуро в 1907 г. – возбудителя эпидермофитии (*Epidermophyton floccosum*), А. Луц в 1908 г. открыл возбудителя южно-американского бластомикоза (*Blastomyces dermatitidis*). Р. Беркут в 1923 г. ввел в систематику род *Candida*. Через 20 лет после создания первого антибиотика были разработаны такие антимикотики, как гризеофульвин, нистатин, леворин, трихомицин, амфотерицин В [4,36]. В 1948 г. ученые Р. Дж. Дюбо и Дж. Г. Хирш опубликовали книгу «Бактериальные и микотические инфекции человека», а в 1950 г. Павел Николаевич Кашкин подготовил руководство для врачей «Дерматомикозы (человека и животных)» [38,107]. С именем П. Н. Кашкина связаны широкие исследования медицински значимых

грибов. При его активном участии был создан Всесоюзный центр по глубоким микозам и микогенной аллергии, преобразованный в дальнейшем в НИИ медицинской микологии им. Кашкина (г. Санкт-Петербург). Учеником Павла Николаевича, продолжившим его дело, является выдающийся отечественный миколог – заместитель директора НИИ медицинской микологии по научной работе, доктор биологических наук, профессор Николай Петрович Елинов.

По данным ведущих российских микологов Елинова Н.П., Аравийского Р.А., Климко Н.Н., Васильевой Н.В. к настоящему времени описано приблизительно 1,5 млн. видов грибов. Из них известно около 500 видов, способных вызывать заболевания у человека [3,38]. Ежегодно список болезнетворных грибов пополняется [57]. Разнообразная морфология возбудителей микозов привела к существованию большого количества классификаций этих заболеваний, каждая из которых отвечает запросам отдельных специалистов – биологов, микологов, эпидемиологов, патоморфологов, клиницистов. Микромицеты классифицируют по морфологическим признакам, степени патогенности, способности вызывать поражение тех или иных органов и систем и др. [107,126].

Различают первичные микозы, вызываемые облигатно-патогенными (особо опасными) грибами и оппортунистические (вторичные) микозы, причиной которых являются условно-патогенные грибы. Важным представляется деление микозов на поверхностные (изучение их является прерогативой дерматологов) и глубокие (висцеральные) [126].

Патологоанатомом Хмельницким О.К. предложено классифицировать возбудителей микозов по группам патогенности (от 1-ой до 4-ой по убыванию) в зависимости от опасности, которую они представляют для человека и общества [126].

За рубежом в основу классификации положены уровни биологической защиты (BSL). Выделяют 4 уровня (1-4), характеризующие возбудителей по уровню опасности при контакте с ними. Четвертому уровню соответствует

наибольшая биологическая опасность. Все известные возбудители микозов относятся к 1-3 группам BSL [107].

В нашей стране используется классификация микозов, основанная на патогенных свойствах грибов, клинических формах и эпидемиологии микозов, предложенная Шеклаковым Н.Д. в 1976 г. [79]:

1. Поверхностные или кератомикозы (разноцветный лишай, черная и белая пьедра).
2. Эпидермомикозы или дерматомикозы с поражением глубоких слоев кожи и ее придатков, слизистых оболочек (трихофития, микроспория, кандидоз и др.).
3. Подкожные или субкутанные микозы поражают глубокие слои кожи, мышцы, фасции, кости (споротрихоз, хромомикоз, феогифомикоз, мицетомы).
4. Системные или глубокие (висцеральные) микозы, вызванные патогенными (кокцидиоз, паракокцидиоз, криптококкоз, гистоплазмоз и др.) или условно-патогенными грибами (*Candida spp.* и плесневые грибы).

Аравийский Р.А., Климко Н.Н. и Васильева Н.В. (2004 г.) предлагают разделить микозы на 3 группы: микозы кожи и ее придатков, оппортунистические микозы, эндемичные микозы [3].

Однако не все существующие классификации, несмотря на свои достоинства, отвечают интересам клиницистов различных специальностей и учитывают клинико-патогенетические особенности микозов, такие как локализация входных ворот и первичного очага инфекции, а также пути ее дальнейшего распространения в организме человека.

Некоторые вопросы терминологии микозов остаются на сегодняшний день открытыми, «общий язык» в обозначении различных форм микозов не найден. В иностранной и отечественной литературе часто используются термины глубокие (висцеральные), системные или инвазивные микозы. Однако перечень заболеваний, обозначаемых этими терминами, четко не разграничен. В зарубежной литературе системными или глубокими микозами считают

заболевания, вызываемые оппортунистическими грибами (кандидоз, криптококкоз, аспергиллез и др.) [4,36,74,139]. Отечественные ученые Хмельницкий О.К., Хмельницкая Н.М. считают, что поверхностные и глубокие микозы отличает не столько локализация поражения, сколько степень инвазии в органы и ткани, а также пути заражения и распространения возбудителя – нисходящий, восходящий, гематогенный или лимфогенный [65,126].

Общепринятым считается обозначение терминами инвазивные, системные и глубокие микозы заболеваний, вызываемых оппортунистическими грибами, приобретающих генерализованный характер с гематогенной диссеминацией возбудителя.

Вторая половина 20 века ознаменовалась значительным ростом грибковых инфекций, что привлекло к себе внимание отечественных и зарубежных ученых различных специальностей. В работах Broun N.M., Ludlan H.A., Kauffman C.A., Rex J.H., Белобородовой Н.В., Васильевой Н.В., Клясовой Г.В., Яковлева А.А., Липницкого А.В., Караева З.О. и др. отмечено, что за последние годы микозы (заболевания, вызываемые микроскопическими грибами) стали серьезной проблемой современной медицины [50,58,72,93,139,176]. Это связано с тем, что, с одной стороны, спектр возбудителей микозов быстро расширяется, с другой стороны, формируется популяция людей с повышенной восприимчивостью как к поверхностным, так и к глубоким (инвазивным) грибковым заболеваниям. Как указывает Климко Н.Н. в руководстве «Микозы: диагностика и лечение» этому способствуют широкое распространение новых медицинских технологий, трансплантация органов и тканей, применение цитостатических и химиотерапевтических препаратов, мощных антибиотиков широкого спектра действия, системных глюкокортикоидов, использование многочисленных инвазивных приспособлений мониторинга и парентерального питания, пандемия ВИЧ-инфекции [57]. Pfaller M.A., Diekema D.J. (2010 г.) также отмечают увеличение частоты инвазивных микозов среди пациентов с ослабленным иммунитетом [241]. Вероятность возникновения инвазивных грибковых инфекций многократно возрастает при нарушении защитных сил организма

человека, к которым относят иммунодефицитные состояния, нейтропению, расстройства клеточного иммунитета, возраст и тяжелое состояние на фоне основного заболевания и др. [3,36,50,60,69,91,100,108,109,185].

По прогнозам некоторых ученых, 21 век станет «веком грибковых инфекций». Изменяются и свойства этих заболеваний. Для поверхностных микозов становится характерно хроническое рецидивирующее течение, для инвазивных – большая тяжесть клинических проявлений и очень высокая летальность [171]. По данным некоторых авторов, в мире ежегодно болеет инвазивными микозами от 700 тыс. до 1 млн. человек (Odds F., 2009).

В настоящее время установлено, что возникновение микотических инфекций связано с нарушением динамического равновесия между условно-патогенными грибами и иммунологической защитой макроорганизма. Сергеев А.Ю. и Сергеев Ю.В., изучавшие иммунитет при глубоких микозах, считают, что их развитие практически невозможно без наличия у пациентов фонового иммунодефицитного состояния [109].

Доказано, что противогрибковая защита организма в основном зависит от целостности барьера слизистых оболочек и обеспечивается клеточным звеном иммунитета. Одни авторы считают, что основную роль в защите против инвазивных микозов играют $CD4^+$ Т клетки, другие отдают предпочтение роли фагоцитов и нейтрофилов. Однако все они согласны с тем, что нейтропения, нарушение способности к фагоцитозу, а также ослабление клеточного звена иммунитета являются важнейшими факторами риска возникновения инвазивных микозов [69,108, 247,272].

Наиболее уязвимыми категориями являются иммунокомпрометированные больные с высоким риском развития этих инфекций. Крайне значимой является проблема микотических инфекций у пациентов, находящихся на лечении в отделениях реанимации и интенсивной терапии, страдающих онкологическими и гематологическими заболеваниями, о чем свидетельствуют многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов [17,65,70,58,83,93,113,176,233,241]. Большинство исследователей, занимающихся

проблемой инвазивных микозов, констатируют, что данная патология возникает у вышеперечисленной категории больных как нозокомиальная инфекция. Так, по данным George J. Alangaden, Suleyman G. (2016 г.) в последние десятилетия наблюдается рост инвазивных грибковых инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Они являются причиной повышения заболеваемости и смертности у госпитализированных больных. Этому способствует использование «агрессивных» методов лечения и применение различных химиотерапевтических и иммуномодулирующих препаратов [185]. Изучению эпидемиологии инвазивных микозов посвящены исследования, проведенные в клиниках США, Европы, Исландии, Тайваня и др., касающиеся вопросов распространенности и факторов риска отдельных инвазивных грибковых инфекций [185].

Вместе с тем, недостаточно изучены вопросы роли больничной среды в возникновении инвазивных микозов, резервуары, источники и пути передачи этих инфекций. В литературе нам встретились лишь единичные работы, посвященные этим проблемам. Суханова Ю.А. в диссертационном исследовании (2009) определила распространенность и спектр микромицетов в больничных помещениях различного назначения в г. Санкт-Петербурге. Показано, что 78% проб воздуха и 53% проб с больничных объектов контаминированы микромицетами 27 родов, с преобладанием *Penicillium spp.* и *Aspergillus spp.* [112]. Работы некоторых отечественных исследователей посвящены изучению распространенности плесневых грибов в больничной среде стационаров для пациентов с иммуносупрессией и среди госпитализированных больных (Сергевнин В.И., Кудрявцева Л.Г., Гладкова Л.С., Мещерякова А.В., Баранцевич Е.П., Зиатдинов В.Б.) [6,30,45,106].

Отсутствуют публикации, отражающие состояние и наличие взаимосвязи контаминации дрожжевыми микромицетами объектов больничной среды стационаров для иммунокомпрометированных больных и колонизации госпитализированных пациентов.

В доступной литературе нам не встретились работы, посвященные сравнительной оценке контаминации микромицетами объектов внешней среды

медицинских организаций различного типа (амбулаторно-поликлинические, стационарные, оздоровительно-реабилитационные и др.), профиля и организационно-правовых форм собственности (государственные, муниципальные, частные).

Пандемия ВИЧ-инфекции способствует росту заболеваемости инвазивными микозами. По данным Покровского В.В. в России к середине 2016 г. официальное число ВИЧ-инфицированных людей достигло 1062476, а количество новых случаев заболевания ежегодно превышает 85 тысяч [46,90].

Садилова В.А. (2014 г.) указывает, что рост числа ВИЧ-инфицированных людей приводит к закономерному увеличению количества пациентов на поздних стадиях заболевания, в стадии СПИДа с выраженным иммунодефицитом [101]. По данным Покровского В.В., Рахмановой А.Г., Лобзина Ю.В. пораженность микотическими инфекциями ВИЧ-инфицированных больных колеблется от 23,8 до 90,1%. Инвазивные микозы у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания являются серьезной клинической проблемой и имеют значительный удельный вес в структуре летальности [91,98].

Наиболее часто вызывают заболевания у ВИЧ-инфицированных оппортунистические грибы рода *Candida* и дрожжеподобный патогенный грибок *Cryptococcus neoformans*.

Диагностика этих инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции нередко является довольно сложной задачей, так как клинические признаки их часто неспецифичны, а лабораторное подтверждение может быть затруднено.

1.2. Криптококкоз

1.2.1. Этиология

Возбудитель криптококкоза – дрожжевой грибок *Cryptococcus neoformans*. Впервые описали криптококк и заболевание, им вызываемое, итальянец Ф.Санфеличе и немецкие врачи Отто Буссе (1894 г.) и Абрам Бюске (1895 г.) [39].

В настоящее время из 100 видов базидиомицетовых грибов патогенным для человека считается комплекс *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* [180]. На основании различий в распознавании полисахаридной капсулы антителами, он разделен на *C. neoformans* серотип А (*C. neoformans* var. *grubii*), серотип D (*C. neoformans* var. *neoformans*), серотип A/D и *C. gattii* серотипы В и С (прежде *C. neoformans* var. *gattii*) [219,275,283].

Гриб размножается почкованием. В тканях и питательных средах *Cryptococcus* представлен круглыми дрожжевыми клетками, размером 4-8 мкм, окруженными толстой полисахаридной капсулой, которая содержит ингибиторы фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета [151,163,166,179,210]. Кроме этого, в окружающей среде капсула играет важную роль в защите от неблагоприятных условий, таких, как обезвоживание [283]. Капсула иногда превосходит диаметр самой клетки.

Факторы патогенности криптококков изучались и описаны в работах Васильевой Н.В., Степановой А.А., Елинова Н.П., Босака И.А. Филипповой Л.В. и др. [14,15,22,23,116]. Кроме способности к капсулообразованию, к ним относятся рост при температуре 37⁰, продукция меланина, защищающего гриб от разрушения, а также синтез некоторых ферментов. Уреаза обуславливает адгезию дрожжей к эндотелиальным клеткам, не инициируя воспалительного ответа, а фосфолипаза участвует в деструкции тканей хозяина, в частности разрушает клеточные мембраны человека и облегчает прикрепление к легочному эпителию [230,279].

На среде Сабуро криптококк в стандартных условиях растет медленно, в течение недели. При температуре 30-37⁰ многие штаммы созревают за 3-4 суток. Колонии *Cryptococcus neoformans* плоские или слегка выпуклые, гладкие, блестящие, в начале роста кремового цвета, затем светло-коричневые [79].

1.2.2. Эпидемиология

Криптококк широко распространен в природе, встречается в голубином помете. Природным источником его является почва, особенно под эвкалиптами, гниющие растения, фрукты и овощи. Заболевание наблюдается у грызунов, домашнего скота, кошек, собак. Распространено повсеместно, но в субтропических, тропических регионах Африки, Юго-Восточной Азии и в Австралии криптококкоз является эндемичным микозом [4].

До развития эпидемии ВИЧ-инфекции криптококкоз считался редкой инфекцией. L. Ajello в 1970 г. определял криптококкоз как «спящую болезнь». Он выявлялся у больных онкологическими заболеваниями и людей, получающих иммуносупрессивную терапию. Клясова Г.А., Ходунова Е.Е., Kentoyiannis D.P., Peitsch W.K., Pagano L., Fianchi L., Хостелиди С.Н., Потапенко В.Г. и др. описывают криптококкоз у пациентов с онкогематологическими заболеваниями [58,127,128,200,232]. Факторами риска возникновения криптококкоза могут быть также ревматические заболевания, длительное применение глюкокортикоидов, трансплантация органов и тканей, декомпенсированный сахарный диабет, печеночная недостаточность и беременность [3,36,57,107,225]. Криптококкоз у женщин возникает реже, чем у мужчин; у взрослых чаще, чем у детей. В 10-15% случаев факторы риска не выявляются. Заболевание может развиваться у здоровых лиц при внедрении в организм большой инфицирующей дозы возбудителя.

Однако важнейшим фактором риска возникновения этого заболевания является ВИЧ-инфекция. С 1981 г. с ростом числа ВИЧ-инфицированных значительно возросла заболеваемость криптококкозом у данной категории людей. По данным Perfect J.R., Najjeh R.A., Conn L.A. этот микоз возникает у 6-10% больных СПИДом [190,238].

Елинов Н.П. и Босак И.А. указывают, что в 90-е годы XX столетия на регистрируемый криптококкоз приходилось 3-6% пациентов с ВИЧ/СПИДом в Европейских странах и 7-8% в США [39]. По данным Отдела по проведению

клинических исследований в области СПИДа (Нью-Йорк, США), криптококковый менингит является наиболее распространенным заболеванием по всему миру у людей со СПИДом [257].

В Европе с 1997 по 1999 гг. по инициативе Европейской Конфедерации медицинских микологов было проведено первое проспективное исследование криптококкоза, где зарегистрировано 655 случаев заболевания, из них в 77% - у пациентов с ВИЧ-инфекцией [20].

Криптококкоз в настоящее время считают СПИД-маркерной инфекцией.

В экономически развитых странах частота криптококкоза составляет 30-66 случаев на 1 млн. населения в год [57]. К сожалению, в мире не существует обязательной регистрации инвазивных микозов, поэтому истинная заболеваемость криптококкозом не известна.

По данным зарубежных исследований и отдельных отечественных авторов в мире ежегодно регистрируется около 1 млн. случаев криптококкоза у ВИЧ-инфицированных больных, из них умирает 680 тыс. Распространенность заболевания среди всего населения составляет от 0,3 до 0,5 на 100 тыс. человек [23,147].

В Индии (Национальный институт психического здоровья и неврологии (Бангалор) за период с 1989 по 2006 гг. было зафиксировано 335 случаев криптококкового менингита [257]. В Великобритании с 1990 г. ежегодно регистрируется от 17 до 66 случаев заболевания на 100 ВИЧ-инфицированных [223]. В Эфиопии (Аддис-Абеба) в 2003-2007 гг. на базе больницы Российского Красного Креста имени Деджамач Балчи наблюдались 114 ВИЧ-инфицированных пациентов с криптококкозом центральной нервной системы [13]. Сложная эпидемическая ситуация наблюдается в странах Африки и Юго-Восточной Азии, где до 30% пациентов со СПИД больны криптококкозом [196].

В России сведения официальной статистики по распространенности криптококкоза отсутствуют, многоцентровые исследования не проводились. В литературе описываются отдельные выявленные случаи заболевания.

По данным НИИ Медицинской микологии им П.П.Кашкина в России с 1989 по 2001 гг. выявлено 23 случая заболевания, из них 22 в стационарах г. Санкт-Петербурга, причем в 60% – у ВИЧ-инфицированных лиц [20]. Карноухова О.Г., Платонова Т.А. с соавт. (2008 г.) приводят описание первых двух случаев лабораторно подтвержденного криптококкоза на фоне ВИЧ-инфекции в Прибайкалье [52]. Бойко А.Н., Прохоренков В.И. и Гузей Т.Н. (2013 г.) представляют клиническую картину первичного криптококкоза кожи на фоне ВИЧ-инфекции в Красноярском крае [12]. Шахбазова Е.Н., Жадько Е.Н., Котляр Е.Ю. и др. (2014 г.) наблюдали 13 случаев криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов в Татарстане [134]. В исследовании Волковой О.Е., Венгерова Ю.Я., Сафоновой А.П. и др. (Москва, 2014 г.) изучались клинико-патогенетические особенности криптококкового менингоэнцефалита у 67 пациентов с ВИЧ-инфекцией [28].

Вероятность развития криптококкоза определяется степенью выраженности иммунодефицита пациентов. У ВИЧ-инфицированных больных в отсутствии противовирусного лечения при снижении $CD4^+$ Т лимфоцитов менее 200 клеток/ $мм^3$ удельный вес криптококкоза составляет от 4 до 30% и значительно уменьшается при назначении эффективной специфической терапии [57,117].

Однако другие факторы риска возникновения криптококкоза у ВИЧ-инфицированных людей не изучены.

1.2.3. Патогенез и патоморфология

Патогенез криптококкоза до конца не изучен. Большинство исследователей указывают, что заражение, предположительно, происходит воздушно-пылевым путем. Легкие являются первичным очагом локализации возбудителя, где он может персистировать длительное время [3,4,29,36,57,107,126], при этом инфекционный процесс часто протекает бессимптомно и у здоровых людей обычно проходит самостоятельно, однако возможно развитие тяжелой пневмонии с дыхательной недостаточностью [144]. При нарушении функционирования

иммунной системы и прежде всего клеточного звена иммунитета происходит гематогенная диссеминация возбудителя с поражением головного мозга и любых других органов [158,239]. Некоторые авторы считают, что инфицирование криптококками возможно контактным путем при травме кожных покровов и через желудочно-кишечный тракт [36,234,239].

Вопросы патоморфогенеза криптококковой инфекции изучались отечественными и зарубежными исследователями на основе экспериментальных лабораторных моделей и аутопсийного материала умерших пациентов.

Патоморфологические изменения различных органов при криптококкозе описаны в трудах Аравийского Р.А., Климко Н.Н., Васильевой Н.В., Хмельницкого О.К., Хмельницкой Н.М., Цинзерлинга В.А., Цинзерлинга А.В. Макроскопическая картина при криптококковой инфекции малоспецифична, иногда напоминает туберкулез. Авторы выделяют два основных типа поражения: «гелеобразный» с большим количеством размножающихся клеток гриба, мукоидной дегенерацией окружающих тканей и расплавлением вещества мозга и гранулематозный, состоящий из гистиоцитов, гигантских многоядерных клеток и лимфоцитов [3,57,126,129].

У ВИЧ-инфицированных и других больных с недостаточностью клеточного иммунитета гистологическая картина представлена пролиферацией микромицетов с минимальной лимфоцитарной и нейтрофильной инфильтрацией [87]. Обнаруживается обширное поражение капилляров, гранулематозный тип воспаления встречается редко [146,219,258].

Хмельницкий О.К., Насыров Р.А., Васильева Н.В. описали морфологические изменения головного мозга при криптококковой инфекции у ВИЧ-негативных пациентов, выявлены особенности повреждения и реакции нейроглии и сосудов [123].

В работе Ермилова В.В., Смирновой А.В., Редькиной Н.А. и др. представлены морфологические изменения при генерализованном криптококкозе с неврологическими поражениями у 2-х ВИЧ-инфицированных больных [41].

В трудах Васильевой Н.В. изучалась вирулентность различных штаммов *Cryptococcus neoformans*. Установлено, что морфология тканевых форм возбудителя изменяется по мере снижения его вирулентности. Наиболее вирулентные штаммы криптококка вызывают тяжелое поражение головного мозга и легких с формированием множества очагов лизиса на фоне подавления воспалительной реакции. Менее вирулентные штаммы приводят к возникновению гранулематозной реакции, число очагов лизиса при этом значительно меньше [20,23].

Роль различных факторов патогенности криптококков в патоморфогенезе заболевания изучалась также исследованиями зарубежных ученых Y. Wang, P. Aisen, A. Casadevall (1995), P.R. Williamson (1997), B.L. Wickes (2002), K.Voelz (2010) [274,276,279,280].

В работе Волковой О.Е., Венгерова Ю.Я., Сафионовой А.П., Свистуновой Т.С. и Тишкевича О.А. описывается характер воспалительных реакций в различных органах при криптококкозе у ВИЧ-инфицированных на 3-4 стадии заболевания. Авторы показывают уровень поражения криптококком различных органов на аутопсии, варьирующий от 2% в миокарде до 32% в головном мозге [28].

Константинова А.М. (2010 г.) провела патоморфологический и микологический анализ криптококкоза в эксперименте и на аутопсийном материале 23 ВИЧ-инфицированных пациентов. Было установлено, что в 82,6% случаев криптококкоз имел генерализованный характер. Центральная нервная система вовлекалась в процесс в 86,9% случаев, лимфатические узлы – в 69,6%, легкие – в 56,5%, печень и селезенка – в 52,1% [64]. Автором выявлено: гистологические изменения в различных органах пациентов, получавших антиретровирусную (АРТ) терапию, носили преимущественно альтеративный характер со слабо выраженным экссудативным или пролиферативным компонентом и большим количеством возбудителя. У пациентов без АРТ гранулематозное воспаление с образованием гигантских многоядерных клеток наблюдалось редко, что, судя по литературным данным, не характерно для ВИЧ-

инфицированных [63,64,125,146,158,258]. Отсутствие единого мнения специалистов по данному вопросу приводит к необходимости проведения дальнейших исследований.

1.2.4. Клиника

Особенностью криптококкоза является тяжесть клинических проявлений и очень высокая летальность. При криптококковом менингоэнцефалите у ВИЧ-инфицированных пациентов без применения противогрибковых препаратов она достигает 100% [153]. Во время начального периода терапии умирает 10-25% больных, еще 30-60% - в течение последующих 12 месяцев [20,72]. Около трети летальных исходов от СПИД-ассоциированных заболеваний в развивающихся странах является результатом течения криптококкового менингита. По оценке международной благотворительной организации AVERT, ежегодно от криптококковой инфекции умирает 500000 человек [257]. По данным Рахмановой А.Г. с соавт. (2004), криптококкоз является одной из ведущих причин смерти пациентов в стадии СПИДа [98]. Летальность зависит от уровня экономического развития страны и варьирует от 3-5 % в странах Европы и Америки до 80% в странах Африки [236].

Криптококкоз может протекать как острое, подострое или хроническое заболевание. Его проявления зависят от характера и выраженности иммунодефицита. Для криптококкоза, вызванного *Cryptococcus neoformans*, характерно преимущественное поражение легких и центральной нервной системы. Кроме этого, могут быть поражены любые органы человека, в т.ч. кожа, предстательная железа, органы зрения и костная система. Клинические формы диссеминированного криптококкоза встречаются у 10-20% больных [4,36,57].

Криптококкоз легких. Дыхательная система считается входными воротами этой грибковой инфекции. Клиническая характеристика криптококкоза легких сильно варьирует: от бессимптомного течения у иммунокомпетентных людей до возникновения тяжелой пневмонии у ВИЧ-инфицированных. У больных СПИДом

наблюдается фебрильная температура тела (81%), кашель (63%), одышка (50%), снижение массы тела (47%), редко – кровохарканье и боли в грудной клетке [3,57]. В дальнейшем криптококкоз быстро прогрессирует с развитием респираторного дистресс-синдрома и острой дыхательной недостаточности [144]. Рентгенологическое исследование легких выявляет развитие альвеолярных и интерстициальных инфильтратов, напоминающих пневмоцистную пневмонию.

Криптококкоз ЦНС. Криптококк имеет выраженную тропность к нервной ткани, вызывая частые нарушения со стороны оболочек и вещества мозга, особенно области периваскулярных зон в коре и базальных ядер. У большинства больных (70-90%) к моменту установления диагноза развивается менингоэнцефалит. Ранними симптомами этой формы являются упорная головная боль (75-90%), нарушение зрения (20-30%), неустойчивая походка, раздражительность, оглушенность. Тошнота и рвота отмечается у 40% пациентов. Лихорадочная реакция не постоянна и наблюдается в 40% случаев [28,29].

Менингеальные симптомы (ригидность мышц затылка, симптом Кернига, симптом Брудзинского) в отличие от бактериальных менингитов чаще отсутствуют или не выражены и встречаются лишь у 30-45% больных [4,36,57]. У некоторых пациентов выявляется поражение черепных нервов, обычно одностороннее. Характерным признаком криптококкового менингоэнцефалита является повышенное внутричерепное давление. По мере прогрессирования заболевания развивается кома, симптомы сдавления ствола мозга. Судороги и нарушение сознания встречаются в поздних стадиях криптококкоза. Высокое внутричерепное давление является основной причиной летальности при криптококковом менингоэнцефалите. В случае острой инфекции на вскрытии обнаруживают отек головного мозга, при хронической – признаки гидроцефалии. В спинномозговой жидкости обычно наблюдается увеличение содержания белка (500-1500 мг/мл) и лимфоцитарный плеоцитоз (5-100 кл/мкл), давление ликвора, как правило, значительно повышено (более 200 мм вод. ст.) [9].

Криптококкоз кожи. Поражение кожи является 3-им по частоте клиническим проявлением заболевания и обычно отражает диссеминированный характер процесса [36]. Эта клиническая форма встречается у 10-15% ВИЧ-инфицированных, больных криптококкозом. Кожные проявления чрезвычайно многообразны. Наиболее распространена папулезная или макуло-папулезная сыпь с центральным изъязвлением, напоминающая контагиозный моллюск. К другим формам можно отнести акнеподобные высыпания, пурпуру, везикулезную или узелковую сыпь, абсцессы, язвы, гранулемы, пустулы, целлюлит, бляшки. При любых высыпаниях возможно изъязвление [9]. Первичное поражение при криптококкозе наблюдается очень редко и является следствием прямого проникновения дрожжевых грибов в месте нарушения целостности кожных покровов при ее травматизации [12].

Криптококкоз предстательной железы. Криптококкоз простаты встречается редко и протекает, как правило, бессимптомно. Латентное инфицирование *Cryptococcus neoformans* обычно манифестирует после урологических операций на простате и гематогенной диссеминации возбудителя [204].

Криптококкоз органов зрения. Криптококкоз глаз у ВИЧ-инфицированных пациентов проявляется возникновением распространенных очагов поражения на сетчатке, в результате чего может развиваться слепота. В отдельных случаях регистрируют потерю зрения без видимых признаков эндофтальмита [245].

Развитие слепоты возникает либо вследствие инфильтрации зрительного нерва микромицетами, либо повышения внутричерепного давления.

Криптококкоз костей. Криптококкоз костей проявляется в виде одного или нескольких остеомиелитических очагов в любой части тела.

Таким образом, при криптококкозе может наблюдаться поражение различных органов и систем с очень вариабельной клинической картиной, что затрудняет своевременную диагностику заболевания. Кроме того, у ВИЧ-инфицированных на поздних стадиях он зачастую сочетается с другими оппортунистическими инфекциями. Это приводит к необходимости проведения

дальнейших исследований с целью изучения клинических особенностей криптококкоза у пациентов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

1.2.5. Лабораторная диагностика

Основным методом диагностики криптококкоза является обнаружение возбудителя *Cryptococcus neoformans* при микроскопии и посеве спинномозговой жидкости, крови и других субстратов, а также биоптата из очагов поражения.

Цитологическое исследование спинномозговой жидкости и других материалов считается наиболее простым, быстрым и дешевым методом, чувствительность которого составляет 40-70%, а по данным некоторых авторов достигает 86% [142]. При заливке мазков тушью обнаруживаются инкапсулированные дрожжевые клетки криптококков, капсула которых образует характерные ободки [151]. Вероятность выявления криптококков при микроскопии спинномозговой жидкости (СМЖ) у ВИЧ-инфицированных больных выше, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции.

Чувствительность культурального метода составляет 50-70% [3]. На стандартных микологических средах (Сабуро, Чапека и др.) криптококк растет в течение 2-10 дней [3,146,219].

Важное значение в диагностике имеет определение криптококкового антигена в СМЖ и сыворотке крови методом латекс-агломинации или ELISA-тестом. Показатели чувствительности и специфичности стандартных тестов превышают 90%. Ложноположительные результаты встречаются редко, лишь при злокачественных новообразованиях и ревматических заболеваниях. Ложноотрицательные результаты обусловлены малым количеством антигена и свойствами возбудителя (отсутствием капсулы).

Возможно также использование молекулярно-генетического метода - определения ДНК возбудителя в импульсном поле электрофорез-гелем [64].

При криптококковом менингоэнцефалите необходимо проведение КТ или МРТ головного мозга. Однако у 50% больных на стадии СПИДа патологических

изменений не выявляют. По данным Аравийского Р.А., Климко Н.Н., Васильевой Н.В. у 34% обнаруживают атрофию коры головного мозга, у 11% - признаки энцефалита, у 9% - гидроцефалию [3].

Для установления диагноза криптококкоза легких или другой локализации необходимы клинические, рентгенологические (или КТ, МРТ) признаки локальной инфекции в сочетании с выявлением *Cryptococcus neoformans* при микологическом исследовании материала из очага поражения [57].

1.2.6. Лечение

Согласно Национальному руководству «ВИЧ-инфекция и СПИД» всем больным с криптококкозом необходимо проведение люмбальной пункции для исключения менингита.

Антифунгальная терапия для достижения ремиссии и профилактики рецидива является важнейшим лечебным мероприятием. Основной режим лечения криптококкового менингита включает назначение амфотерицина В 0,7-1,0 мг/кг/сутки внутривенно капельно в течение 14 дней, затем флюконазола 400 мг 1 раз в сутки внутрь в течение 8-10 недель. Альтернативные режимы предполагают использование флюконазола 400-800 мг 1 раз в сутки 6-10 недель; итраконазола по 200 мг 3 раза в сутки внутрь 3 дня, затем по 200 мг 2 раза в сутки 6-10 недель; липосомального амфотерицина В из расчета 4 мг/кг/сутки внутривенно капельно 14 дней, затем флюконазола по 400 мг 8 недель [27].

Климко Н.Н. указывает на возможность использования в качестве альтернативных препаратов при менингите у больных СПИДом вориконазола (в/в 6 мг/кг в 1-й день, затем 4 мг/кг или внутрь 0,4 г/сутки) [57].

В руководстве NIH/CDC/IDSA 2008 г. по профилактике и лечению оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных взрослых и подростков предлагается применение сочетания амфотерицина В 0,7 мг/кг/сутки и флуцитозина 100 мг/кг массы тела в сутки) с последующим переходом на флюконазол 800-400 мг/сутки 10 недель. Флюконазол и вориконазол хорошо

проходят через ГЭБ (гематоэнцефалический барьер). Амфотерицин, обладая фунгицидным действием, плохо проникает через ГЭБ, поэтому использование его в комбинации предпочтительнее монотерапии. Кроме того, это позволяет снизить дозу амфотерицина и уменьшить его токсическое действие [13,29,94]. Прекращают антифунгальную терапию только после эффективной в течение 6 месяцев АРТ до достижения $CD4^+$ Т лимфоцитов 150-200 клеток.

Коррекция внутричерепного давления – обязательное условие снижения ранней летальности. Пациентам проводят ежедневные люмбальные пункции до его нормализации, при неэффективности – дренаж или шунтирование.

Способствует успешному лечению криптококкоза у ВИЧ-инфицированных снижение выраженности факторов риска и назначение АРТ. По данным разных авторов, примерно у 30% пациентов при одновременном начале лечения криптококкоза и назначении АРТ через 30 дней развивается воспалительный синдром восстановления иммунной системы (ВСВИС), который проявляется признаками менингита, повышением давления СМЖ, содержания белка и лейкоцитов в ликворе при отсутствии *Cryptococcus neoformans* [9,27,57]. По мнению Дж.Бартлетт, Дж.Галлант, П.Фам, возможно, что отсрочка начала АРТ до окончания фазы индукции противокриптококковой терапии на 2 недели позволит уменьшить риск развития ВСВИС [9].

Таким образом, несмотря на большой интерес к данной теме зарубежных и отечественных ученых, большое количество публикаций, остаются нерешенными некоторые вопросы криптококкоза у ВИЧ-инфицированных больных на поздних стадиях. Это касается некоторых эпидемиологических (распространенности, факторов риска, роли больничной среды в возникновении заболевания) и клинико-патогенетических аспектов заболевания.

1.3. Кандидоз

Кандидоз – самый распространенный оппортунистический микоз, вызываемый грибами рода *Candida spp.* Наиболее актуальной эта проблема, по

мнению большого количества исследователей, становится для ВИЧ-инфицированных людей [3,8,36,38,57,65,91,98]. Симптомы кандидоза сильно варьируют, нередко являясь клиническими маркерами прогрессирования иммунодефицита. Проценко О.А., Поддубная А.И., Vermund S.H., Farrokh R. и др. авторы в своих работах показали, что на ранних стадиях ВИЧ-инфекции преобладает поверхностное поражение кожи и слизистых оболочек, на поздних - чаще возникают глубокие инвазивные микозы [88,95,110,178,273].

1.3.1. Этиология

Грибы рода *Candida* – дрожжевые клетки овальной или эллипсоидной формы, размерами от 1,5 до 15 мкм, имеющие многослойную стенку. В природе их зарегистрировано более 700 видов [132]. Кандидоз у ВИЧ-инфицированных пациентов способны вызывать 15-20 видов [40,79,132].

Кандиды относятся к несовершенным грибам (не установлено половое размножение). Как указывают ведущие микологи Елинов Н.П. и Васильева Н.В. представители этого рода характеризуются вегетативным размножением путем почкования и способностью образовывать нити псевдомицелия из растущих почкующихся клеток (кроме *C.glabrata*) [40]. Оптимальный рост их наблюдается при t 37° С. Микروмицеты являются факультативными анаэробами, чувствительны к высокой температуре, при 60-70° погибают через несколько минут.

Кандиды обладают многочисленными факторами патогенности, которые проявляются в полной мере при условии нарушений в системе антимикробной резистентности хозяина [136,187].

Способность кандид выработать ферменты агрессии и защиты (фосфолипазу, протеиназу и др.) имеет большое значение при возникновении кандидоза [84]. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Schaller M., Borelli C., Korting H.C. Smolenski G., Sullivan P.A., Gutfield S.M. изучали вирулентность кандид. По их мнению, важность фосфолипаз и протеиназ связана с тем, что они участвуют в

процессе инвазии в ткани хозяина, разрушении клеточных мембран и поверхностных молекул, а также клеток и молекул иммунной системы, являясь факторами патогенности. [44,253,263]. По одним данным, фосфолипазная активность (ФЛА) присуща только *C. albicans*, по другим – она резко усилена у этого вида по сравнению с другими [44,54]. Имеются сведения о том, что и протеазы участвуют в процессе адгезии. В частности, они способны воздействовать на поверхность дрожжей, модифицируя их адгезины, или на клетки хозяина, обнажая лиганды [212]. Доказано, что их продукция может облегчить инвазию посредством разрушения кератина и коллагена [220]. По данным Зеленовой Е.Г., Заславской М.И., Махровой Г.В. степень адгезии коррелирует с патогенностью грибов, причем наибольшая «активность» в модельных экспериментах отмечена у *C. albicans* [44]. Однако внедрение гриба в ткани внутренней среды и инвазия в сосуды отмечаются лишь в отсутствии или при неэффективности защитных тканевых и клеточных реакций, ограничивающих рост возбудителя, что наблюдается при ВИЧ-инфекции [51].

В работе Карпуниной Т.И. и Трухиной Е.В. приводятся результаты исследования ФЛА *C. albicans* при различных формах вагинального кандидоза у женщин без ВИЧ-инфекции. При этом коэффициент вирулентности у них не превышал 0,9 [53]. В работах, проведенных Ibrahim с соавт. (1995 г.) было показано, что более высокий уровень продукции фосфолипаз наблюдается у изолятов *C. albicans*, выделенных из крови больных кандидозом (11 проб) по сравнению с комменсалами из ротовой полости здоровых добровольцев [195].

В связи с этим, необходимо дальнейшее изучение ферментативной активности кандид, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов с различными формами кандидоза и с объектов внешней среды, их роли в возникновении заболевания.

По результатам большого количества исследований зарубежных и отечественных ученых, наиболее распространенным возбудителем кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов является *C. albicans*. В зависимости от формы заболевания на долю этого возбудителя приходится от 30 до 80%

[3,21,37,79,80,99,231,246]. Самое большое число поражений отмечают в полости рта, далее по убыванию встречаются персистирующий вульвовагинит, ИК, кандидоз пищевода и поверхностный кандидоз кожи [8]. Короткова Т.Н. в диссертационном исследовании (2006 г.) указывает, что *C. albicans* вызывает около 90% случаев локального и 50-70% — генерализованного кандидоза [66].

До 1980-х годов основным видом, вызывающим инвазивные кандидозы являлась *Candida albicans*, имеющая наиболее высокую тропность к человеческой ткани *in vitro* и в эксперименте. *Candida albicans* более вирулентный вид грибов рода *Candida*. Однако с 1990-х гг. отмечается устойчивое увеличение относительной частоты *non-albicans* видов *Candida*, вызывающих диссеминированный кандидоз [7,59,131,267].

По данным мета-анализа Joshua Perlroth, Bryan Choif, Brad Spellberg (2007 г.), в серии наблюдений, проведенных в США и многих странах Европы, *Candida albicans* вызывала около 50% ИК, а *Candida glabrata* - 15-25%. В Латинской Америке и Испании второй по частоте причиной ИК была *Candida parapsilosis*, а *Candida glabrata* занимала третье место. В 10-20% случаев возбудителем ИК была *Candida tropicalis*.

Другие виды кандид значительно реже вызывают заболевание. Лишь в онкологических центрах, где широко применяется профилактика азолами, *Candida krusei* может быть причиной более 10% случаев ИК [140].

Васильева Н.В., Климко Н.Н., Цинзерлинг В.А. в рекомендациях по диагностике и лечению инвазивных микозов указывают, что большинство (93–97%) возбудителей кандидемии и ОДК составляют *C. albicans* (15–60%), *C. parapsilosis* (5–40%), *C. glabrata* (5–25%), *C. tropicalis* (5–15%) и *C.krusei* (3–7%). Примерно 3–7% возбудителей составляют *C. lusitaniae*, *C. quilliermondii*, *C. rugosa*, *C.kefyr* и пр. Вид кандид коррелирует с чувствительностью к антимикотикам [19]. По результатам многоцентрового исследования ARTEMIS Disk в России *C. albicans*, являясь ведущим возбудителем кандидозов, сохраняет высокую чувствительность к флюконазолу (98,9% чувствительных штаммов). Однако некоторые кандиды, например *C. Krusei*, первично устойчивы к нему. В

этих случаях возможно применение вориконазола, который был активен в отношении всех грибов рода *Candida spp.* [26].

Поэтому при микологических исследованиях чрезвычайно важна идентификация грибов рода *Candida* до вида с определением резистентности к антимикотикам, что позволяет выбрать адекватный противогрибковый препарат.

1.3.2. Эпидемиология

ИК относится к числу самых распространенных микозов в мире. Ежегодно регистрируется более 400000 случаев этого заболевания. По данным Brown G. et al., заболеваемость ИК составляет от 2,4 до 29,0 на 100000 населения в год [153].

На основании общепопуляционных исследований, проведенных в США, Австралии и странах Европы в период с 2001 до 2013 гг., показатели распространенности ИК среди населения колебались: в европейских странах от 1,5 (в Англии) до 9,4 на 100000 населения (в Дании); в США они составили 8,0 на 100000 населения; в Австралии – 1,8 на 100000 населения в год [143,156,194,197,229,284].

Более широко в литературе представлены результаты многоцентровых исследований, в которых отражена информация о частоте ИК среди госпитализированных больных [141,155,161,211,222,229,268,269].

Так, в США за период 1996-2003 гг. заболеваемость ИК составила 19-24 случая на 1000 госпитализированных больных [173], в Италии – 1,1 на 1000 [224,268].

В Испании по итогам двух многоцентровых исследований, проведенных в 2008-2010 гг., заболеваемость ИК варьировала от 0,92 до 1,09 на 1000 госпитализированных [242,260].

По данным многоцентрового исследования в странах Южной Америки (2008 – 2010 гг.) частота распространенности ИК среди госпитализированных больных колебалась от 0,33 в Чили до 1,95 на 1000 в Аргентине, со средним уровнем 1,18 [228].

В России распространенность ИК изучена недостаточно. В литературе опубликованы результаты единичных многоцентровых исследований, посвященных этой проблеме. Так, в диссертационной работе Шагдилеевой Е.В. (2014 г.) изучена частота ИК у различных категорий больных в 26 многопрофильных стационарах 12 городов России. Показатель распространенности составил 0,3 на 1000 госпитализированных больных. В реанимационных отделениях он был равен 2,6 [132].

В отечественной литературе имеются лишь отдельные противоречивые сведения о распространенности ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов [132]. Барина А.Н., Плавинский, Зайцева Е.Е. (2012 г.) опубликовали результаты работы по изучению микозов у ВИЧ-инфицированных больных в 10 регионах РФ. По их данным, в структуре общего числа микотических оппортунистических инфекций доля ИК была равна 1,24%, а генерализованного кандидоза – 5,19%, при этом авторы не дают четких критериев для разграничения понятий инвазивного и генерализованного кандидоза [8].

В литературе имеется немало исследований, проводимых в РФ [17,58,83,93,113] и за рубежом [160,169,193,205,208,214,215,224,229,233,282], посвященных изучению факторов риска возникновения инвазивных грибковых инфекций у различных категорий пациентов. Большое количество публикаций отражает данные о пациентах, находившихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии и перенесших хирургические вмешательства. Длительность пребывания (более 7 суток) в ОРИТ само по себе является фактором риска возникновения заболевания [185,254].

Проведенное многоцентровое исследование во Франции выявило следующие факторы риска ИК в ОРИТ: хирургические вмешательства, применение ИВЛ и антибактериальных препаратов, нейтропению, онкологические и гематологические заболевания [206]. Такие же факторы риска были установлены в США [169].

Наряду с этим, в проспективном исследовании, проведенном в Австралии, обнаружены такие значимые факторы риска развития ИК - старший возраст,

применение системных противогрибковых препаратов в анамнезе и внутривенное употребление наркотических веществ [156].

Кроме этого, дополнительными факторами риска инвазивных микозов у пациентов ОРИТ являются использование центральных венозных катетеров и парентерального питания, что было показано в многоцентровом проспективном исследовании, проведенном в Китае [188].

В работе, проведенной в Греции, отмечаются независимые факторы риска возникновения ИК, вызванного видами *Candida non-albicans*. Ими стали: применение глюкокортикостероидов, наличие центрального венозного катетера и кандидурия [167,172,173].

В публикации George J. Alangaden, Suleyman G. (2016 г.) приведены результаты метаанализа литературных данных. Указано, что предрасполагающими факторами риска инвазивных грибковых инфекций, в частности кандидоза, являются нейтропения, качественная дисфункция нейтрофилов и клеточного иммунитета, а также нарушение целостности слизистых оболочек. Кроме того, в общенациональном наблюдении, проведенном в 49 американских больницах в период 1995-2002 гг., установлены следующие факторы риска кандидемии: афроамериканское происхождение, старческий или молодой возраст, наличие онкологических заболеваний и сахарного диабета, применение внутрисосудистых катетеров. К дополнительным факторам риска отнесены хирургические вмешательства на органах брюшной полости, почечная недостаточность, гемодиализ, использование антибиотиков и иммуносупрессивных препаратов, а также колонизация грибами рода *Candida spp.* [185]. Вопрос о том, играет ли роль в возникновении ИК только факт колонизации микромицетами или количество колонизированных локусов в организме человека, до сих пор остается открытым.

Грибы рода *Candida spp.* широко распространены в природе и могут находиться на любых объектах внешней среды – почве, воде, воздухе, продуктах питания, а также на предметах больничной обстановки. Макарова Н.Ю. и Покровский В.В. в обзорной статье указывают, что наиболее опасными из них

являются хирургический и эндоскопический инструментарий, перевязочный материал, катетеры и парентеральные растворы [77]. Любимова А.В. в диссертационном исследовании изучила контаминацию микромицетами больничной среды в детском стационаре для новорожденных и установила высокий уровень обсемененности *Candida albicans* различных предметов, в частности шлангов электроотсосов, применяемых для санации трахеобронхиального дерева, а также рук персонала [76]. В работе Калининой И.И., Литвинова Д.В., Веселовой И.В. с соавт. приводится анализ эпидемической вспышки кандидемий, произошедшей в отделении детской гематологии, источником которой стал контаминированный раствор 4% хлорида калия для внутривенного введения [48].

В последние десятилетия во всем мире ИК рассматривается как инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи у пациентов с иммунодефицитом, так как основные факторы риска развития ИК наиболее характерны для пациентов, находящихся в стационарах. В многочисленных многоцентровых исследованиях установлено увеличение числа случаев инвазивного кандидоза у госпитализированных больных [141,143,169,185,203,222,235,240]. Доказано, что *Candida spp.* являются наиболее распространенными грибковыми патогенами, вызывающими внутрибольничные инфекции (ВБИ), особенно у пациентов в ОРИТ. Согласно данным CDC (Centers for Diseases Control and Prevention - центр по борьбе и профилактике болезней) и National Healthcare Safety Network (национального комитета безопасности здоровья) США – *Candida spp.* занимает пятое место среди всех возбудителей внутрибольничных инфекций и четвертое место среди всех возбудителей, выделяемых из крови.

Однако более недавние исследования обнаружили, что *Candida spp.* сейчас третий по частоте возбудитель, выделенный из кровотока, после *Staphylococcus epidermalis* и *Staphylococcus aureus* [240].

В некоторых случаях ИК возникает без гематогенной диссеминации как результат ятрогенного заражения, как происходит при операциях на глубоких органах [240]. Другими примерами служат кандидозный перитонит у пациентов с

длительным перитонеальным диализом, менингит у больных с вентрикулярными шунтами, эндокардит после протезирования клапанов [107].

Сама по себе ВИЧ-инфекция, по данным отдельных авторов, не является независимым фактором риска развития ИК. У ВИЧ-позитивных пациентов имеют место те же факторы риска, что и у больных без ВИЧ-инфекции [240]. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. указывают, что ВИЧ-инфекция и СПИД не приводят к развитию глубокого кандидоза без значительного снижения числа и функции нейтрофилов [107]. Тем не менее, кандидоз относится к числу наиболее частых оппортунистических микозов у ВИЧ-инфицированных.

Знание факторов риска способствует ранней диагностике и своевременному лечению заболевания. Между тем, факторы риска возникновения ИК у ВИЧ-инфицированных больных не изучены.

Известно, что *Candida albicans* обладает уникальным свойством заселять кожу и слизистые оболочки здоровых людей, вызывая кандидозное носительство [107]. Частота его достигает 90-100% в кишечнике, 45-50% - в ротовой полости, 20-40% - во влагалище, до 9% - на коже и до 7% - на слизистых бронхов [79].

«Доброкачественность поведения» кандид у здоровых лиц обусловлена не комменсализмом, а скорее является результатом сильных врожденных и адаптивных реакций иммунной системы хозяина, которые ограничивают рост потенциально опасного микроорганизма в экологических биотопах [154].

У ВИЧ-инфицированных людей по многочисленным данным зарубежных и отечественных авторов частота колонизации кандидами различных локусов значительно выше [16,37,78,80,99,114,186,199]. В частности, Dupont В. (1992), Бессараб Т.П. и Мокина Т.А. (2003), Свистушкин В.М. (2010), Лопатин А.С. (2010) в своих работах указывают, что степень колонизации полости рта и глотки у больных с ВИЧ-инфекцией достигает 90-95% [11,75,104,174]. Варецкая Т.А., Оборин Д.А. и др. в наблюдении за 8650 ВИЧ-инфицированными пациентами установили, что *Candida spp.* обнаруживаются в ротоглотке в 97,4% случаев. Наиболее часто с поверхности слизистой выделяли микромицеты *Candida albicans* (82,1%) [18].

Таким образом, возбудитель инфекции может находиться как во внешней среде, так и в организме самого больного. Однако дальнейшие пути передачи кандидозной инфекции у ВИЧ-инфицированных больных на поздних стадиях остаются не до конца выясненными. Наиболее изученным является парентеральный при введении наркотических препаратов и применении инвазивных медицинских манипуляций. Среди возможных авторы указывают на контактный, алиментарный и аэрозольный, однако убедительных доказательств их реализации в доступной литературе мы не встретили [4,36,40,77,107,185].

Вместе с тем, судя по литературным данным, чаще диссеминированный кандидоз возникает как эндогенная инфекция [77,107,126,57,185,40]. Этот вопрос остается на сегодняшний день открытым.

1.3.3. Патогенез и патоморфология

Одной из причин развития системного кандидоза считается непосредственное проникновение возбудителя в кровь через стенку желудочно-кишечного тракта при массивной колонизации кишечника [36]. При этом диссеминация происходит по системе воротной вены, поражается печень и селезенка и возникает гепатолиенальный диссеминированный кандидоз [107]. J.Perlroth, B.Choif, B.Spellberg (2007) указывают, что первым шагом в патогенезе гематогенного диссеминированного кандидоза является колонизация [240]. Далее в организме иммунокомпromетированных людей чрезмерный рост кандид вкупе с повреждением слизистой в местах микробного обсеменения может облегчить последующую инвазию в ткани и/или их гематогенную транслокацию, вызывая различные, в том числе и системные кандидозы с формированием отдаленных вторичных очагов [121,126].

Однако пока не ясно, все ли штаммы, колонизирующие человека, способны обусловить развитие инвазивного процесса при возникновении факторов риска; или же заболевание вызывается более вирулентными штаммами,

циркулирующими в больничной среде. Выяснение этих вопросов без применения молекулярно-генетических методов не представляется возможным.

В обзорной статье J.Perlroth, B.Choif, B.Spellberg показано, что для ответа на этот вопрос были проведены некоторые исследования, но они дали неоднозначные результаты [240]. Одни авторы проследили передачу штаммов *Candida spp.*, вызвавшего ИК, от пациента к пациенту через послеоперационную рану посредством операционной медицинской сестры; другие, напротив, выявили, что источником заболевания была эндогенная флора, которая стала патогенной у иммунокомпроментированного человека [240].

Исследования Eggiman Ph. с соавт. с использованием генотипирования штаммов кандид показали, что эндогенные колонии являлись причиной развития большинства (90%) случаев ИК [175].

Подобные исследования с применением молекулярно-генетических методов у ВИЧ-инфицированных пациентов в России не проводились.

Патоморфологические изменения в органах и тканях, возникающие при инвазивных микозах, в частности кандидозе, описаны в фундаментальных трудах ведущих ученых в этой области – Хмельницкого О.К., Хмельницкой Н.М., Цинзерлинга А.В., Цинзерлинга В.А., Аравийского Р.А., Елинова Н.П.

Хмельницкие О.К. и Н.М. выделяют 3 наиболее частых типа ответа тканей на внедрение возбудителя: отсутствие выраженных тканевых реакций, острая экссудативная воспалительная реакция и туберкулоидная гранулематозная реакция [121,126].

Отсутствие реакции возникает, как предполагается, в том случае, когда иммунная система хозяина не распознает чужеродный агент или происходит торможение реакции организма. Острая воспалительная экссудативная реакция часто обнаруживается при гематогенной диссеминации *C.albicans* и проявляется формированием абсцессов. При неполном уничтожении кандид возникает третий тип реакций и развивается микотическая гранулема. В центре ее казеоз и живые грибы отсутствуют, но образуются гигантские эпителиоидные клетки, по периферии – лимфоциты. Как отмечают авторы ряда исследований, при ВИЧ-

инфекции наблюдается значительное снижение количества интраэпителиальных макрофагов – клеток Лангерганса.

Патоморфологические изменения при генерализованном кандидозе у различных категорий больных и в экспериментальных моделях изучались многими исследователями [3,32,40,61,120,122,126,129]. Метастатические очаги часто обнаруживались в селезенке, костном мозге, печени, почках, миокарде, щитовидной железе, головном мозге и др. Большинство авторов наблюдали в органах образование либо участков некроза, либо гранулем, сходных с туберкулезными, что зависело от длительности патологического процесса. Характерно также поражение сосудов: повышение проницаемости стенки, наличие микотических тромбов с прорастанием в них псевдомицелия гриба, узелковый васкулит.

В своей работе Каминский Ю.В., Тимошенко В.С. и др. описывают вовлечение в патологический процесс при генерализованном кандидозе у наркоманов и онкологических больных желудочно-кишечного тракта, легких, мочевых путей [49].

Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Васильева Н.В. и др. указывают, что микроскопическое исследование пораженных тканей при кандидозе обнаруживает как дрожжевые, так и мицелиальные формы гриба [3,71]. Адекватная клеточная реакция тормозит размножение гриба и развитие заболевания [51]. Поэтому для кандидоза, развивающегося при иммунодефиците, наиболее типичным является активное разрастание нитчатых структур возбудителя. Реакция на них при этом становится минимальной или отсутствует [3,124,126]. Некоторые исследователи описали инвазию псевдомицелия в просвет сосуда, что привело, по их мнению, к развитию острого диссеминированного кандидоза [34,122].

Таким образом, все исследователи отмечают разнообразные тканевые изменения при генерализованном кандидозе. Немаловажным обстоятельством, по мнению Хмельницкого О.К., является тот факт, что при этом заболевании может иметь место сочетанное действие грибов *Candida spp.* и микробной флоры. Автор

указывает на возникновение наиболее выраженных некротических изменений, сопровождающихся гемодинамическими расстройствами в случаях одновременного обнаружения в органах и тканях кокковой флоры и кишечной палочки [126].

У ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания нередко имеет место сочетание большого количества других возбудителей оппортунистических, кроме грибковых – бактерий, вирусов, простейших. Их совместное воздействие на организм и ответные реакции тканей изучено недостаточно и требует проведения дальнейших исследований.

1.3.4. Клиника

Выделяют множество вариантов клинического течения ИК. На долю кандидемии и ОДК приходится 70-85% от числа всех случаев заболевания [57].

Кандидемией называется присутствие грибов *Candida spp.* в крови, независимо от клинических проявлений [107]. Характерными признаками острого кандидозного сепсиса является лихорадка до 38-39⁰С, рефрактерная к интенсивной антибактериальной терапии, нередко с ознобами (у 98% больных), дыхательная недостаточность (у 21%), нестабильность гемодинамики со склонностью к гипотензии и тахикардия. У части больных развивается инфекционно-токсический шок (19%), синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (11%) и полиорганная недостаточность, быстро приводящие к летальному исходу [24,36,57,107,132].

В проспективных рандомизированных исследованиях было доказано, что клиническая картина кандидозного сепсиса и септического шока не отличается от бактериального. Не выявлено также отличий в проявлениях сепсиса, вызванного различными видами *Candida spp.* (*C.albicans* и *Candida non-albicans*) [189,206,282].

Летальность при кандидемии чрезвычайно высока и варьирует от 30 до 60% [3].

Диссеминированный кандидоз включает признаки кандидемии в сочетании с поражением внутренних органов или кожи. Диагноз подтверждается при наличии кандидемии и обнаружении *Candida spp.* при гистологическом исследовании и (или) посеве материала из двух и более областей глубоких тканей [4,56].

Различают острый и хронический диссеминированный кандидоз.

При ОДК могут поражаться практически все органы и ткани, но наиболее часто почки, центральная нервная система, легкие, органы зрения, сердце, кости, кожа и подкожная клетчатка.

Кандидоз почек, как указывает Сергеев А.Ю., развивается у большинства больных с диссеминированной инфекцией [107]. По данным других авторов, он возникает у 15-20% пациентов [57]. Заболевание может протекать как первичный острый или обструктивный пиелонефрит или как хронический пиелонефрит и гидронефроз. Проявляется лихорадкой с ознобом, болями в животе и пояснице, изменениями в анализах мочи [107,118]. Нередко поражение почек при кандидозе устанавливается по данным секционного материала [226]. Характерным признаком является возникновение двусторонних множественных мелких абсцессов, обнаруживаемых на КТ или УЗИ. У небольшой части больных развивается ОПН.

Диагноз подтверждается на основании клинических, КТ или УЗИ признаков в сочетании с выявлением *Candida spp.* при исследовании биоптата почки.

Кандидоз легких проявляется неспецифическими симптомами – кашлем и одышкой на фоне проявлений кандидозного сепсиса. Заболевание характеризуется быстрым прогрессированием. Рентгенологическое исследование лишь у половины больных прижизненно выявляет мелко- и крупноочаговую диссеминацию, нередко – диффузные двухсторонние инфильтраты. КТ легких является более эффективным методом диагностики, очаги с нечеткими контурами обнаруживают у 80-100% больных; альвеолярную инфильтрацию – у 60-80%; очаги, связанные с сосудами, – у 40-50%; инфильтрацию по типу матового стекла – у 20-30%; симптом «ореола» - у 10% [57,133].

Диагноз устанавливают только при определении *Candida spp.* в биоптате из очага поражения, т.к. выделение кандид из мокроты или бронхоальвеолярной жидкости свидетельствует о колонизации глотки и бронхов.

Поражение органов зрения встречается в виде эндофтальмита - воспаления внутренних оболочек глаза, нередко с формированием абсцесса в стекловидном теле или ретинита - воспаления сетчатки глаза. Частота поражения глаз варьирует от 10 до 37% [36]. Возникает в результате гематогенного распространения *Candida spp.* (чаще *C. albicans*) и нередко приводит к слепоте [207,249].

Развитие хориоретинита сопровождается болевым синдромом, другие симптомы разнообразны и колеблются от нечеткости зрения, появления плавающих пятен перед глазами, скотом, вплоть до полной слепоты. У пожилых пациентов возможна стертая клиническая картина [36]. В связи с этим офтальмоскопию необходимо проводить всем больным с кандидемией.

При офтальмоскопии выявляют отек роговицы (чаще односторонний), фибринозный экссудат в передней камере, очаговое (в виде ватных шариков) или диффузное помутнение стекловидного тела, инфильтраты сетчатки и тяжи между очагами и сетчаткой [4,36,107]. Диагноз ставят при наличии клинических, офтальмологических признаков поражения органов зрения, выявлении *Candida spp.* из очага поражения и крови.

Кандидозный эндокардит как проявление ОДК встречается чаще миокардита и перикардита и составляет от 2 до 5% всех случаев инфекционного эндокардита [2,182,184,262]. Результаты многоцентрового исследования в 26 стационарах 12 городов России показали, что кандидозный эндокардит составляет 1% всех случаев ИК [132]. Более чем у половины больных причиной заболевания является *C. albicans* [4]. В последние годы регистрируют рост случаев кандидозного эндокардита в связи с протезированием клапанов сердца и внутривенным введением препаратов [149]. На протезированных клапанах образуются биопленки с резистентной микрофлорой [264]. Часто кандиды поражают аортальный и митральный клапаны [248], однако у инъекционных

наркоманов характерно поражение трикуспидального клапана, вызываемое *C.parapsilosis* [4,184,262].

Клинические проявления кандидозного эндокардита сходны с бактериальным: лихорадка, сердцебиение, одышка, боли и шумы в области сердца [3,57,96,107,192,237,270]. Исключение составляют более частое образование крупных вегетаций и эмболов в просвете магистральных сосудов, обнаруживаемое при ЭХО-КГ исследовании [36].

Диагноз устанавливают на основании выявления *Candida spp.* при исследовании материала из пораженного клапана сердца.

Кандидозный менингит как проявление ОДК встречается в 10-14% случаев, преимущественно у детей, инъекционных наркоманов и пациентов с ослабленным иммунитетом, в т.ч. ВИЧ-инфицированных лиц [35,107,261]. Может возникать как осложнение у больных после нейрохирургических вмешательств [57]. По данным некоторых авторов, *Candida spp.* являются ведущими возбудителями грибковых нейроинфекций, особенно у иммунокомпрометированных больных [227,252].

Клинические признаки кандидозного менингита неспецифичны, поэтому его следует дифференцировать с менингитами иной этиологии (бактериальным, туберкулезным и криптококковым) [107,250]. Основными симптомами являются лихорадка, головная боль и общемозговая симптоматика. У многих больных, особенно детей, наблюдается гипертензионно-гидроцефальный синдром [3,35,57,107].

Изменения в ликворе также неспецифичны: нейтрофильный или лимфоцитарный плеоцитоз, белково-клеточная диссоциация.

Более редкой формой кандидоза ЦНС является абсцесс мозга, одиночный или множественные, которые при КТ исследовании выглядят как гомогенные или кольцевидные очаги с окружающим отеком [107].

Диагноз устанавливают на основании воспалительных изменений в СМЖ и выявления *Candida spp.* при микроскопии и посевах ликвора.

Кандидозные артриты и остеомиелиты развиваются как проявление ОДК в 5-15% случаев вследствие гематогенной диссеминации у инъекционных наркоманов и пациентов с другими факторами риска [107,177,227,271]. По данным зарубежных авторов, наиболее часто наблюдается поражение коленного либо тазобедренного суставов и межпозвоночных дисков [202,271,277].

Симптоматика кандидозного артрита и остеомиелита неспецифична – боль, отек в пораженном отделе и снижение объема движений. Заболевание характеризуется затяжным течением и отсутствием эффективности от антибактериальной терапии [107,202].

Диагноз устанавливают на основании клинических, КТ или РГ признаков в сочетании с обнаружением *Candida spp.* в суставной жидкости.

Кандидоз кожи при ОДК развивается в 10% случаев и характеризуется появлением папулезной, пустулезной и узелковой сыпи диаметром 0,5-1,0 см на гиперемизированном фоне. Элементы имеют склонность к изъязвлению в центре. Сыпь локализуется преимущественно на конечностях, реже на туловище и волосистой части головы. Многие авторы описывают развитие подкожных абсцессов [4,33,107,119]. По данным Харахордина О.Е. поражения кожи у пациентов с иммунодефицитом протекают упорно, часто рецидивируют и иногда приобретают гранулематозный характер [119]. Диагноз устанавливается на основании выделения *Candida spp.* из биоптатов кожи.

Хронический диссеминированный кандидоз (ХДК) возникает на фоне нейтропении, часто у пациентов с онкогематологическими заболеваниями при лечении цитостатиками. Наиболее часто поражается печень и селезенка, но возможна генерализация с вовлечением других органов [4,107]. По данным Ларионовой В.Б., Быкова Д.А. ХДК с поражением печени и селезенки выявляется примерно у 7% больных с лейкемией [68]. Симптомы ХДК – лихорадка, устойчивая к антибактериальной терапии, боли в животе, гепатоспленомегалия, потеря веса. При исследовании крови выявляется лейкоцитоз и повышение показателей щелочной фосфатазы.

При КТ, МРТ, УЗИ в печени, селезенке и иногда в почках обнаруживаются мелкие (до 1 см) очаговые образования. Заболевание характеризуется высокой частотой рецидивов и летальностью. Диагностика затруднена, необходимо выявление возбудителя в биоптате пораженного органа.

Таким образом, при ИК наблюдается большое разнообразие клинических форм, вовлечение всех органов и систем в патологический процесс. Вместе с тем, судя по данным литературы, особенности клинического течения ИК у ВИЧ-инфицированных на поздних стадиях заболевания изучены недостаточно.

1.3.5. Лабораторная диагностика

Своевременное выявление ИК у ВИЧ-инфицированных больных остается сложной задачей современной медицины, т.к. клинические проявления неспецифичны, а лабораторная диагностика часто затруднена [24,31].

У пациентов с клиническими признаками ИК и факторами риска диагностические и лечебные мероприятия должны проводиться безотлагательно. Диагноз ИК выставляется на основании выявления *Candida spp.* из крови и других «стерильных» в норме биологических материалов [19,40,57].

Классическими методами диагностики ИК являются прямая микроскопия, гистологическое исследование тканей и бактериологические методы, хотя они и обладают ограниченной чувствительностью. Основная сложность заключается в трудности получения биообразцов от пациентов. Образцы тканей и жидкостей из «стерильных» в норме биосубстратов должны быть получены и собраны в асептических условиях для немедленной транспортировки в лабораторию.

Микроскопия препарата включает кроме рутинных (гематоксилином-эозином) специальные методы окрашивания серебром и PAS (перйодной кислотой – реактивом Шиффа), требует знаний для интерпретации и не может быть использована для окончательной идентификации гриба [36,57].

Посевы крови и других биосубстратов остаются основными методами и «золотым стандартом» диагностики ИК (рекомендации ESCMID 2013 г.).

Полученные культуры *Candida* из «стерильных» в норме тканей или жидкостей, как правило, свидетельствует о наличии ИК, тогда как отрицательные результаты посевов, в свою очередь, не исключают ИК. В случае положительного результата посевов необходимо проводить идентификацию вида *Candida* [36,40]. И хотя культуральные методы обладают высокой чувствительностью (70%) в отношении грибов рода *Candida*, однако положительный результат может быть получен лишь на поздних стадиях заболевания [145,168,215]. Другим «минусом» является получение отсроченного результата.

Некультуральные методы основаны на обнаружении компонентов клетки грибов, в частности глюканов, что может быть использовано для исключения диагноза ИК [145,217]. Однако они разработаны недостаточно.

Серологические методы диагностики ИК предназначены для выявления циркулирующих в крови грибковых антигенов и антител, но с их помощью невозможно отличить инфекцию от колонизации [277]. Вследствие этого они применяются в качестве вспомогательного метода для диагностики грибковых инфекций у пациентов с высоким риском. Для диагностики кандидоза измеряют содержание в сыворотке крови маннана и антиманнанных антител, причем сочетание этих двух методов имеет чувствительность около 80%, а специфичность – 90% [256]. Положительным качеством их является возможность использования в качестве ранней диагностики, до получения посевов, в настоящее время они рекомендованы ESCMID. Однако применение серологических методов у ВИЧ-инфицированных больных проблематично ввиду высокой колонизации данной категории пациентов кандидами.

Молекулярные методы диагностики разработаны на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), где в режиме реального времени выявляются родо- и видоспецифичные гены гриба. Чаще всего применяют праймеры к последовательности внутреннего транскрибируемого спейсерного гена рРНК грибов (транскрибированный спейсер 2 (ITS2)). Детекция специфического гена *KEP1*, кодирующего новый протеин, обогащенный лизином/глутаминовой кислотой, не имеющий гомологии с любыми другими известными

последовательностями, позволяет обнаружить *C.albicans*, идентифицировать и дифференцировать его от всех видов *C.non-albicans*, включая *C.krusei* и *C.glabrata*, устойчивых к флюконазолу [140,181].

В настоящее время проводятся исследования эффективности метода ПЦР в диагностике ИК [165]. Положительные результаты являются однозначным подтверждением диагноза ИК, а отрицательные - не исключают его.

Для диагностики и успешного лечения ИК необходимо не только выявление, но и точная видовая идентификация *Candida spp.* Она может проводиться биохимическими (тест-система AUXACOLOR2), основанными на ассимиляции сахаров, физико-химическими (MALDI-TOF масс-спектрометрия) с экстракцией белков гриба и сравнении их со стандартом, молекулярными (ДНК-сиквенирование) методами. Рауш Е.Р., Васильева Н.В., Полищук А.Г. с соавт. (2013) провели сравнительное исследование этих методов для определения вида *Candida spp.*, выделенных от пациентов с ИК и показали высокий процент совпадения между результатами ДНК-сиквенирования, признанного референсным методом [221] и MALDI-TOF масс-спектрометрии [97].

Возможности применения молекулярно-генетических методов чрезвычайно широки и не ограничиваются лишь диагностикой заболевания. С их помощью устанавливают внутривидовое типирование *Candida spp.* для определения родства штаммов кандид, выделенных из различных локусов пациентов и внешней среды. Самостоятельный интерес представляет их генотипическая характеристика и изучение микробиологических свойств.

Использование рибосомных последовательностей при идентификации и генотипировании широко применяется для микромицетов, включая *C. albicans* [198,266]. McCullough et al. (1997) предложили с помощью полимеразной цепной реакции по конечному продукту (specific-ПЦР) с использованием праймера, предназначенного для перекрытия интронного региона 25S рРНК, классифицировать штаммы *C. albicans* на четыре генотипа по длине получаемого ПЦР-продукта [213]. Хорошую дискриминирующую способность на штаммовом уровне имеют методы, в основе которых лежит использование праймеров,

комплементарных консервативным повторяющимся последовательностям ДНК. Так, несколько исследований показали, что ПЦР повторяющихся внегенных полиндромных последовательностей (repetitive estrogenic palindromic sequence PCR; rep-ПЦР) хорошо коррелировала с пульс-электрофорезом – молекулярной технологией, которая признана «золотым стандартом» в изучении эпидемиологии микроорганизмов [157,162,209].

Генетическая дискриминация на основе 25S рРНК позволяет распределить все культуры *C. albicans* в четыре геномогруппы: генотип А (450 п.н.), генотип В (840 п.н.), генотип С (450 и 840 п.н.), а также генотип D (1080 п.н.). Согласно данным зарубежных ученых, грибы *C. albicans* генотипа А составляют большинство при поверхностных кандидозах (75,6%) [191], орофарингеальном кандидозе (57,1%) и часто выделяются со слизистой полости рта у здоровых лиц (64,7%) [266].

В исследовании Takagi и соавт. (2013) установлено, что культуры генотипа D были обнаружены только у здоровых людей, но не у больных кандидозом [266]. В этой же работе подчеркивается, что кандиды генотипа С встречались только в группе пациентов с кандидозной инфекцией.

По мнению Dignani M.C., Solomkin J.S., Anaisse E. (2003) из внешней среды *C. albicans* выделяются реже, чем другие виды кандид, вследствие их большей патогенности (адаптации к паразитизму) для человека [170]. Встречаемость *C. albicans* генотипа А в клинических образцах показана в подавляющем большинстве исследований, где использовалось генотипирование на основе 25S рРНК, но соотношение кандид различных генотипов варьировало и отличалось среди сообщений [191,198,266]. Однако существенной разницы между распределением генотипов и источником изоляции штаммов не обнаружено [218].

Отдельные исследования были направлены на изучение связей между изолятами кандид, выделенных из различных локусов больных. Так, Nattori H. и соавт. (2006) установили, что штаммы, изолированные из комменсальных областей (паховая область, желудочно-кишечный тракт), были идентичны культурам, вызывающим впоследствии поверхностный кандидоз этих пациентов.

В другой работе показано, что у ВИЧ-инфицированных пациентов рецидивы орального кандидоза после лечения антимикотиками, как правило, был вызваны тем же самым штаммом возбудителя [251].

Многие зарубежные авторы в своих работах подчеркивают, что мультивариабельность культур встречается чаще в группе здоровых лиц (при комменсализме), чем при кандидозной инфекции [259,266]. Тем не менее, описано персистирование трех различных MLST-вариантов *C. albicans* (мультилокусное сиквенс-типирование) у одного пациента с инфекцией кровотока в короткий период времени (10 дней) [164].

Таким образом, разработано множество методов диагностики ИК, однако самостоятельно ни один из них полностью не отвечает запросам современной медицины.

1.3.6. Лечение

Адекватная и своевременная противогрибковая терапия инвазивных микозов имеет очень важное значение для жизни пациентов, поэтому при обнаружении признаков ИК ее начинают безотлагательно [19,24,36,57]. Позднее назначение антимикотиков увеличивает летальность [148,183].

По данным Российских национальных рекомендаций по диагностике и лечению микозов в ОРИТ препаратами выбора для лечения ИК являются каспофунгин (уровень доказательности А) (кроме менингита и эндофтальмита) и флуконазол (А – В), альтернативные препараты – вориконазол (А – В), амфотерицин В (А – В), липидный комплекс амфотерицин В (С) [82]. Зарубежные исследования последних лет показали возможность использования новых препаратов из группы эхинокандинов для лечения ИК. В многоцентровом рандомизированном двойном слепом исследовании Reboli A.C. и др. установлено, что анидулафунгин не уступает в эффективности флуконазолу, за исключением ИК, вызванного *C. parapsilosis* [201,244].

Выбор противогрибкового препарата зависит от возраста и состояния больного, наличия нейтропении, вида возбудителя и его чувствительности к противогрибковым препаратам [9,27,36,94]. Кроме того, на выбор препарата влияет ранее проводимая антифунгальная профилактика или эмпирическая терапия [25,57].

Длительность антифунгальной терапии определяется исчезновением клинических симптомов ИК и сроками последнего выявления кандид при посеве крови и биосубстратов из очагов поражения, после чего ее продолжают еще 2 недели [19,227].

Всем пациентам с ИК необходимо удаление или замена всех внутрисосудистых катетеров, шунтов, протезов и др.

Важнейшим компонентом лечения является устранение или уменьшение влияния факторов риска, а при ВИЧ-инфекции - назначение АРТ [9,27].

1.4. Профилактика

Профилактика ИСМП является актуальной проблемой как в РФ, так и во все мире [81].

Заболеваемость ими отражает, в определенной степени, качество помощи в медицинской организации, влияет на уровень экономических затрат и репутацию учреждения здравоохранения [67,115].

ИСМП наносят значительный социальный и экономический ущерб мировому сообществу. Сроки госпитализации пациентов с ИСМП увеличиваются в 2-3 раза, риск летального исхода возрастает в 5-7 раз. По данным официальной статистики, в США ежегодно от ИСМП умирает около 88 тысяч больных, ежегодный экономический ущерб составляет 4-10 млрд. долларов, в Великобритании – около 1 млрд. фунтов стерлингов. В России экономические затраты при ИСМП составляют приблизительно 10-15 млрд. рублей в год. Однако очевидно, что эти цифры не в полной мере отражают современную ситуацию [73,81,89,92]. Истинная заболеваемость ИСМП неизвестна. По данным

официальной статистики в России ежегодно регистрируется 40-50 тысяч случаев, а по оценкам некоторых экспертов, основанных на выборочных исследованиях, эта цифра достигает 2 млн. [62].

Внутрибольничные грибковые инфекции занимают особое место среди ИСМП.

В России существует «Концепция профилактики внутрибольничных инфекций» (2011 г.), которая определяет цель, принципы и основные направления совершенствования национальной системы профилактики ИСМП, механизмы обеспечения ее функционирования и ожидаемый социально-экономический эффект [1].

Решение проблемы ИСМП зависит от проведения эффективных мер инфекционного контроля и профилактики [43].

Качество воздуха в медицинских учреждениях играет важное значение в профилактике ИСМП.

По данным ряда авторов и ВОЗ условно-допустимый уровень клеток грибов в воздухе помещений составляет 500 КОЕ/м³ [35,263,264,265]. В таких концентрациях споры микромицетов не вызывают заболеваний у людей с интактной иммунной системой. При повышенном уровне микотического загрязнения больничных помещений вероятность возникновения этих заболеваний многократно возрастает.

Количество микромицетов в воздухе больничных помещений регламентируется санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами. В СанПиН 2.1.3.1375-03, введенных в действие 30 июня 2003 года, были определены допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений лечебных учреждений в зависимости от их функционального назначения и класса чистоты. Согласно им, в помещениях класса чистоты А (особо чистые), Б (чистые) и С (условно-чистые) наличие плесневых и дрожжевых микромицетов в воздухе не допускалось, а в «грязных» - не нормировалось [102].

В СанПин 2.1.3.2630-10, принятых 18 мая 2010 г., требования изменились. Регламентируется лишь общее количество микроорганизмов в помещениях

классов чистоты А и Б до начала работы и во время работы. Следует обратить внимание, что в данном документе количество микромицетов в воздушной среде медицинских организаций не нормируется [103].

Между тем, микробиологический мониторинг воздушной среды необходим для решения проблемы ИСМП.

Кроме воздуха, в стационарах важными факторами распространения патогенов являются медицинское оборудование, инструменты, предметы больничной среды. Особую роль в профилактике внутрибольничного инфицирования больных и персонала в медицинских организациях играют дезинфекционные мероприятия [137,138]. Возбудители ИСМП формируют «госпитальные штаммы», устойчивые к антимикробным и дезинфицирующим препаратам [55,105,265].

В настоящее время в лечебных учреждениях применяется более сотни наименований средств, где в качестве действующих веществ используются спирты, производные хлора, пероксид водорода, фенолы, четвертичные аммониевые соединения и другие. Однако, нет ни одного дезинфицирующего средства, которое было бы идеальным, т.е. сочетало в себе высокую эффективность и абсолютную безопасность для пациентов и персонала. В России от 25 до 35% медицинских работников страдают заболеваниями, связанными с их ежедневным контактом с дезинфицирующими препаратами [5].

В то же время в РФ до сих пор широко применяются соединения хлора. В практике используются как современные средства, основанные на производных изоциануровой кислоты, так и высокотоксичные соединения гипохлорита кальция. Риск применения производных хлора велик, они могут вызвать раздражение слизистых оболочек глаз, верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта; доказан также канцерогенный эффект этих препаратов. Кроме того, они проявляют выраженное коррозионное действие, обесцвечивают материалы. Есть сведения о низкой активности их в отношении плесневых грибов и возбудителей туберкулеза [10].

В литературе имеются публикации, посвященные изучению действия противогрибковых препаратов *in vitro* [47], однако их явно недостаточно. В связи с этим, важное значение имеет разработка и внедрение в практику надежных, высокоэффективных и малотоксичных дезинфицирующих средств в тех стационарах, где находятся на лечении пациенты с иммуносупрессией, в частности ВИЧ-инфицированные.

Таким образом, анализ имеющейся литературы по проблеме инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) свидетельствует о том, что до настоящего времени многие вопросы остаются недостаточно изученными у такой категории пациентов, как ВИЧ-инфицированные и требуют проведения дальнейших исследований.

В мире не существует обязательной регистрации инвазивных микозов, поэтому истинная заболеваемость, в том числе среди ВИЧ-инфицированных, не известна.

Факторы риска их возникновения у больных с ВИЧ-инфекцией изучены недостаточно.

Механизмы развития эпидемического процесса инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов, госпитализированных в специализированный стационар, а также особенности циркуляции микромицетов в больничной среде остаются неокончательно выясненными. Подобные исследования с применением молекулярно-генетических методов у ВИЧ-инфицированных пациентов в России не проводились.

На поздних стадиях ВИЧ-инфекции у пациентов нередко имеет место сочетание большого количества других возбудителей оппортунистических инфекций, кроме грибковых – бактерий, вирусов, простейших. Их совместное воздействие на организм и ответные реакции тканей мало изучено и требует проведения дальнейших патоморфологических исследований.

Патогенез инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции не до конца выяснен. Требуют уточнения вопросы первичной локализации

возбудителей, их персистенции и дальнейших путях диссеминации в организме человека.

Характеристика различных субпопуляций *C. albicans*, их биологические особенности на основе генотипов, и корреляции с распространенностью, клиническими проявлениями могут иметь важное значение для объяснения взаимоотношений кандид (комменсализм или патогенность) с организмом ВИЧ-инфицированного человека и понимания патогенеза инвазивного кандидоза. Молекулярно-генетическое исследование культур *C. albicans*, изолированных в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов с оценкой их эпидемиологической значимости в России не проводились.

Антимикотическая терапия инвазивных микозов является своевременной и адекватной лишь у 15-40% больных [57,65], что связано во многом с недостатком данных о клинических проявлениях этих заболеваний. В связи с этим, актуальной задачей является выявление клинических особенностей инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) у ВИЧ-инфицированных на поздних стадиях заболевания.

Все вышеизложенное послужило основанием для проведения настоящего исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе кафедр инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России.

Клинические базы:

- ГБУЗ ПК Пермская краевая клиническая инфекционная больница
- Пермская краевая клиническая больница
- Гематологическое отделение МСЧ №1 г.Перми
- Пермский краевой онкологический диспансер
- ОРИТ и родильное отделение МСЧ №9 г.Перми

Лабораторные базы:

- Клиническая и бактериологическая лаборатории Пермской краевой клинической инфекционной больницы, зав. лабораториями Главатских В.Р. и Катрецкая Г.Г.
- Бактериологическая лаборатория ГБУЗ «Пермский краевой центр по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», зав.лабораторией Варецкая Т.А.
- Научно-исследовательская лаборатория «Бактерицид» ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», зав. лабораторией Баландина С.Ю.
- Пермский институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, д.м.н., проф. Кузнецова М.В.

2.1. Материалы исследования и группы пациентов

Наименование объекта наблюдения и материала исследования	Число наблюдений, годы	Задачи исследования
Данные официальной статистики Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю	2007-2010 гг.	Анализ результатов производственного контроля медицинских организаций для оценки микробного пейзажа
Учетно-отчетная документация (журналы регистрации исследований внешней среды) микробиологических лабораторий г.Перми и Управления Роспотребнадзора по Пермскому краю»	2007-2010 гг. 2145 проб в 198 медицинских и немедицинских организациях (салоны красоты, парикмахерские, оздоровительные учреждения) (153 муниципальных и 45 частных)	Оценка уровня обсеменения микромицетами объектов внешней среды (воздуха и смывов) в ходе производственного контроля, изучение микробного пейзажа
Учетно-отчетная документация бактериологической лаборатории ПК «ПККИБ» (журналы регистрации исследований внешней среды)	2008-2010 гг. 8 стационарных, 2 поликлинических отделения, аптека. 10185 проб (воздух 161, смывы 10024)	Оценка уровня обсеменения объектов внешней среды (воздуха, смывов) микромицетами в ходе производственного контроля, изучение микробного пейзажа
Медицинская документация (медицинская карта стационарного больного, форма №003/у)	2012 г. 1417 ед.	Активный поиск случаев кандидоза, вызв. <i>C.albicans</i>
Амбулаторная карта пациента (форма №025/у-04)	2012 г. 102 ед.	Изучение факторов риска развития инвазивного кандидоза (исследование «случай-контроль»)
Образцы биологического материала от пациентов, из них: Кровь	2012-2014 г. 1784 пробы	Изучение колонизации микромицетами <i>C.albicans</i>

Ликвор	370	
Ротовая жидкость	81	
Отделяемое верхних дыхательных путей	506	
Моча	284	
Кал	158	
Вагинальный секрет	120	
Кожа рук	127	
	138	
Аутопсийный материал пациентов, умерших от инвазивных микозов	2007-2015 гг. 49 чел. 146 образцов	Патоморфологическое и гистологическое исследование
Пробы с объектов внешней среды в медицинских организациях риска возникновения ИК, из них: воздух в помещениях, смывы с поверхностей (санитарно-техническое и медицинское оборудование, постельные принадлежности, перчатки, вентиляционные решетки, дверные и прикроватные ручки, тумбы, подоконники)	2012-2015 гг. 934 пробы 311 623	Изучение уровня и интенсивности контаминации микромицетами
Штаммы <i>C.albicans</i>	2012-2014 г. 70 ед.	Молекулярно-генетическая и микробиологическая характеристика
Пациенты с ВИЧ-инфекцией всего Из них с инвазивными микозами, Без инвазивных микозов	2007-2015 г. 522 чел. 114 чел. 408 чел.	Углубленное обследование (клиническое, лабораторное, инструментальное)
Пациенты с ИК	2007-2015 г. 46 чел.	
Пациенты с криптококкозом	2007-2015 г. 68 чел.	

Лица, контактные с больными инвазивными микозами	2012-2015 г. 52 чел.	
ВИЧ-инфицированные пациенты без инвазивных микозов (контрольная группа)	2012-2015 г. 133 чел.	Изучение факторов риска развития инвазивных микозов (в исследовании случай-контроль)
Медицинский персонал	2012-2014 г. 62 чел.	Изучение колонизации рук микромицетами

2.2. Методы исследования

Эпидемиологические

- Ретроспективный эпидемиологический анализ уровня обсемененности микромицетами объектов внешней среды учреждений медицинского и немедицинского профиля с оценкой многолетней динамики результатов производственного контроля и определением эпидемической тенденции (методика кафедры эпидемиологии СПб ГИДУВа им.Кирова в модификации Шляхтенко Л.И.: Речкин В.И., Лебедев А.И., 1989 г.)
- Скрининговые исследования. Активный поиск *C. albicans* в эпидемически благополучный период по инвазивному кандидозу (на первом этапе в 2012 г.) проводился методом ретроспективного эпидемиологического анализа медицинских карт ВИЧ-инфицированных пациентов, госпитализированных в специализированное отделение ПККИБ. Дополнительно организовано специальное обследование ВИЧ-инфицированных пациентов, находившихся на лечении в специализированном стационаре и объектов

внешней среды для выявления *C. albicans*. Обследование больных включало клинические, микробиологические и инструментальные методы. Исследованы образцы клинического материала из «стерильных» и «нестерильных» в норме биосубстратов. В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах изучены пробы воздуха, смывы с поверхностей предметов (вентиляционные решетки, дверные ручки, подоконники, раковины, тумбочки пациентов, прикроватные ручки) и рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

- Проспективное эпидемиологическое наблюдение. В эпидемическом очаге ИК в стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов (на 2-ом этапе: июль 2013 г. - октябрь 2014 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения изучена циркуляция *C. albicans*. Исследованием охвачен 21 человек, из них 3 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом инвазивный кандидоз, обусловленный *C. albicans* и 18 пациентов, контактировавших с ними. Исследование проводилось при поступлении больных в стационар и через 8 дней. Диагноз ИК поставлен в соответствии с критериями EORT/MSG (2008 г.). Аналогично 1 этапу исследования изучены образцы клинического материала и пробы с объектов внешней среды.

Нами проводилось изучение циркуляции микромицетов *Cryptococcus neoformans* среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды специализированного стационара в разные периоды. Исследование выполнялось в 2014-2015 гг. при нахождении в стационаре пациентов с генерализованным криптококкозом и без него.

На первом этапе (2014 г.) в эпидемически благополучный по криптококкозу период было проведено специальное обследование 132 пациентов и 109 объектов внешней среды. Исследованы образцы клинического материала из «стерильных» и «нестерильных» в норме биосубстратов. В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах изучены пробы воздуха, смывы с поверхностей предметов и рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

На 2-ом этапе (2015 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения изучена циркуляция *Cryptococcus neoformans* среди пациентов и в больничной среде стационара при нахождении там больных криптококковой инфекцией. Исследованием охвачено 40 человек, из них 6 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом генерализованный криптококкоз, и 34 пациента, контактировавших с ними. Аналогично 1 этапу изучены пробы клинического материала, с объектов внешней среды и рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

- Аналитические: исследование «случай-контроль». Изучение потенциальных факторов вероятного развития ИК проводилось в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов Пермской краевой клинической инфекционной больницы в 2012-2014 гг. В группу «случай» вошли 43 пациента с подтвержденным диагнозом ИК (по критериям ESCMID Candida Guidelines 2012 г.). Контрольную группу составили 59 пациентов без ИК. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, территории проживания, стадии ВИЧ-инфекции (4 стадия вторичных заболеваний согласно классификации Покровского В.И. 2001 г.), количеству CD4⁺ Т лимфоцитов < 350 кл/мкл, отсутствию АРТ.

Был отобран ряд признаков ИК, частота которых в группе пациентов с ИК статистически значимо отличалась от таковой в группе «контроль». Изучались 2 группы потенциальных факторов развития ИК – медицинские (путь заражения ВИЧ-инфекцией и ее длительность, наличие хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), сахарного диабета, хронического гепатита С, орофарингеального кандидоза (ОФК), туберкулеза, оперативные вмешательства и стационарное лечение в течение 30 дней до госпитализации, тяжесть состояния пациента, пребывание в ОРИТ, ИВЛ, количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови) и «общественно-поведенческие» (трудоустройство, нахождение в учреждениях ФСИН, зависимость от ПАВ. При оценке синдрома зависимости от ПАВ учитывался вид зависимости (алкогольная и наркотическая) и клиническая форма зависимости согласно МКБ-10 (активная зависимость с употреблением наркотических веществ внутривенно и период воздержания).

Изучение потенциальных факторов развития криптококкоза проведено в исследовании «случай-контроль» в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов Пермской краевой клинической инфекционной больницы в 2014-2015 гг. В группу «случай» вошли 68 пациентов с подтвержденным диагнозом генерализованный криптококкоз. Контрольную группу составили 74 пациента без криптококкоза, находившиеся в этом же отделении в этот же период времени. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, территории проживания, стадии ВИЧ-инфекции (4 стадия вторичных заболеваний согласно классификации Покровского В.И. 2001 г.), количеству CD4⁺ Т-лимфоцитов < 350 кл/мкл, отсутствию АРТ.

В качестве гипотетических факторов развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных нами были включены как медицинские (путь заражения ВИЧ-инфекцией и ее длительность, наличие ХОБЛ, хронического гепатита С, туберкулеза, сахарного диабета, стационарного лечения в течение 30 дней до госпитализации, тяжесть состояния пациента, количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови), так и «общественно-поведенческие» (трудоустройство, условия проживания, нахождение в учреждениях ФСИН, зависимость от ПАВ. При оценке синдрома зависимости от ПАВ учитывался вид зависимости (алкогольная и наркотическая) и клиническая форма зависимости согласно МКБ-10 (активная зависимость с употреблением наркотических веществ внутривенно и период воздержания).

Были рассчитаны чувствительность и специфичность каждого признака и их сочетаний. Чувствительность определяли по доле пациентов с инвазивными микозами, у которых данный признак положительный. Специфичность теста определяли по доле пациентов без инвазивных микозов, у которых признак был отрицателен (Таблица 1).

Таблица 1 - Результаты теста по оценке чувствительности и специфичности.

	Болезнь	Отсутствие болезни
Положительный результат	Истинно + (a)	Ложно + (b)
Отрицательный результат	Ложно – (c)	Истинно – (d)

Истинно положительным считали результат, когда болезнь есть, и тест ее подтверждает, истинно отрицательным – когда болезни нет, и тест ее исключает, ложноотрицательным – когда болезнь есть, но тест ее не отрицает, ложноположительным – когда болезни нет, но тест ее подтверждает.

Чувствительность и специфичность рассчитывали по формуле:

$$\text{Чувствительность} = a / (a + c) \times 100\%$$

$$\text{Специфичность} = d / (d + b) \times 100\%$$

Микробиологические методы

- Исследование обсемененности объектов внешней среды медицинских учреждений осуществляли по общепринятым методикам в соответствии с Методическими указаниями МУК 4.2.2942-11.

Исследование проводили в следующих медицинских учреждениях г.Перми: специализированное отделение для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов, отделения реанимации и интенсивной терапии инфекционного и хирургического профилей, гематологическое, радиологическое отделение онкологического диспансера, родильное отделение (взято в качестве медицинской организации сравнения).

Для изучения контаминации микроорганизмами эпидемиологически значимых поверхностей объектов больничной среды пользовались методом смывов (качественным и количественным). Смывы брали не менее чем с 5 точек поверхности площадью около 100 см^2 с помощью стерильных ватных тампонов на палочках, вмонтированных в пробки пробирок. Для увлажнения тампонов в пробирки наливали 2 мл 0,1% стерильной пептонной воды с добавлением нейтрализаторов дезинфицирующих растворов. Далее пробирки инкубировали при температуре 37°C в течение 18-20 часов. Для выделения микроорганизмов смывы помещали в жидкие питательные среды: среда Кесслера для выделения бактерий группы кишечной палочки; среда накопления для энтерококков и псевдомонад, бульон Сабуро для выделения дрожжевых грибов, агар Чапека для

плесневых грибов. После культивирования при $37 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ 4-5 дней (бактерий) и $26 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ 7-14-21 день (грибов) производили высевы на твердые селективные питательные среды. Количественный подсчет и качественный анализ проводили визуальным осмотром с последующей микроскопией и идентификацией. Окончательный результат представлен в перерасчете колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 дм^2 поверхности.

Микробиологическое исследование воздуха проводили аспирационным методом с помощью устройства автоматического отбора ПУ-16 (ЗАО «Химко») в 3-х точках каждого помещения на уровне 1,2 м от пола. Использовали среды в объеме 20 мл для выявления бактерий (желточно-солевой и мясо-пептонный агар), плесневых грибов и дрожжей (Сабуро и Чапека). Тумблер «объем» ставили в положение 100 л или 250 л для уменьшения погрешности при подсчете (Методические рекомендации Пермь, 2012 г.). После посева чашки Петри инкубировали в термостате при температуре 25°C (для выявления плесневых и дрожжевых грибов) в течение 5-7 (до 21) дней и при 37°C – для выявления общего числа бактерий и золотистого стафилококка в течение 24-48 часов. При подсчете колоний, не превышающих 35, наиболее вероятное число КОЕ равно числу колоний. С увеличением количества колоний в отобранной пробе расчеты производились по формуле: $C=1000P/Q$, где C – концентрация КОЕ в воздухе, P – вероятное число КОЕ в отобранной пробе, Q – объем отобранной пробы в литрах.

- Выделение культуры микромицетов и видовая идентификация. Микологические исследования биологических образцов включали выявление возбудителей инвазивных микозов (кандидоза и криптококкоза) в крови и других «стерильных» и «нестерильных» в норме биосубстратах, определение вида микромицетов и чувствительности к антимикотическим препаратам.

Обследуемым пациентам выполняли посевы крови и ликвора во флаконы с жидкой средой Сабуро в соотношении 1:5 и инкубировали при температуре 37°C в течение 10 суток. Ежедневно производили просмотр и микроскопию выросших колоний. На 9 день инкубации производили приготовление микроскопического препарата и посев на плотную питательную среду Сабуро.

Определение вида возбудителя проводили посредством микроскопического исследования культуры (определение ростовых трубок), наличием роста на хромогенном агаре, типирования с помощью биохимической тест-системы Auxacolor-2 (BioRad, США).

Оценку чувствительности микромицетов к антимикотическим препаратам проводили диско-диффузионным методом. Для оценки чувствительности микромицетов к противогрибковым средствам и интерпретации результатов использовали стандарты EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

- Изучение ферментативной активности *C. albicans*. Активность фосфолипазы и протеазы оценивали согласно методике Price M.F. и др. (1982), Ruchel R. и др. (1982) в модификации Карпуниной Т.И. и др. (2006). Определение протеиназной активности (ПА) *C. albicans* проводили по следующей методике: засеянные культурой чашки Петри с питательной средой (мясо-пептонный агар с желатиной) термостатировали при $25\pm 1^\circ\text{C}$ в течение трех суток, после чего проводили измерение диаметра выросшей на агаре колонии *C. albicans* и диаметра зоны разжижения агара вокруг колонии. Коэффициент вирулентности (Кв) рассчитывали по формуле: $\text{Кв}=\text{A}/\text{D}$, где А - среднее значение диаметра зоны разжижения вокруг колонии, D – среднее значение диаметра выросших колоний. Для чистоты эксперимента опыт повторяли трехкратно.

Для определения фосфолипазной активности (ФЛА) к 50,0 мл агаризованной среды Сабуро добавляли 0,8 мл яичного желтка, суспензированного в 20,0 мл стерильного физиологического раствора. Засеянные бульонной культурой чашки Петри с указанной выше модифицированной средой Сабуро инкубировали при $37\pm 1^\circ\text{C}$ в течение трех дней, измеряли диаметр выросших колоний, диаметр зон преципитации (образовавшейся вокруг колонии) и рассчитывали коэффициент вирулентности (Кв) по вышеуказанной формуле.

Патоморфологические исследования. Проводили патогистологические исследования аутопсийного материала от 49 больных, умерших от инвазивных микозов (криптококкоза – 28, кандидоза – 21). Гистологические препараты

кусочков тканей после парафиновой заливки окрашивались по общепринятым методикам гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, Грамму, Цилю-Нильсену, альциановым синим, муцикармином, проводили ШИК-реакцию.

Молекулярно-генетические. Исследовано 70 штаммов *C. albicans*, изолированных от пациентов и с объектов больничной среды в специализированном отделении Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Из них 45 штаммов выделены от 19 пациентов (колонизация и инфекция), 25 штаммов – с объектов больничной среды (тумбочки, ручки дверей, вентиляционные решетки). Тотальную ДНК выделяли модифицированным методом, предложенным J. Marmur (1999). Генетическое типирование штаммов осуществляли посредством трех методов: на основе детерминации последовательности интронной области 25S рРНК с праймерами CA-INT-L (5'-ATAAGGGAAGTCGGCAAAATAGATCCGTAA) и CA-INT-R (5'-CCTTGGCTGTGGTTTCGCTAGATAGTAGAT) ERIC-ПЦР (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus sequences) с праймером ERIC2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG) и RAPD-ПЦР (Random Amplified Polymorphic DNA) с произвольными праймерами А, 6, 13. Амплификацию проводили на термоциклере DNA Engine Dyad Thermal Cycler («Bio-Rad», США). Протокол ПЦР для пары CA-INT-L/CA-INT-R был следующим: начальный цикл – 96°C, 2 мин, затем 30 циклов (денатурация – 96°C, 30 сек; отжиг – 60°C, 3 сек; элонгация – 74°C, 30 сек), заключительный цикл – 72°C, 3 мин. Температура и время отжига при проведении ERIC- и RAPD-ПЦР: 45°C – 1 мин и 36°C – 30 сек соответственно. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см. Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гельдокументации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США). Дендрограммы филогенетического родства штаммов построены с применением компьютерного обеспечения Quantity One (версия 4.6.1, «Bio-Rad», США).

Клинические. Анамнестические данные и данные объективного осмотра (физикальное обследование). При необходимости – осмотр невролога, окулиста, оториноларинголога, гинеколога, психиатра-нарколога.

Лабораторные. Общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови, исследование спинномозговой жидкости методом латекс-агглютинации, иммунологическое исследование крови (определение вирусной нагрузки ВИЧ копий/мл, количество CD 4⁺ Т-лимфоцитов), метод ПЦР для определения нуклеиновых кислот при дифференциальной диагностике инвазивных микозов с бактериальными, вирусными и протозойными заболеваниями.

Инструментальные. Компьютерная и магнитно-резонансная томография (КТ и МРТ) органов грудной клетки, брюшной полости и головного мозга, рентгенография органов грудной клетки, УЗИ органов брюшной полости..

Статистические. Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета «Microsoft Excel 2000» и программы Statistica 6.0. При анализе полученных результатов определяли среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$). Достоверность отличий двух независимых выборок определяли по критерию Манна-Уитни (M-U-test). При $p < 0,05$ делался вывод о наличии статистически значимой разницы между сравниваемыми выборками. Сравнение качественных признаков выполняли с использованием коэффициента ассоциации Fisher (ϕ -критерий) и вычислением χ^2 . Количественные показатели во всех группах соответствовали критериям нормального распределения Гаусса, их оценка проведена построением гистограмм эмпирического ряда и теоретических кривых нормального распределения. При сравнении полученных данных использовались параметрические и непараметрические методы статистического анализа. Для оценки достоверности связи между фактором риска и исходом в исследовании типа «случай-контроль» использовали отношение шансов (ОШ). При оценке статистической значимости ОШ исходили из значений 95% доверительного интервала.

ГЛАВА 3. КРИПТОКОККОЗ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

3.1. Распространенность и факторы риска криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов

Распространенность криптококкоза у ВИЧ-инфицированных изучали в специализированном отделении Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Установлено, что частота криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов по многолетним данным (с 2007 по 2015 гг.) составила 5,1 на 1000 госпитализированных больных (68 пациентов из 13134 госпитализированных). За этот период произошел рост заболеваемости более чем в 20 раз (с 0,9 в 2007 г. до 22,5 в 2015 г. на 1000 госпитализированных) (Рисунок 1).

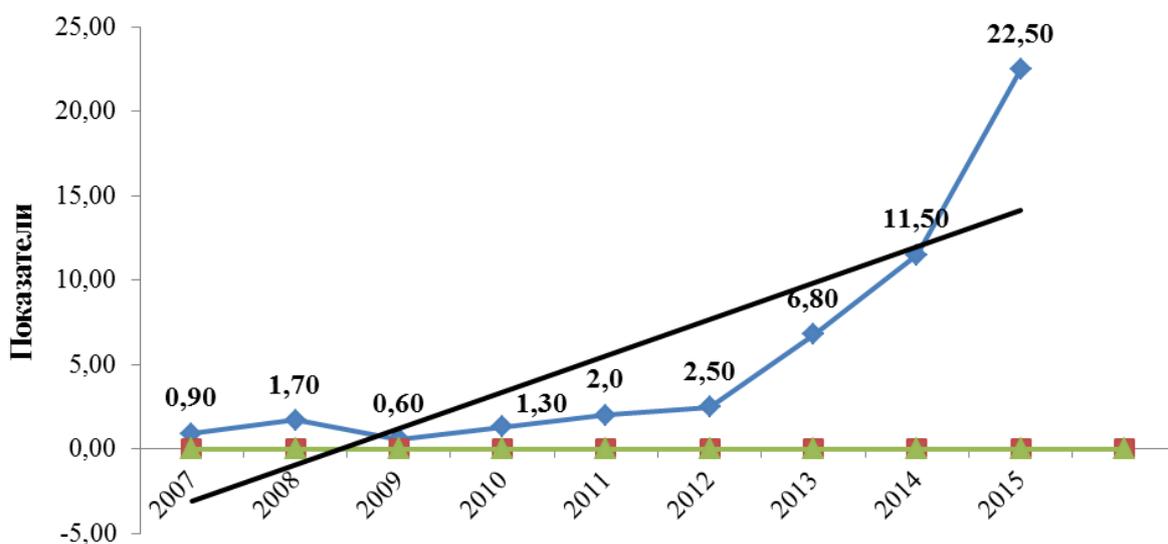


Рисунок 1 – Частота встречаемости криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов за 2007-2015 гг. (на 1000 госпитализированных)

Изучение потенциальных факторов развития криптококкоза проведено в исследовании «случай-контроль» в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов Пермской краевой клинической инфекционной больницы. В группу «случай» вошли 68 пациентов с подтвержденным диагнозом

генерализованный криптококкоз. Контрольную группу составили 74 пациента без криптококкоза, находившиеся в этом же отделении в этот же период времени. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, территории проживания, стадии ВИЧ-инфекции (4 стадия вторичных заболеваний согласно классификации Покровского В.И. 2001 г.), количеству CD4⁺ Т-лимфоцитов < 350 кл/мкл, отсутствию АРТ (таблица 2).

Таблица 2 - Характеристика исследуемых групп («случай-контроль»).

Характеристика групп		Группа «Случай» (68 чел)	Группа «Контроль» (74 чел)	p
Пол	Мужчины	50 (73,5%±5,35)	52 (70,3%±5,31)	>0,05
	Женщины	18 (26,5%±5,35)	22 (29,7%±5,31)	>0,05
Средний возраст (лет)		33,9	36,5	>0,05
Территория проживания	г.Пермь	44 (64,7%±5,79)	44 (59,4%±5,70)	>0,05
	Пермский край	24 (35,3%±5,79)	6 (8,1%±5,70)	<0,05
Среднее количество CD4 ⁺ Тлимфоцитов (кл/мкл)		71,8	230	<0,05

В качестве гипотетических факторов риска развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных нами были включены как медицинские (путь заражения ВИЧ-инфекцией и ее длительность, наличие ХОБЛ, хронического гепатита С, туберкулеза, сахарного диабета, стационарного лечения в течение 30 дней до госпитализации, тяжесть состояния пациента, количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови), так и «общественно-поведенческие» (трудоустройство, условия проживания, нахождение в учреждениях ФСИН, зависимость от ПАВ. При оценке синдрома зависимости от ПАВ учитывался вид зависимости (алкогольная и наркотическая) и клиническая

форма зависимости согласно МКБ-10 (активная зависимость с употреблением наркотических веществ внутривенно и период воздержания) (таблица 3).

Таблица 3 - Частота встречаемости потенциальных факторов развития криптококкоза в группах «случай-контроль» (абс/%)

Исследуемые факторы	Группа «Случай» (68)	Группа «Контроль» (74)	t-критерий (p)	Хи-квадрат	Сила связи	Отношение шансов (ДИ=95%)
<i>Общественно-поведенческие</i>						
Работа						
	Не работают	54 (79,41%± 4,90)	46 (62,12%± 5,63)	t=2,32 (p<0,05)	5.06	средняя
Синдром зависимости от алкоголя	23 (33,82%± 5,73)	52 (70,27%± 5,31)	t=4,67 (p<0,05)	1.56	слабая	0.216 (0.107- 0.439)
Синдром зависимости от ПАВ, активное употребление наркотиков	44 (64,70%± 5,79)	52 (70,27%± 5,31)	t=0,71 (p>0,05)	0.50	несущ	0.776 (0.384- 1.568)
Нахождение в учреждениях ФСИН	19 (27,94%± 5,44)	44 (59,45%± 5,70)	t=4 (p<0,05)	14.26	сред	0.264 (0.131- 0.535)
Проживание в частном доме	15 (22,05%± 5,02)	6 (8,10%±3,17)	t=2,35 (p<0,05)	5.47	средняя	3.208 (1.165- 8.830)
<i>Медицинские</i>						
Анамнестические						
Половой путь заражения	19 (27,94%± 5,44)	16 (21,62%± 4,78)	t=0,88 (p>0,05)	0.76	несущ	1.406 (0.653- 3.024)
Парентеральный путь	49	58	t=0,87	0.76	несущ	0.711

заражения	(72,05%± 5,44)	(78,37%± 4,78)	(p>0,05)			(0.331- 1.531)
Длительность ВИЧ- инфекции (года)	6,5	4,46	t=2,91 (p<0,05)	-	-	-
Стационарное лечение в предшествующие 30 дней	35 (51,47%± 6,06)	21 (28,37%± 5,24)	t=2,88 (p<0,05)	7.91	средняя	2.677 (1.337- 5.358)
Хронический гепатит С	51 (75%± 5,25)	60 (81,08%± 4,55)	t=0,88 (p>0,05)	0.76	несущ	0.700 (0.315- 1.558)
Туберкулез	19 (27,94%± 5,44)	7 (9,45%±3,40)	t=2,88 (p<0,05)	8.09	средняя	3.711 (1.447- 9.517)
ХОБЛ, хронический бронхит, обострение	36 (52,94%± 6,05)	22 (29,72%± 5,31)	t=2,88 (p<0,05)	7.90	средняя	2.659 (1.335- 5.298)
Сахарный диабет	3 (4,41%± 2,48)	2 (2,7%±1,88)	t=0,55 (p>0,05)	0.305	несущ	1.662 (0.269- 10.259)
Клинические						
Тяжесть состояния: Тяжелое	26 (38,23%± 5,89)	4 (5,40%±2,62)	t=5,09 (p<0,05)	22.92	Отн.сил	10.833 (3.535- 33.204)
Лабораторные						
Уровень CD4-клеток (кл/мкл)	71,8	230	t=5,18 (p<0,05)	-	-	-
Лейкоциты (*10 ⁹ /л)	5,89	7,31	t=2,33 (p<0,05)	-	-	-
Нейтрофилы (*10 ⁹ /л)	4,38	5,30	t=1,67 (p>0,05)	-	-	-
Лимфоциты (*10 ⁹ /л)	0,97	1,88	t=4,33 (p<0,05)	-	-	-

При обследовании группы так называемых «общественно-поведенческих» факторов, каковыми являются нахождение в учреждениях ФСИН, отсутствие постоянного места работы и наличие синдрома зависимости от ПАВ, выявлена прямая связь средней силы между возникновением криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов и отсутствием трудоустройства. У пациентов с зависимостью от алкоголя и наркотических веществ, а также находившихся в учреждениях ФСИН достоверных различий с группой контроля не получено. В ходе исследования выявлено, что достоверно чаще криптококкоз встречается у ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в частных неблагоустроенных домах, не оборудованных водопроводом и канализацией, по сравнению с пациентами, имеющими благоустроенное жилье. Таким образом, обнаружена прямая связь средней силы между возникновением криптококкоза и жилищными условиями ВИЧ-инфицированных больных. Неблагоустроенное жилье, пыль в чердачных помещениях, являющаяся благоприятной средой для криптококков, приводит к большей вероятности «встречи» пациента с возбудителем заболевания.

В группе ВИЧ-инфицированных пациентов с генерализованным криптококкозом достоверно чаще имели место следующие «медицинские» факторы: длительность ВИЧ-инфекции на момент развития криптококкоза, тяжелое состояние пациентов и стационарное лечение в течение 30 дней, предшествующих госпитализации. Следует отметить, что у пациентов в «группе случай» достоверно чаще встречалась патология дыхательной системы - туберкулез и ХОБЛ, которая способствует проникновению возбудителя в организм воздушно-пылевым путем, поражению легких и возникновению в них первичного очага криптококкоза. При этом создаются благоприятные условия для дальнейшего персистирования криптококков. Полученные результаты свидетельствуют о наличии прямой связи между этими признаками и вероятностью развития криптококкоза (ОШ 2,659 и 3,711; ДИ=1,335-9,517).

Такие факторы, как наличие у пациентов хронического гепатита С и сахарного диабета с одинаковой частотой имели место в группах пациентов с

криптококкозом и без него (ОШ 0,70 и 1,662; ДИ=0,315-10,259). Это свидетельствует о том, что они не оказывают значимого влияния на вероятность развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

На возможность развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов не влияет путь заражения (половой или парентеральный) ВИЧ-инфекцией (ОШ 1,406 и 0,711; ДИ=0,653-3,024).

При сравнении «лабораторных» признаков получены достоверные различия в группе наблюдения и контроля по уровню CD4⁺ Т-лимфоцитов, общему количеству лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови. Средний уровень CD4⁺ Т-лимфоцитов у пациентов с криптококкозом составил 71,8 клеток/мкл, в контрольной группе он был равен 230, что подтверждает ведущую роль клеточного иммунитета в защите от криптококковой инфекции.

Таким образом, среди изучаемых факторов риска шесть имели достоверные различия в группах ВИЧ-инфицированных пациентов с криптококкозом и без него. Оценка чувствительности и специфичности каждого из них показала, что ни один из перечисленных факторов изолированно не обладал одновременно высокой чувствительностью и специфичностью (таблица 4).

Таблица 4 - Чувствительность и специфичность факторов, ассоциированных с вероятностью развития криптококкоза в группах «случай-контроль» (%)

Факторы	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
1. Не работают	74,9%	37,8%
2. Проживание в частном доме	22,1%	91,9%
3. Стационарное лечение в предшествующие 30 дней	51,5%	71,6%
4. Туберкулез	27,9%	90,5%
5. ХОБЛ, хр.бронхит, обострение	52,9%	70,3%
6. Тяжесть состояния	38,2%	94,6%

В ходе исследования было обнаружено, что риск вероятного развития криптококкоза значительно возрастает при сочетании нескольких факторов (рисунок 2).

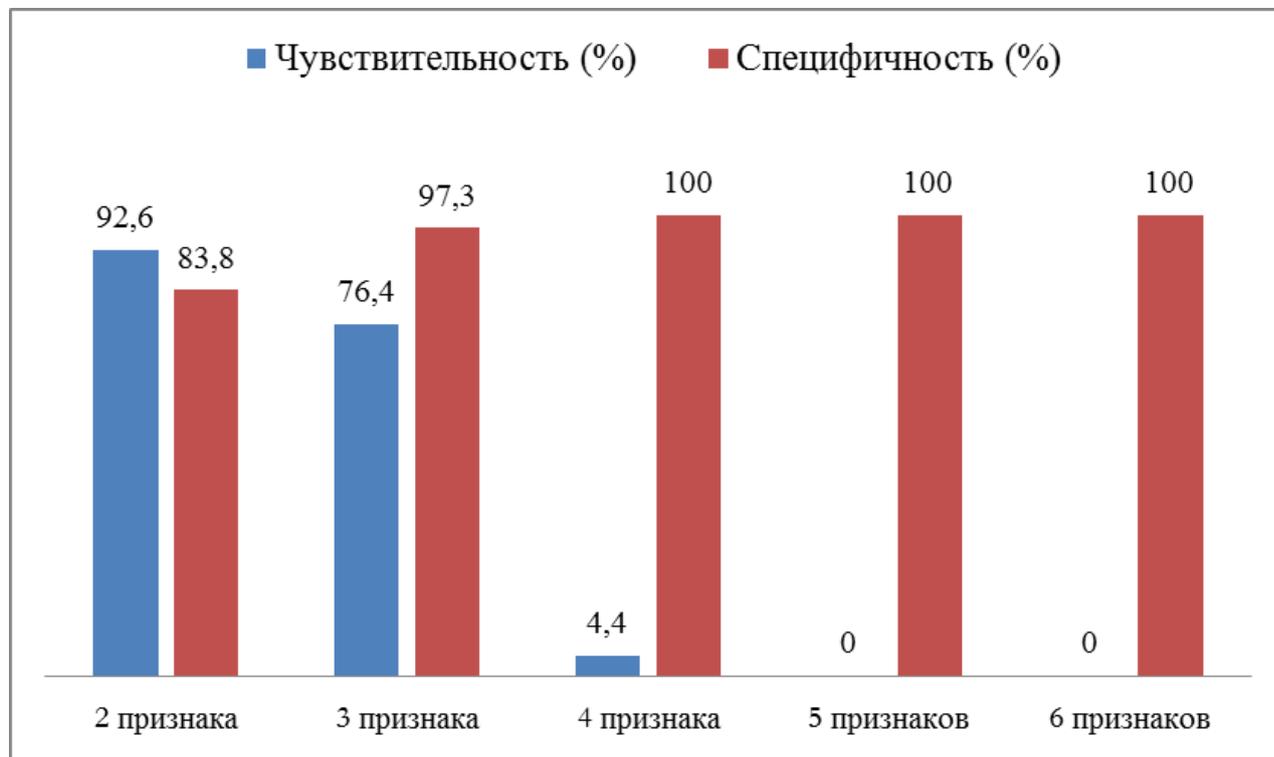


Рисунок 2 - Чувствительность и специфичность сочетаний факторов вероятного развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов (%)

Сочетание у ВИЧ-инфицированных пациентов двух признаков из шести давало одновременно высокие показатели чувствительности (92,6%) и специфичности (83,8%) и является оптимальным для ранней диагностики вероятного развития у них криптококковой инфекции.

Нами были определены наиболее часто встречающиеся комбинации факторов риска развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных больных. Ими были следующие: отсутствие трудоустройства + стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней (у $42,6 \pm 5,99\%$ обследованных в группе наблюдения); отсутствие трудоустройства + ХОБЛ (у $35,3 \pm 5,79\%$); отсутствие трудоустройства + проживание в неблагоустроенном жилье (у

11,7±3,89%); тяжелое состояние + стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней (у 8,8±3,43%).

Таким образом, наличие у ВИЧ-инфицированных пациентов вышеуказанных факторов, выявляемых на начальном этапе диагностики - при сборе анамнеза и первичном осмотре, в сочетании с лабораторными показателями (количество CD4⁺ Т-лимфоцитов менее 100 клеток/мкл, лейкопения и лимфопения) способствуют выявлению у них высокого риска вероятного развития криптококкоза.

3.2. Клиническая характеристика криптококкоза у ВИЧ-инфицированных

Проведено клиническое наблюдение за 68 ВИЧ-инфицированными пациентами с криптококковой инфекцией, находившихся на лечении в Пермской краевой инфекционной больнице с 2007 по 2015 гг. Среди обследованных выявлено преобладание мужчин – 50 (73,5%), женщин - 18 (26,5%). Все пациенты были трудоспособного возраста: от 26 до 54 лет (в среднем 33,9 лет). Большинство наблюдаемых – 44 человека (64,7±5,79%) проживали в г.Перми, 24 – в Пермском крае (35,3±5,79%). Жителями центральных районов г.Перми являлись 64,7%, жили на периферии города 35,3%. Лишь 16 (23,5%) пациентов были официально трудоустроены. Основная часть наблюдаемых – 52 человека (76,5±5,14%) не имела постоянного места работы.

Заболевание развилось на фоне 4 стадии ВИЧ-инфекции (согласно клинической классификации В.И.Покровского, 2001 г.). Из эпидемиологического анамнеза было выяснено, что 49 (72,0%) пациентов являлись наркопотребителями, вследствие чего заражение ВИЧ-инфекцией произошло парентеральным путем, 19 (28,0%) инфицировались при гетеросексуальных контактах. Продолжительность ВИЧ-инфекции без лечения составляла от 1 до 17 лет (в среднем 6,5 лет). У пациентов выявлена зависимость от психоактивных веществ: в 50% случаев – наркотическая, в 25% - алкогольная. Большинство

обследованных страдали хроническими гепатитами: гепатитом С - 60 человек (88,2%), гепатитом В - 10 (14,7%). Вместе с тем наблюдались и другие вторичные заболевания, характерные для ВИЧ-инфекции: генерализованный туберкулез, туберкулез легких и внутригрудных лимфатических узлов (19 чел.- 27,9%), кандидоз слизистой оболочки полости рта (51 чел.- 75%), гипохромная анемия (24 чел. – 35,3%), органическое расстройство личности (18 чел.- 26,5%), пневмоцистная пневмония (1 чел.- 1,4%).

Пациенты с криптококкозом госпитализированы в стационар с различными первичными диагнозами: острое респираторное заболевание, энтеровирусная инфекция, лихорадка неясной этиологии, сепсис. Лишь у 9 обследованных (13,2%) на догоспитальном этапе был заподозрен грибковый менингит. Клинический диагноз генерализованной криптококковой инфекции с поражением ЦНС был установлен у 60 (88,2%) пациентов прижизненно и у 8 (11,7%) посмертно. У 7 (10,3%) больных выявлено сочетание диссеминированного криптококкоза и сепсиса, вызванного грибами рода *Candida*, бактериями *Staphylococcus* и *Enterococcus spp.* Одновременно с криптококкозом ЦНС в 17 случаях (25,0%) имели место менингоэнцефалиты другой этиологии (туберкулезной – 9 случаев, токсоплазмозной – 5, герпетической - 3).

Сроки от начала заболевания криптококкозом до установления диагноза составили от 2 до 180 дней (в среднем 38 дней). В специализированном стационаре диагноз был поставлен в течение 1-60 дней (в среднем 9 дней). Таким образом, острое течение криптококкоза (до 90 дней) наблюдалось у 59 человек (86,7%), подострое (от 91 до 180 дней) – у 9 (13,3%).

При госпитализации у большинства обследованных преобладали проявления общеинфекционного синдрома и общемозговая симптоматика (рисунок 3). Пациенты жаловались на общую слабость и раздражительность (47 чел. – 69,1%), снижение массы тела (12 чел.- 17,6%), нарушение сна (4 чел.- 5,9%). Боли в мышцах отмечали 6 человек (8,8%), кратковременные артралгии - 4 (5,9%). Общемозговая симптоматика проявлялась сильными головными болями в лобных и височных областях у 43 больных (63,2%), тошнотой и рвотой - у 46

(67,6%), головокружением – у 19 (27,9%), светобоязнью – у 4 (5,9%). Двоение в глазах наблюдалось у 10 пациентов (14,7%), слабость в ногах и шаткая походка – у 16 (23,5%).

Одна треть обследованных отмечала кашель с мокротой (23 чел. – 33,8%), 9 пациентов (13,2%) - боли в грудной клетке, 7 (10,3%) – одышку. Редко у больных наблюдался жидкий стул (4,4%), боли в животе (11,8%), учащенное мочеиспускание (2,3%).

В состоянии средней тяжести в стационар поступило 40 пациентов (58,8%), в тяжелом состоянии 26 (38,3%). Двое больных (2,9%) госпитализированы в крайне тяжелом состоянии, летальный исход наступил в течение первых суток. Тяжесть состояния была обусловлена выраженной интоксикацией и общемозговой симптоматикой.

Температурная реакция наблюдалась у большинства обследованных пациентов (66 чел. – 97,0%) (рисунок 3). В 20 (29,4%) случаях она держалась на субфебрильных цифрах, однако у 38 (55,8%) больных температура достигала 39-40 гр. и сопровождалась выраженными ознобами. Длительность ее значительно варьировала – от 10 до 90 дней, зарегистрирован неправильный тип температурной кривой.

Большинство наблюдаемых (50 чел. - 73,5%) были пониженного питания, из них у 15 (22,0%) имела место кахексия. Чаше отмечалась бледность кожных покровов с выраженным шелушением – у 44 (64,7%) больных, однако у 5 человек (7,3%) они были гиперемизированы. Геморрагическая сыпь на конечностях наблюдалась у 7 (10,3%) человек, причем в тех случаях, когда криптококковая инфекция сочеталась с сепсисом, вызванным бактериями и грибами рода кандиды. Периферические лимфатические узлы у подавляющего числа пациентов (97,0%) увеличены от 1 до 2 см, плотно-эластичной консистенции, безболезненные.

При осмотре полости рта у 10 больных (14,7%) выявлена разлитая гиперемия слизистой оболочки, у 36 человек (52,9%) – проявления орофарингеального кандидоза в виде белых творожистых налетов на слизистой оболочке щек и языка.

При исследовании сердечно-сосудистой системы наблюдалось приглушение сердечных тонов в 51 случае (75,0%), систолический шум на верхушке у 10 пациентов (14,7%). У большинства больных (59 чел. – 86,7%) отмечались тахикардия (ЧСС 88-104 в мин.), гипотония (от 90/60 до 80/50 мм рт ст) и одышка (ЧД 22-38 в мин.).

При аускультации легких у 53 больных (77,9%) выслушивалось жесткое дыхание, у 16 человек (23,5%) - сухие и влажные хрипы. Рентгенологическое исследование легких проводилось у 60 человек, КТ – у 6. Пневмония выявлена у 26 пациентов (38,2%), подтвержденная рентгенологически - у 20 пациентов, у 6 - на секции. Из них поражение легких криптококковой этиологии в виде односторонней и 2-х-сторонней очаговой пневмонии зарегистрировано в 12 случаях (46,15%). Микст-формы выявлены у 13 больных (50,0%): сочетание с туберкулезом легких у 7 человек (2-х сторонний диссеминированный процесс в 3 случаях, 1-сторонний очаговый – в 4 случаях); пневмоцистной пневмонией – у 3 человек (интерстициальная 2-х сторонняя пневмония), бактериальной флорой – у 3 (2-х сторонняя деструктивная пневмония), бактериями и грибами *Candida spp.* – у 1.

Практически у всех обследуемых выявлено увеличение размеров печени (66 чел. – 97,0%). Печень пальпировалась на 1-6 см ниже края реберной дуги по срединно-ключичной линии, плотной консистенции. Увеличение размеров селезенки отмечено у 33 больных (48,5%).

Положительные менингеальные симптомы (ригидность мышц тыла шеи, симптомы Кернига, Брудзинского) выявлялись у 44 наблюдаемых (64,7%). Очаговая симптоматика – гемиплегия, анизокория, нистагм, одностороннее поражение 3 и 7 пары черепных нервов наблюдалась у 27 пациентов (39,7%).

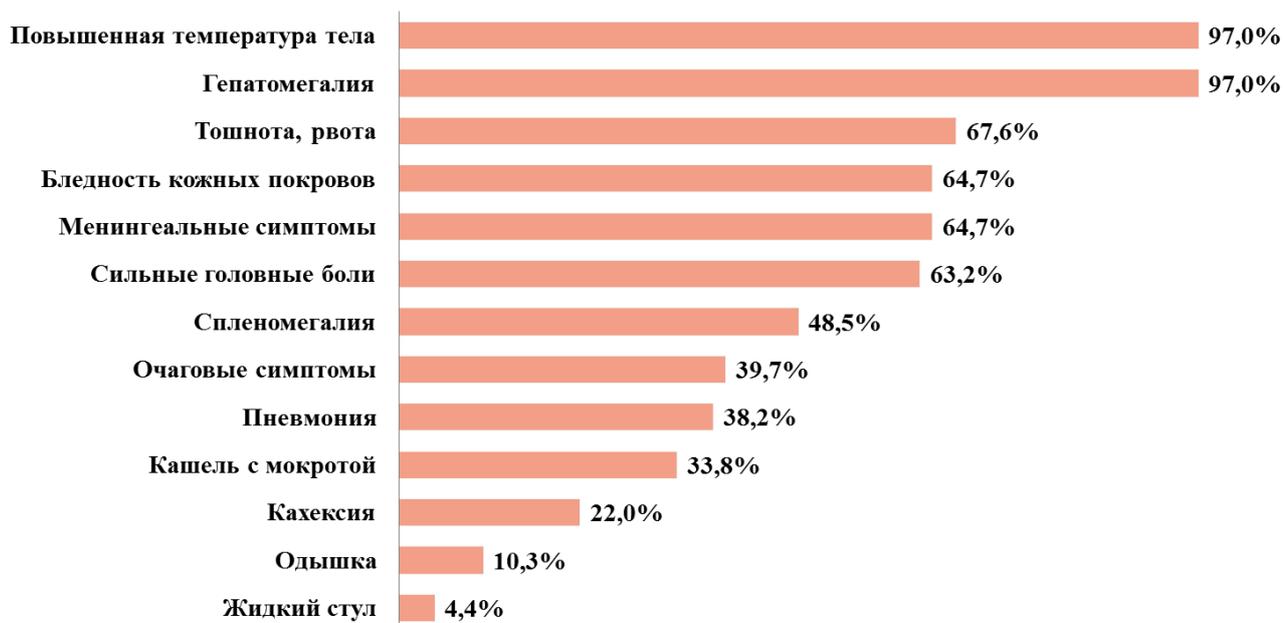


Рисунок 3 - Клинические проявления в группе ВИЧ-инфицированных пациентов с криптококкозом

В гемограмме у больных обнаружена гипохромная анемия с показателями эритроцитов от $1,5$ до $3,9 \times 10^{12}/л$ (41 чел.- 61,2%), гемоглобина от 56 до 110 г/л (28 чел. – 41,8%), тромбоцитопения (менее $150 \times 10^9/л$) выявлена у 33 больных (55%). Лейкоцитоз с показателями от 9,3 до $16,3 \times 10^9/л$ наблюдался у 12 пациентов (17,9%), однако чаще встречалась лейкопения от 0,5 до $3,9 \times 10^9/л$ – у 23 человек (34,3%), и пониженное количество лимфоцитов (показатели в абс. цифрах от 0,17 до 0,96) – у 45 человек (67,1%). Высокая СОЭ (от 30 до 70 мм/ч) зарегистрирована у подавляющего числа обследуемых – 46 человек (70,7%).

При анализе показателей иммунограммы обнаружено, что заболевание развилось на фоне выраженного иммунодефицита. Количество $CD4^+$ Т-лимфоцитов в крови у 57 человек (83,8%) составляло менее 100 клеток/мкл, у 10 пациентов (14,7%) – от 100 до 310 клеток/мкл (в среднем 71,8 клеток/мкл). Лишь у одного наблюдаемого криптококковая инфекция в сочетании с менингоэнцефалитом туберкулезной этиологии возникла при количестве $CD4^+$ Т-лимфоцитов 670 клеток/мкл.

Вирусная нагрузка колебалась от 180 до 6602255 копий РНК ВИЧ в 1 мл крови.

С диагностической целью 65 (95,5%) пациентам была проведена спинальная пункция. Выявлено резкое повышение давления спинномозговой жидкости, ликвор прозрачный, цитоз, преимущественно, лимфоцитарный от 20 до 1664 (в среднем 93,5) клеток/мкл, содержание белка повышено (400 - 3300 мг/л, в среднем 1016), а глюкозы снижено (0,1 - 2,5 ммоль/л, в среднем 2,29). В одном случае количество глюкозы в ликворе составило 5,4 ммоль/л.

Нейровизуализация (компьютерная и магнитно-резонансная томография головного мозга) проведена у трети обследованных (21 человек). Выявлены признаки очагового энцефалита, структурные нарушения базальных ядер белого вещества полушарий мозжечка, гидроцефалия, арахноидальные изменения ликворо-кистозного пространства, поражение подкорковых ядер, дисциркуляторная энцефалопатия.

Для подтверждения диагноза криптококкоза исследованы спинномозговая жидкость и кровь пациентов. *C. neoformans* обнаружен при микроскопии в мазках из ликвора у 28 пациентов, в крови – у одного из них. Криптококки имели характерный вид круглых дрожжевых клеток с толстой полисахаридной капсулой.

С целью выделения культуры и идентификации возбудителя проводилось микологическое исследование. Выявление *C. neoformans* из спинномозговой жидкости и/или крови имело место у 51 пациента (из ликвора у 32 чел., из крови – у 19). На среде Сабуро криптококки образовывали типичные гладкие блестящие колонии беловато-желтоватого и коричневого цвета.

Методом латекс-агглютинации (обнаружение антигена криптококка в ликворе) диагноз был подтвержден у 28 больных. В 5 случаях криптококки были выделены из трупного материала умерших пациентов.

Этиотропное лечение было назначено 59 больным (86,7%). Амфотерицин В в дозе 0,5-0,8 мг/кг/сутки в сочетании с флюконазолом в дозе 400 мг/сутки получали 44 человека (64,7%). Одному пациенту проводилось лечение амфотерицином В (0,5 мг/кг/сутки) в сочетании с итраконазолом (400 мг/сутки). Монотерапия амфотерицином В (0,7 мг/кг/сутки) с последующим переходом на

азолы назначалось 8 пациентам (11,7%), флюконазолом (600-800 мг/сутки) – 6 пациентам (8,8%). Адекватная коррекция внутричерепной гипертензии с помощью инвазивных методик (спинальная пункция, дренаж) проводилась 36 больным (53,0%).

Положительная динамика течения криптококкоза была достигнута в 39 случаях (57,3%). Большинство из этих пациентов (30 чел. – 76,9%) одновременно получали АРТ.

Приводим клинический пример положительной динамики при терапии криптококкоза (рисунок 4).

Пациент Г., 35 лет

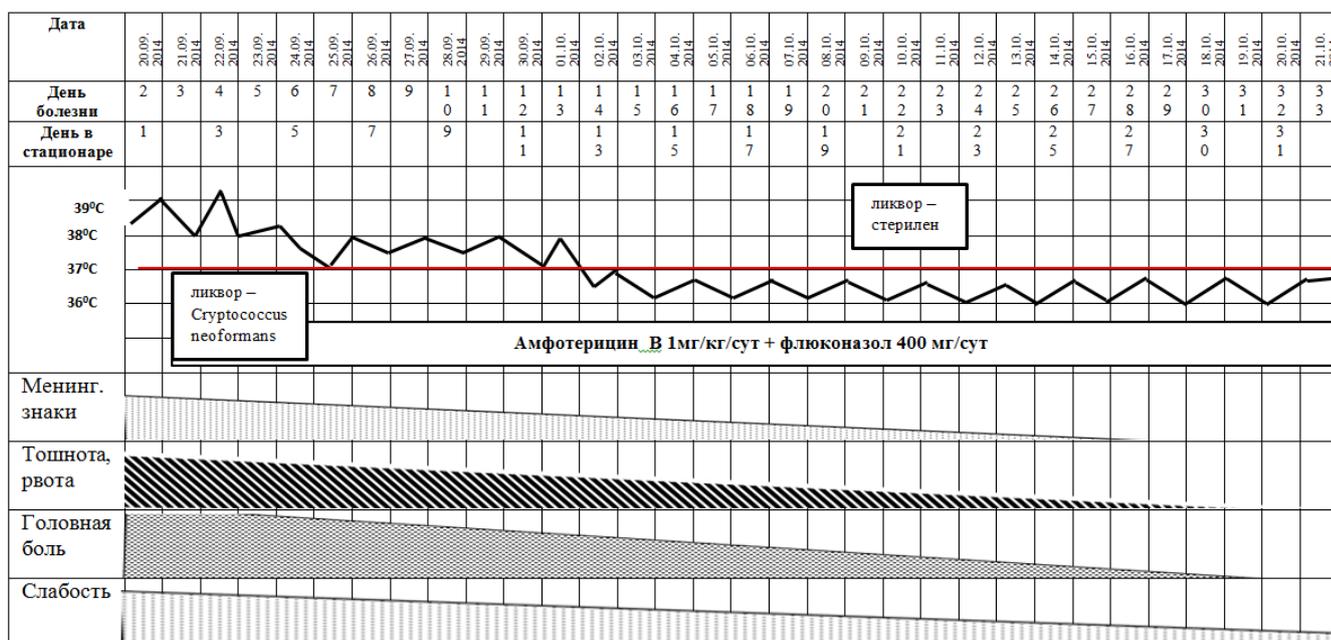


Рисунок 4 – Клинический пример терапии пациента Г., 35 лет

Пациент Г., 35 лет (медицинская карта стационарного больного №11762) находился на стационарном лечении в Пермской краевой клинической инфекционной больнице с 20.09.14 г. по 21.10.14 г. с диагнозом: ВИЧ-инфекция, стадия 4В, фаза прогрессирования на фоне АРТ. Генерализованный криптококкоз с поражением ЦНС (менингоэнцефалит), тяжелое течение. Орофарингеальный кандидоз. Осложнение: Отек головного мозга. Сопутствующие заболевания:

Хронический гепатит С. Хроническая гипохромная анемия, средней тяжести. Обострение хронического пиелонефрита. Зависимость от ПАВ.

Пациент проживал в г.Краснокамске, не трудоустроен. Антитела к ВИЧ выявлены в 2004 г. С 1996 г. страдает зависимостью от ПАВ. Заражение произошло при внутривенном употреблении наркотических веществ. В августе 2014 г. впервые обратился в КЦ СПИД, количество CD4⁺ Т-лимфоцитов составило 4 кл/мкл, назначена АРТ. Считает себя больным с августа 2014 г., когда появилась тошнота, нарастающие головные боли. Ухудшение с 19.09.14 г. – повторная рвота, головокружение, нарушение походки, снижение памяти. После осмотра невролога направлен в ККИБ г.Перми. Объективно: состояние средней тяжести, заторможен, температура 38,0⁰, бледен, пониженного питания. Выявлены умеренно выраженные менингеальные симптомы. Рентгенологическое исследование легких 6.10.14 патологии не выявило. Результаты спинальной пункции от 25.09.14 г.: давление ликвора резко повышено, плеоцитоз смешанный 58 кл/мкл, белок 1681 мг/мл, глюкоза 1,6 ммоль/л. Вирусная нагрузка составила 49624 копий РНК ВИЧ в 1 мл крови. При микроскопии и посеве ликвора обнаружены *C. neoformans*. На КТ головного мозга выявлена картина диффузного поражения белого вещества больших полушарий. Было назначено лечение амфотерицином В в дозе 1 мг/кг/сутки в/в в сочетании с флюконазолом 400 мг/сутки, кроме этого проводилась антибактериальная, дегидратационная и антиретровирусная терапия. На фоне проводимого комплексного лечения отмечена положительная динамика: нормализация температуры тела, исчезновение головной боли, регресс менингеальных симптомов. В контрольной люмбальной пункции 16.10.14 г. - уменьшение ликворного давления, снижения цитоза до 14 кл/мкл, белка до 502 мг/мл, повышение глюкозы до 2,4 ммоль/л. Проведена коррекция антимикотической терапии, назначен флюконазол в дозе 400 мг/сутки внутрь. Выписан в удовлетворительном состоянии с рекомендациями продолжать прием АРТ и флюконазола в дозе 200 мг/сутки до достижения CD4⁺ Т-лимфоцитов 200 кл/мл.

Однако, несмотря на проводимую терапию, у 29 человек (42,6%) заболевание продолжало прогрессировать. У пациентов наблюдалось ухудшение самочувствия, появлялись признаки дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности, углубление неврологического дефицита, судороги, синдромы отека и сдавления ствола мозга, развивалась церебральная кома, в результате которой на 2-85 день (в среднем на 26 день, медиана 16 дней) криптококкоза наступил летальный исход.

Приводим клинический пример (рисунок 5).

Пациент Е., 34 года

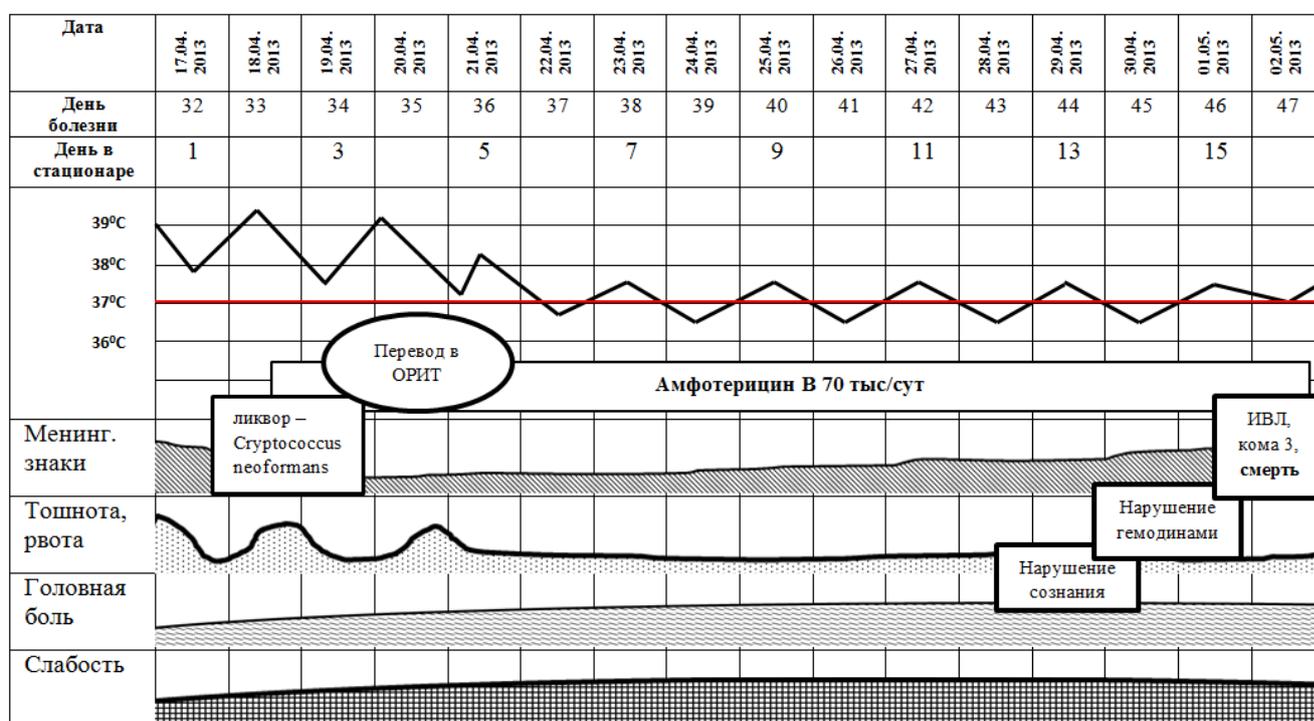


Рисунок 5 – Клинический пример терапии пациента Е., 34 года

Пациент Е. 34 лет (медицинская карта стационарного больного №5164) находился в краевой клинической инфекционной больнице г.Перми с 17.04.13 г. по 02.05.13 г. с диагнозом: ВИЧ-инфекция 4 В- стадия, фаза прогрессирования на фоне отсутствия АРТ. Генерализованный криптококкоз с поражением ЦНС (менингоэнцефалит). Орофарингеальный кандидоз. Сопутствующие заболевания:

Хронический гепатит С. Хроническая гипохромная анемия, средней тяжести. Зависимость от ПАВ (употребление наркотиков внутривенно).

Пациент проживал в г. Краснокамске, не работал, ВИЧ-инфекция с 1999 г. Болен с 15 марта 2013 г. – лихорадка до 39,0° с ознобами, тошнота, рвота, головокружение. С 13.04.13 по 17.04.13 находился в Краснокамской районной больнице, затем переведен в ПККИБ. На КТ головного мозга патологии не выявлено. Объективно: состояние тяжелое, заторможен, температура 38,8°. Кожные покровы бледные. Тоны сердца приглушены, ритмичные, систолический шум во всех точках. АД 170/90 мм РТ ст. ЧСС 94 в мин. Дыхание ослаблено в нижних отделах легких с обеих сторон, сухие хрипы. ЧД 24 в мин. Менингеальные симптомы резко выражены. Спинальная пункция выполнена 18.04.13 г.: давление ликвора резко повышено, плеоцитоз 394 кл/мкл (нейтрофилов 68%), белок 2951 мг/мл, глюкоза 1,0 ммоль/л. Количество CD4⁺ Т-лимфоцитов составило 14 кл/мкл. При микроскопии и посеве ликвора обнаружены *S. neoformans*. В крови от 18.04.13 получен рост *S. neoformans*. Рентгенологическое исследование легких 18.04.13 патологии не выявило. Было назначено лечение амфотерицином В в дозе 70 мг/сутки в/в, кроме этого проводилась антибактериальная и дегидратационная терапия. АРТ начата в стационаре. 18.04.13 г. у пациента возник генерализованный судорожный припадок, переведен в ОРИТ. На фоне проводимого комплексного лечения сохранялась субфебрильная температура, головные боли. 29.04.13 ухудшение состояния, нарастание головных болей. В контрольной люмбальной пункции ликвор мутный, нейтрофильный плеоцитоз 66 клеток, белок до 1723 мг/мл, глюкоза 3,2 ммоль/л. При микроскопии обнаружены *S. neoformans*. С 30.04.13 г. нарушение сознания, снижение диуреза, нестабильность гемодинамики. 02.05.13 церебральная кома, смерть больного.

Патологоанатомический диагноз: ВИЧ-инфекция, стадия 4В. Диссеминированный криптококкоз с поражением ЦНС (менингоэнцефалит), печени, почек, селезенки, лимфатических узлов, легких. Отек и набухание мозга с

дислокацией и вклиниением ствола. Двусторонняя гипостатическая пневмония. ДВС. Отек легких.

Гистологическое исследование секционного материала выявило наличие скоплений криптококков в печени, почках, селезенке, легких и лимфатических узлах с минимальной реакцией окружающих тканей.

Для оценки эффективности этиотропной терапии криптококкоза были выделены 3 группы пациентов. Больные первой группы (44 человека) получали амфотерицин В в дозе 0,5-0,8 мг/кг/сутки в сочетании с флюконазолом в дозе 400 мг/сутки; 2-ой группы (8 человек) - монотерапию амфотерицином В (0,7 мг/кг/сутки); 3-ей группы (6 человек) – монотерапию флюконазолом (600-800 мг/сутки).

В группе пациентов, получавших амфотерицин В в сочетании с азолами летальность составила $33,3\% \pm 5,71$, при монотерапии амфотерицином В - $62,5\% \pm 5,87$, при монотерапии флюконазолом - $83,3\% \pm 15,21$.

Таким образом, схема лечения криптококкоза, включающая сочетание амфотерицина В и флюконазола оказалась наиболее эффективной по сравнению с монотерапией амфотерицином В или флюконазолом. Летальность среди больных, лечившихся амфотерицином В с флюконазолом была статистически достоверно ниже по сравнению с таковыми при применении монотерапии ($t > 2,0$; $p < 0,05$).

3.3. Патоморфологические изменения при криптококкозе

Изучался секционный материал от 28 ВИЧ-инфицированных пациентов с летальными исходами криптококкоза с поражением центральной нервной системы. При вскрытии полости черепа обращали на себя внимание напряжение твердой мозговой оболочки, резко выраженное полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, сглаживание извилин и сужение борозд больших полушарий мозга. В субарахноидальных пространствах содержалось повышенное количество мутноватой жидкости. При развитии дислокационного синдрома наблюдалось вклинение ствола мозга в большое затылочное отверстие.

В оболочках, полушариях, базальных ядрах мозга и мозжечке выявлены нечетко очерченные множественные фокусы студневидных некрозов желеобразной консистенции диаметром до 0,6 см или в виде сливающихся полостей. В мозжечке выражено полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, точечные кровоизлияния на разрезах. Рисунок строения ткани, собственных ядер мозжечка чаще был сохранен.

В спинном мозге также выражено полнокровие мягкой мозговой оболочки с неотчетливой границей серого и белого вещества.

Гистологическая диагностика криптококкоза. Наиболее выраженные изменения отмечались в мягкой мозговой оболочке. В одних случаях она была неравномерно утолщена вследствие скоплений большого количества криптококков с хорошо выраженной желатиновой капсулой, наблюдалось полнокровие сосудов и единичные диапедезные кровоизлияния. Значимые реактивные изменения в окружающей ткани не выявлялись (рисунок 6). В других случаях на фоне выраженного полнокровия вокруг сосудов имелась умеренно выраженная очаговая воспалительная инфильтрация мононуклеарными фагоцитами, единичные лейкоциты (рисунок 7).

В просветах мелких сосудов – вен и капилляров в субарахноидальном пространстве встречались клетки с двухконтурной мембраной – криптококки и их скопления от единичных до значительных в виде конгломератов. Наблюдалось диффузно-очаговое реактивное воспаление с формированием гранулем - воспалительная инфильтрация лимфоцитами, плазматическими клетками, гистиоцитами с преобладанием плазматических клеток. В периваскулярных пространствах располагались отдельные многоядерные гигантские клетки типа инородных тел или в виде симпластов с обильной эозинофильноокрашенной цитоплазмой (рисунок 8). Включения криптококков в макрофагах не встречались.

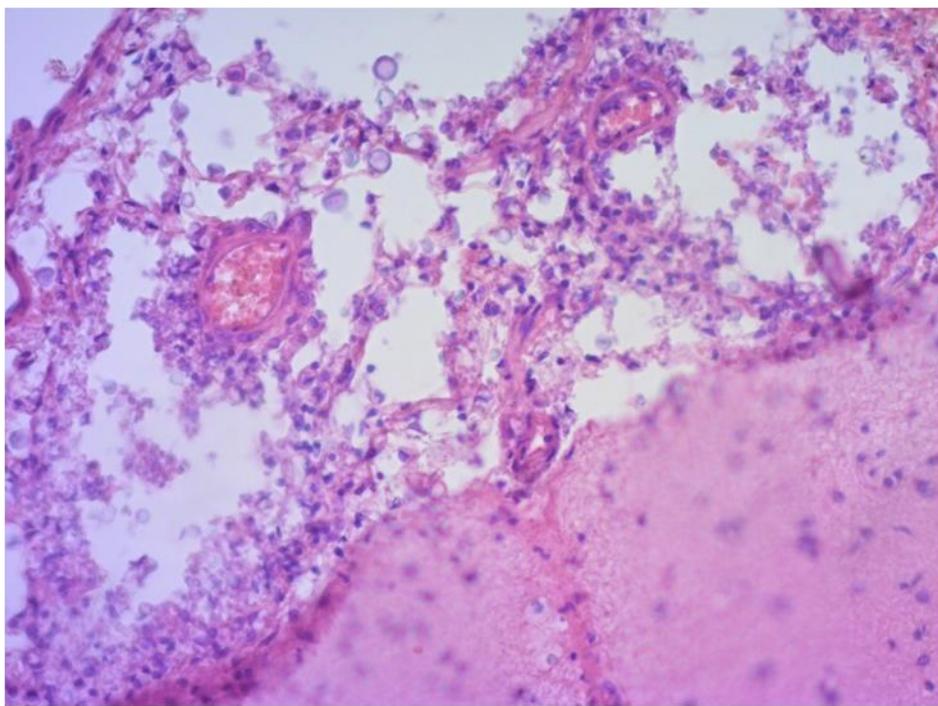


Рисунок 6 - Головной мозг. В мягкой мозговой оболочке многочисленные структуры криптококка с 2-х контурной мембраной, сосуды полнокровные, отек. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

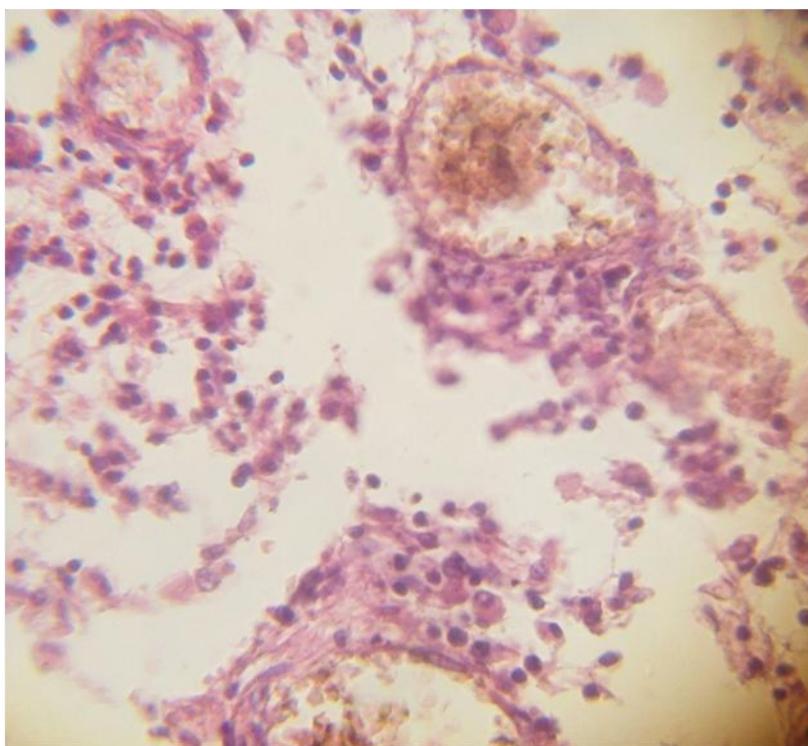


Рисунок 7 - В мягкой мозговой оболочке полнокровные сосуды, мононуклеарная инфильтрация (лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги). Окраска гематоксилином и эозином. х 400

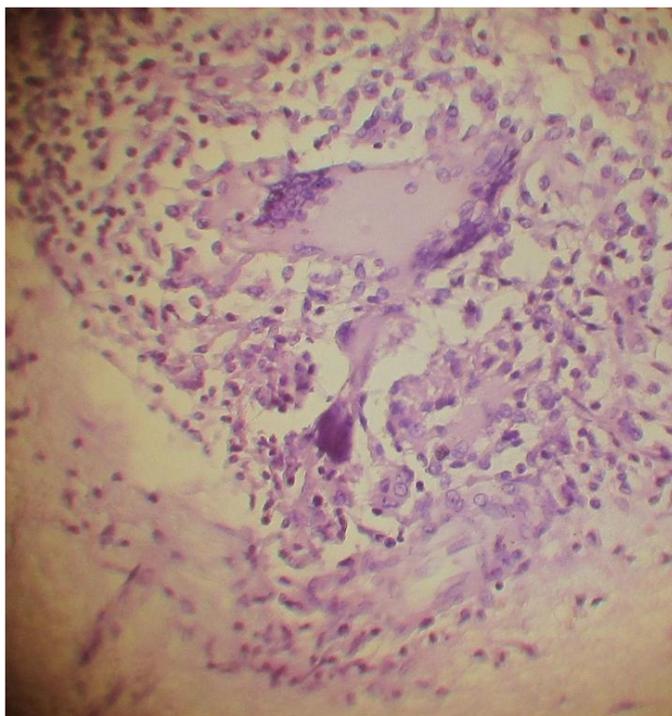


Рисунок 8 - Криптококковый менингит. Гранулематозное воспаление в мягкой мозговой оболочке, многоядерный макрофаг типа симпласта. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

В паутинной оболочке отмечались ворсинчатые структуры с мелкими сосудами, рыхлой волокнистой соединительной тканью в их строме с лимфомакрофагальной инфильтрацией и наличием нейтрофилов в местах расположения отдельных крупных элементов грибов или скоплений мелких, а также свежие тромбы, периваскулярные диапедезные кровоизлияния. При инфильтрации мягкой мозговой оболочки более крупными криптококками с невыраженной мембраной, имеющих бледную цитоплазму, клеточная воспалительная инфильтрация была умеренной либо незначительной, многоядерные гигантские клетки не обнаруживались.

Периваскулярно в ткани мозга имелась инфильтрация криптококками округлой формы с двухконтурной мембраной 5-8 мкм в диаметре с формированием мелких полостей многокамерного типа и крупных, сливающихся (рисунок 9). Наибольшее количество полостей выявлялось в коре мозга, где структура его ткани была значительно повреждена, рисунок имел «кружевной вид» (рисунок 10).

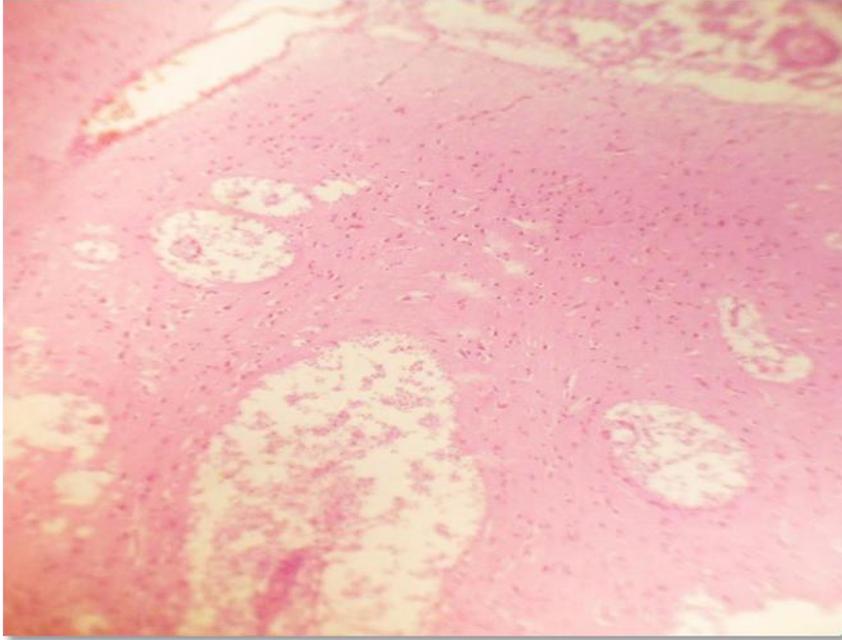


Рисунок 9 - В мягкой мозговой оболочке и коре головного мозга обильный рост криптококка, лизис ткани мозга, воспалительная инфильтрация отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

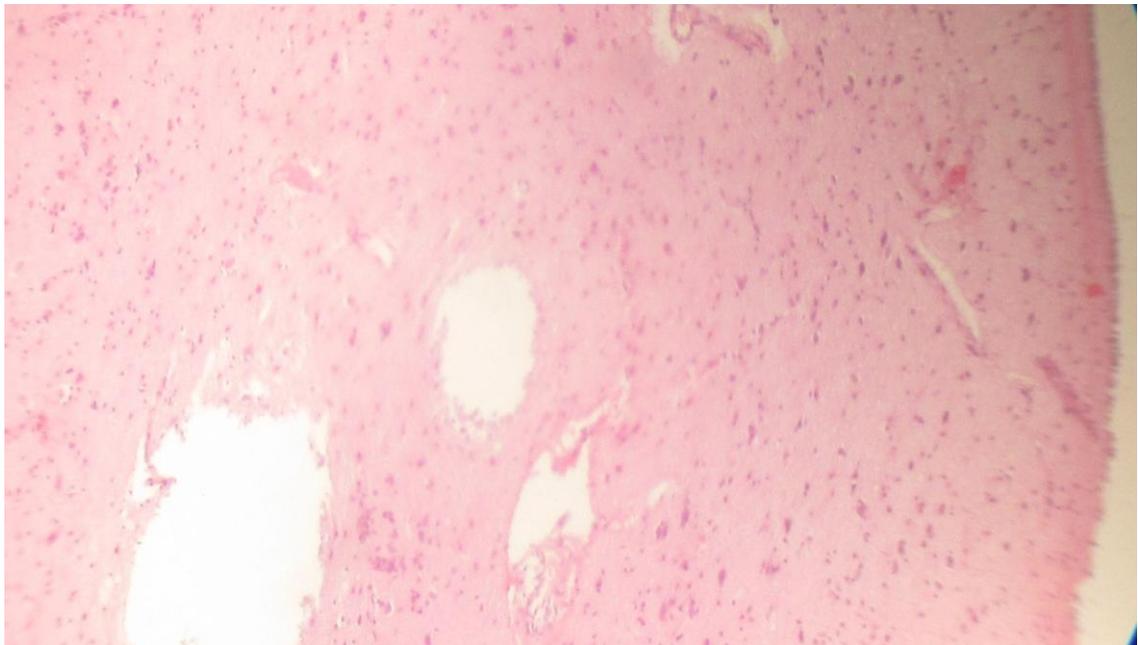


Рисунок 10 - Лизис ткани подкорковых узлов головного мозга в зоне размножения криптококков. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

Воспалительные изменения – нарушение в микроциркуляторном русле, клеточная инфильтрация в преобладающем числе случаев отсутствовали. Стратификация слоев коры мозга нарушена, в сером и белом веществе периваскулярный и перичеселлюлярный отек. Клетки эпендимы, как правило, располагались в один слой (рисунок 10). Под ними обнаруживались мелкие единичные и сливающиеся полости с наличием одиночных криптококков и их скоплений (рисунок 11). В базальных отделах подкорковых ядер встречались крупные сливающиеся полости, содержащие возбудителей (рисунок 12). В местах скоплений дочерних структур грибов формировались фокусы демиелинизации, разрежения ткани мозга без воспалительной инфильтрации и реакции глиальных элементов с ровными очертаниями – явления энцефалолизиса.

Во всех случаях обнаружены изменения в селезенке. Под капсулой и на разрезах находились различного вида очаги от 2 до 20 мм в диаметре с признаками коагуляционного и влажного некроза.

При гистологическом исследовании под капсулой и в паренхиме селезенки отмечалась убыль лимфоретикулярной ткани и нарушение архитектоники (рисунок 13). Очаги размножения криптококков обнаруживались как в белой, так и в красной пульпе. Признаки перифокальной клеточной воспалительной реакции отсутствовали. В отдельных полях зрения рисунок строения селезенки был нарушен и представлен только колониями грибов (рисунок 14).

Периферические лимфатические узлы мелкие, плотновато-эластической консистенции, подвижные, не спаяны с окружающими тканями, размером до 1,0-1,5 см в диаметре. В их конгломератах на разрезе выявлялись фокусы некроза серого цвета желеобразной консистенции, либо вида густой слизи.

При гистологическом исследовании выявлялась стертость рисунка за счет обширного поражения ткани колониями криптококков (рисунок 15).

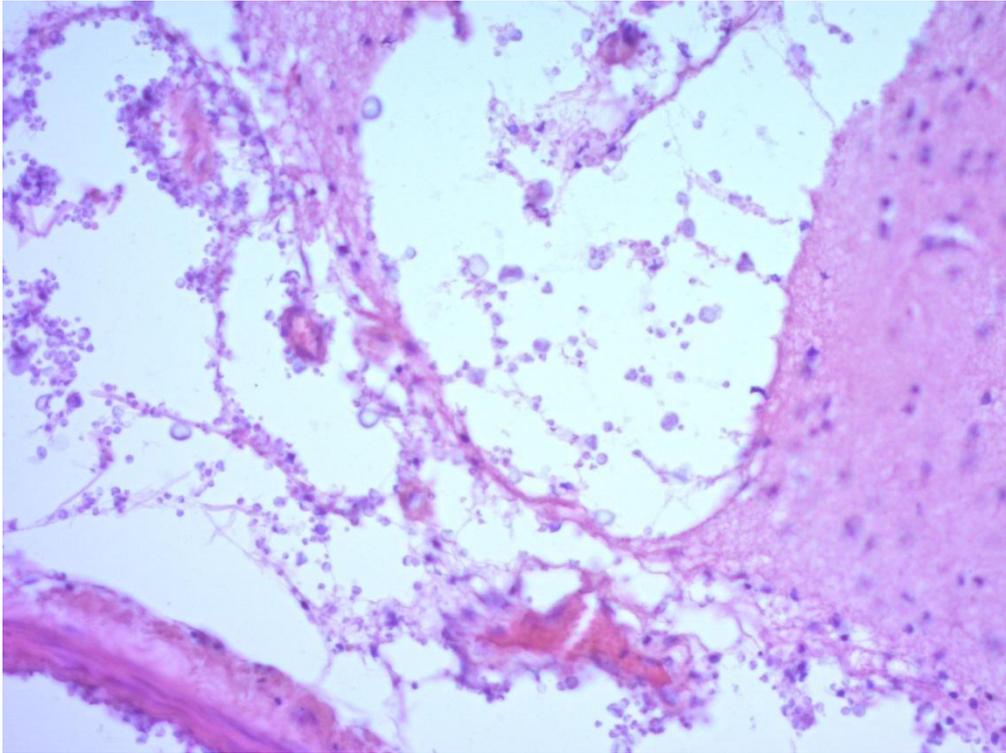


Рисунок 11 - Обширные полости в ткани мозга в зоне роста криптококка.
Окраска гематоксилином и эозином. х 400

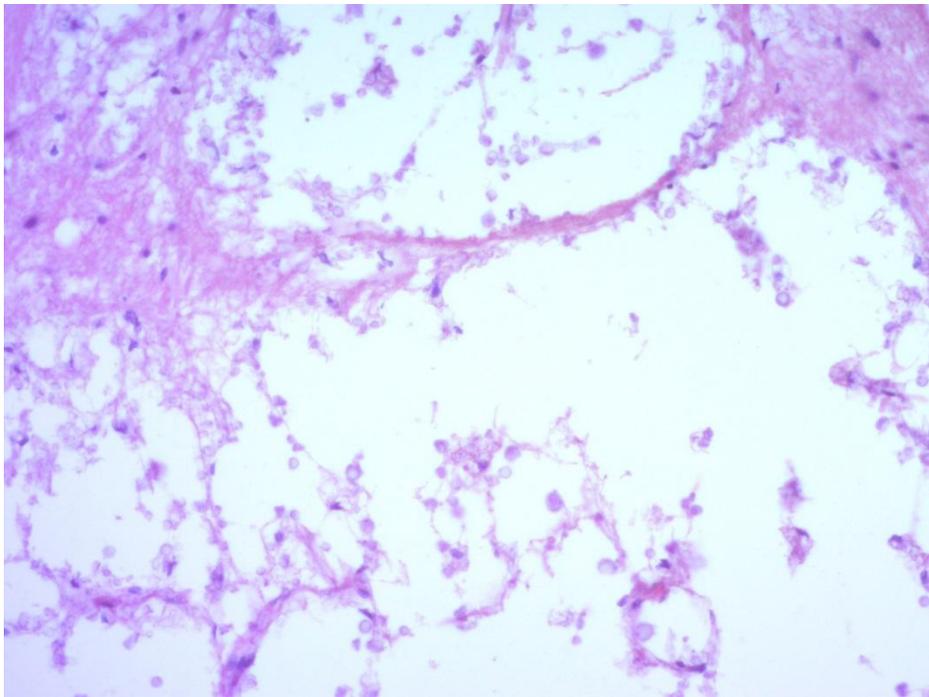


Рисунок 12 - В головном мозге энцефалолизис в зоне роста криптококка.
Окраска гематоксилином и эозином. х 400

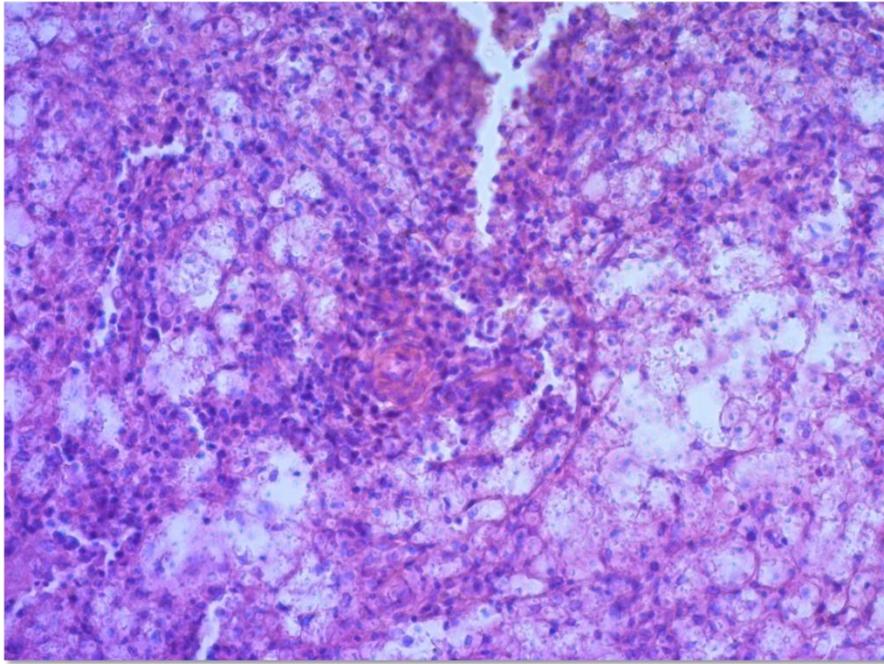


Рисунок 13 - Селезенка. Вокруг центральной артерии лимфоидная ткань слабо представлена; красная пульпа замещена размножающимися колониями криптококков. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

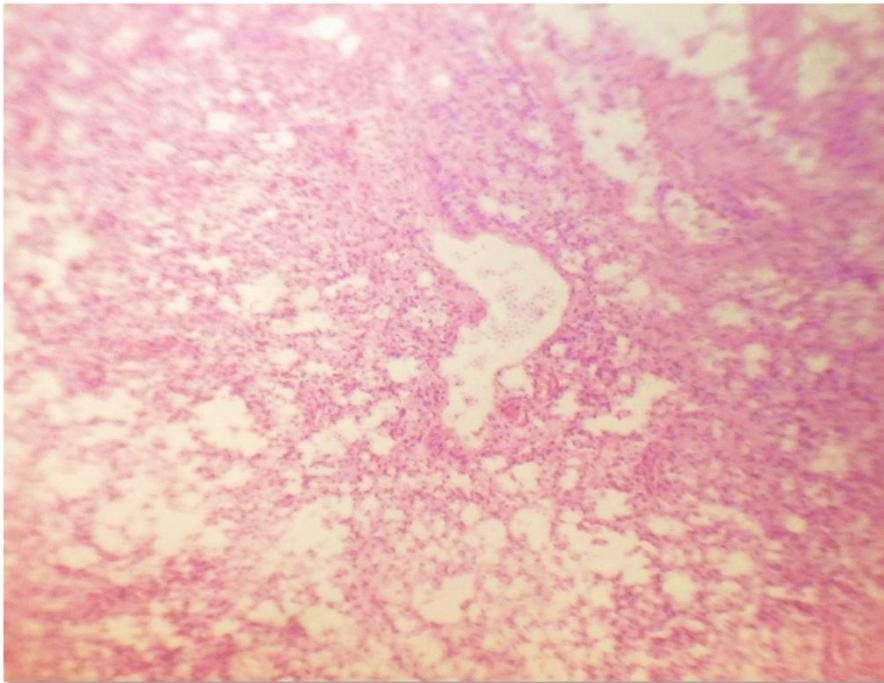


Рисунок 14 - Диффузный рост криптококков в селезенке на фоне полной редукции лимфоидной ткани (атрофия). Окраска гематоксилином и эозином. x 80

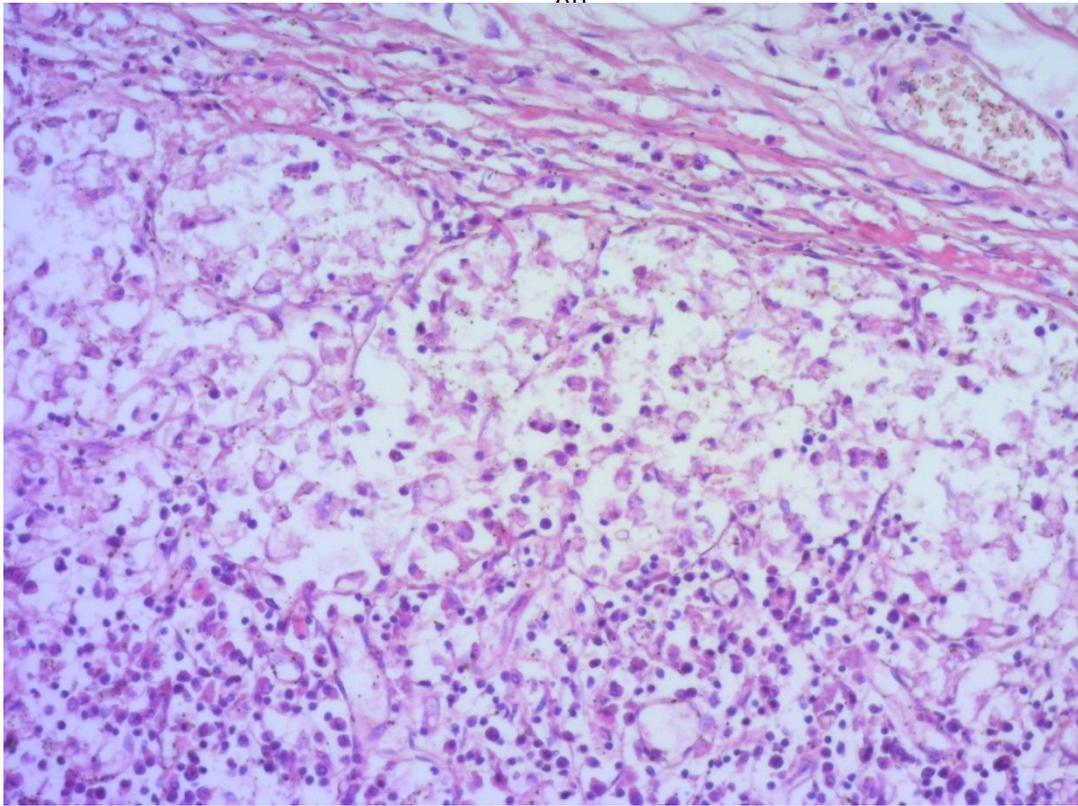


Рисунок 15 - Лимфатический узел. Рост криптококков в краевых синусах. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

Лимфоидная ткань значительно редуцирована вплоть до полного истощения. Контуры лимфатических узлов сохранены за счет фиброзной капсулы.

В легких во всех отделах под плеврой и на разрезах обнаруживались многочисленные плотные взбухающие очаги серого цвета 1-2 мм. На разрезе – полости с гноевидной жидкостью. На фоне полнокровия и фиброза в строме выявлялись скопления колоний криптококков с формированием полостей распада, содержащих некротические массы (рисунок 16). В стенках их заметна слабо выраженная воспалительная инфильтрация, грануляционная ткань с наличием гемосидерофагов, эпителиоидных клеток, многоядерных макрофагов. В просветах расширенных капилляров выявлялись типичные криптококки. Скопления криптококков обнаруживались и в стенках бронхиол с врастанием в их просвет (рисунок 17).

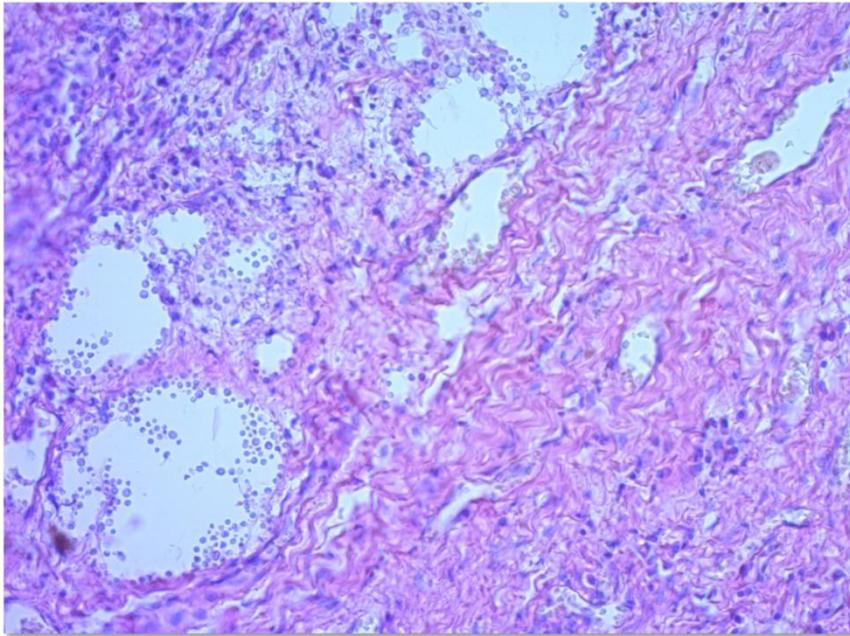


Рисунок 16 - Легкое. Рост колоний грибов без перифокального воспаления на фоне выраженного фиброза. Окраска гематоксилином и эозином. х 200

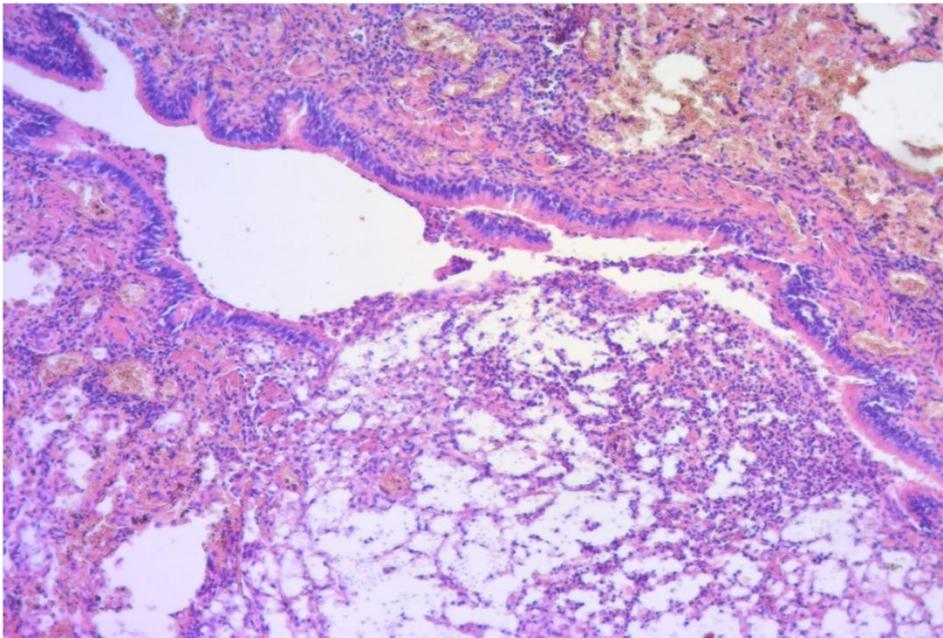


Рисунок 17 - В стенке бронхиолы рост криптококков, десквамация эпителиальной выстилки, острое полнокровие паренхимы легкого, воспалительная лимфоидноклеточная инфильтрация умеренно выражена. Окраска гематоксилином и эозином. х 200

В ткани легких – картина двусторонней серозно-фибринозной или серозно-десквамативной пневмонии, отдельные фокусы абсцедирующей пневмонии с фиброзом и валом из грануляционной ткани в стенках полостей распада (рисунок 18).

При поражении печени криптококкозом размеры ее были увеличены. Под капсулой и на разрезах выявлялись многочисленные мелкие очажки до 0,5 см с желатинозным содержимым. При гистологическом исследовании обнаруживались оптически пустые очажки в зоне роста криптококков в портальной, перипортальной, перисинуоидальной строме с замещением ее паренхимы колониями грибов (рисунок 19). В зоне размножающихся грибов выявлялась инфильтрация лимфоидными, плазматическими клетками, гистиоцитами, многоядерными макрофагами (рисунок 20).

Поджелудочная железа макроскопически плотная. Диффузно-очаговый характер роста криптококков выявлялся в островках Лангерганса, дольковых структурах экзокринной части железы (рисунок 21). Рост криптококков выявлялся также в стенке кишечника (рисунок 22) и сальнике (рисунок 23).

В почках выявлялись очаги с полостями некроза. При гистологическом исследовании в корковом и мозговом слоях в артериолах, клубочках (рисунок 24), просвете канальцев - обильный рост криптококков без признаков воспалительных изменений в строме.

В щитовидной железе при гистологическом исследовании обнаруживался массивный рост криптококков без перифокальной воспалительной инфильтрации (рисунок 25).

В надпочечниках макроскопических изменений на аутопсии не отмечалось, однако при гистологическом исследовании выявлялось очаговое поражение как коркового, так и мозгового слоев криптококками, так же без реакции окружающей ткани железы (рисунок 26).

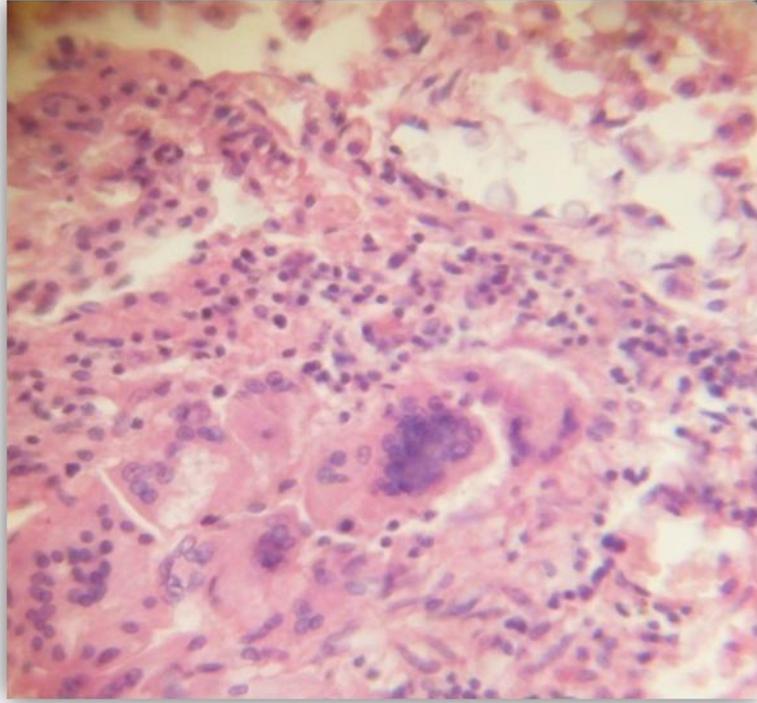


Рисунок 18 - Легкое. Криптококковая пневмония: макрофагальная гранулема, в просветах альвеол почкующиеся криптококки. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

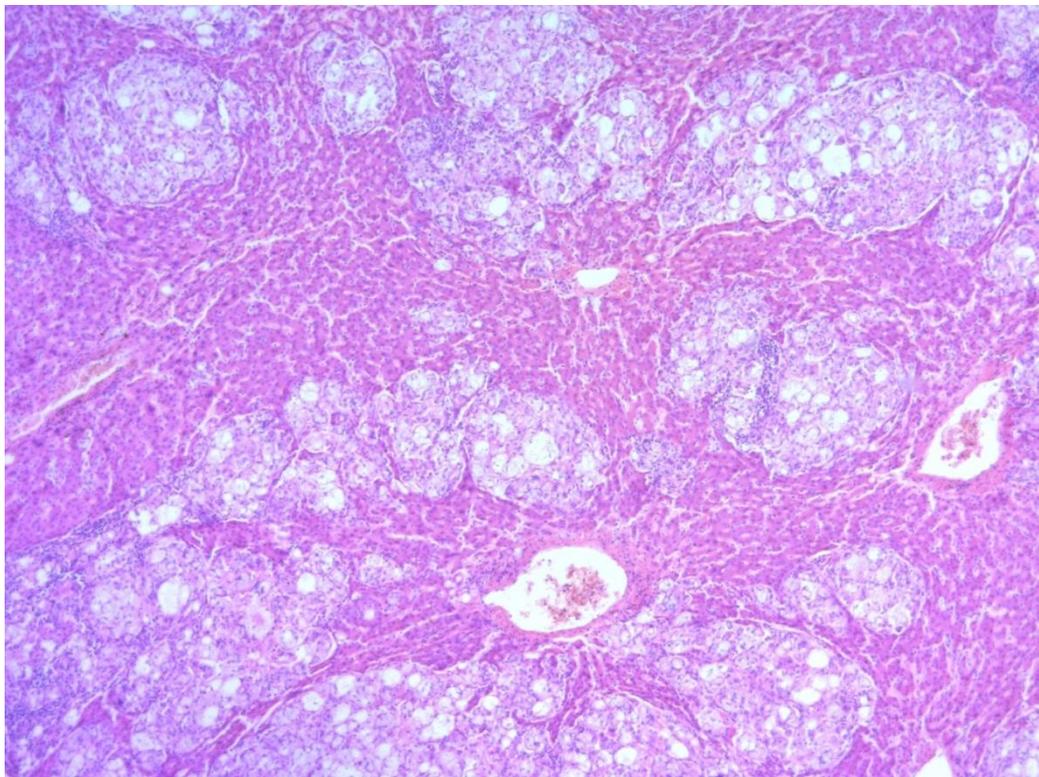


Рисунок 19 - Замещение паренхимы печени колониями грибов. Окраска гематоксилином и эозином. х 40

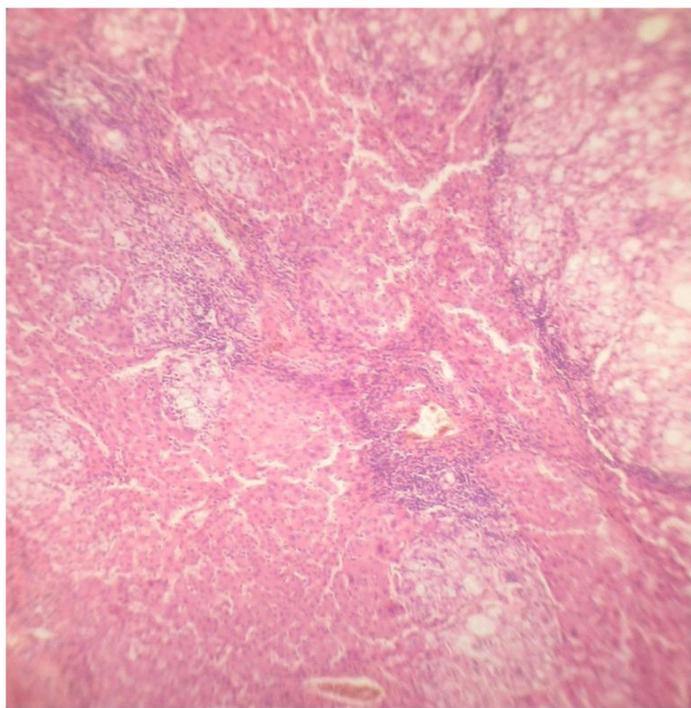


Рисунок 20 - В печени множество колоний криптококка, перифокальное продуктивное воспаление незначительно выражено. Окраска гематоксилином и эозином. x 80

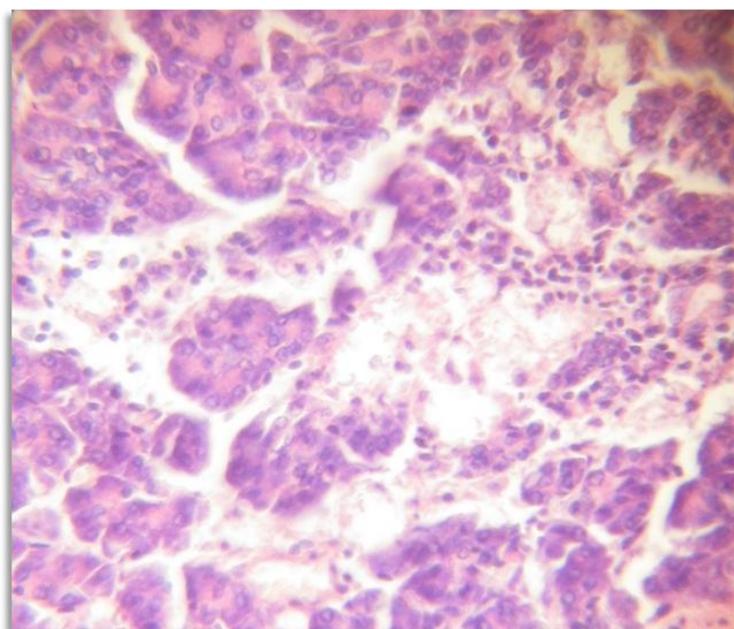


Рисунок 21 - Поджелудочная железа. Диффузный рост криптококка в строме, незначительная лимфогистиоцитарная инфильтрация, единичные нейтрофильные лейкоциты. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

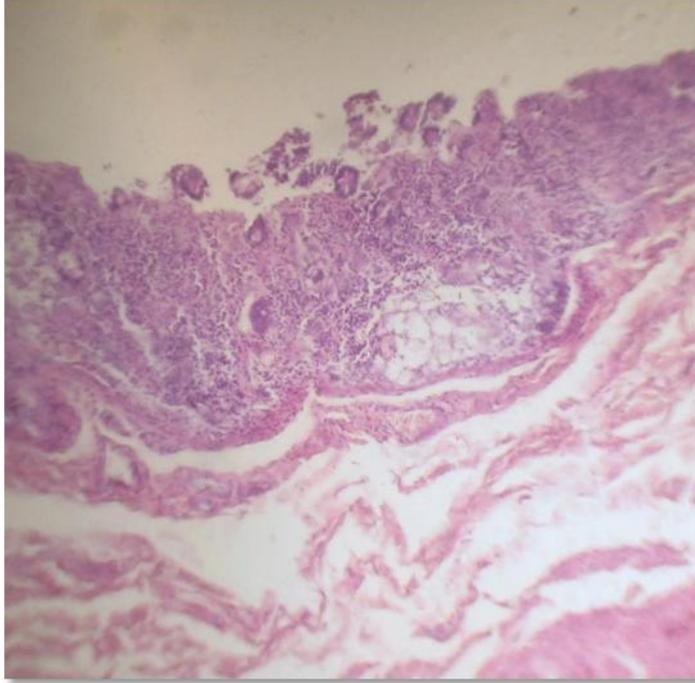


Рисунок 22 - Рост криптококков в слизистой оболочке толстой кишки. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

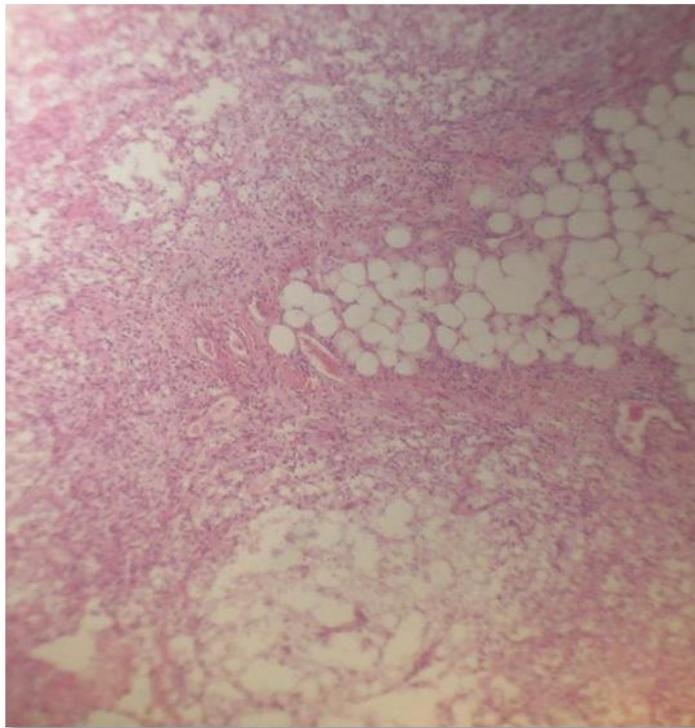


Рисунок 23 - Рост колоний криптококка в малом сальнике. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

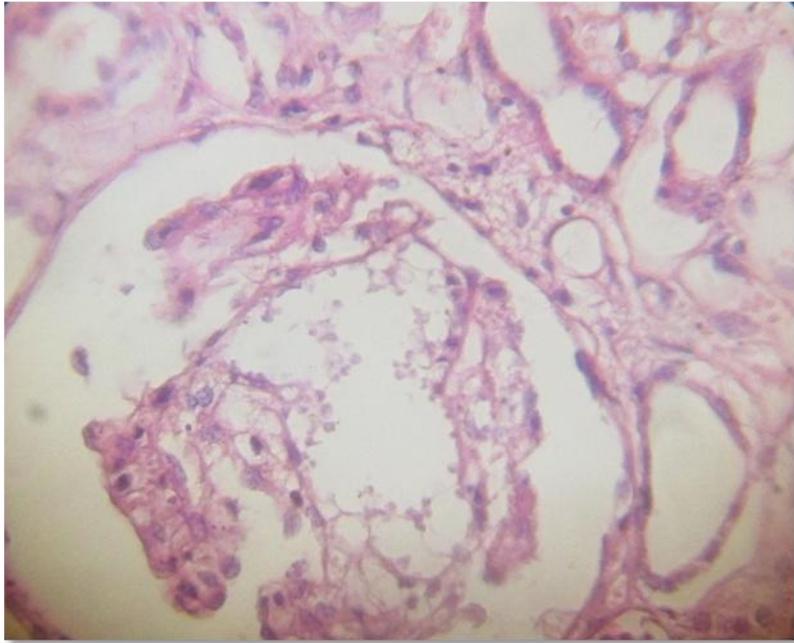


Рисунок 24 - В клубочке почки лизис капиллярных петель, замещение их размножающимися клетками криптококков, уплощение эпителия канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

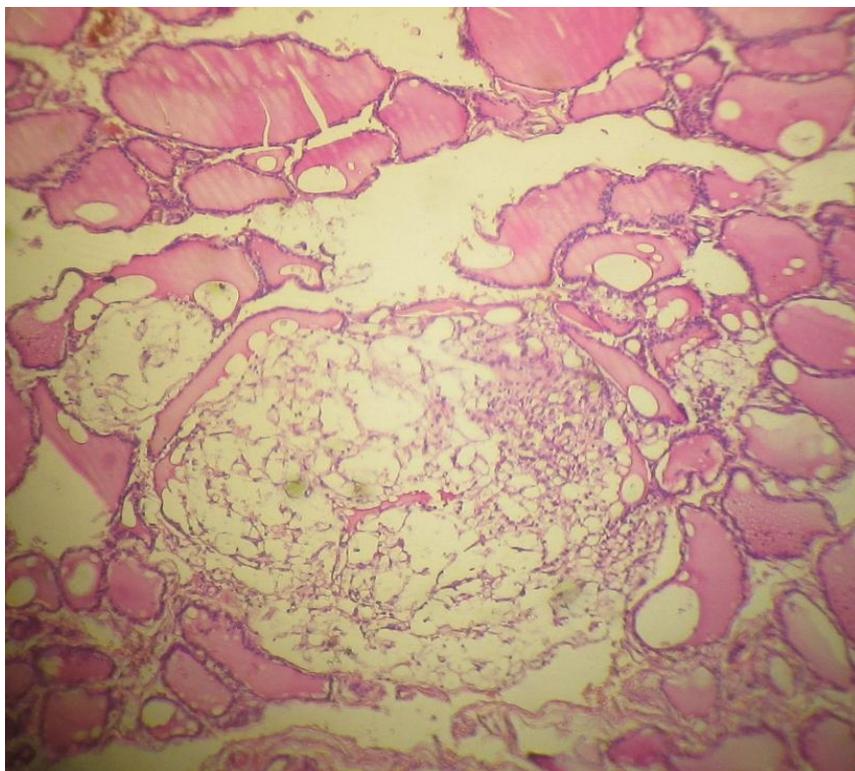


Рисунок 25 - Рост криптококков в щитовидной железе. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

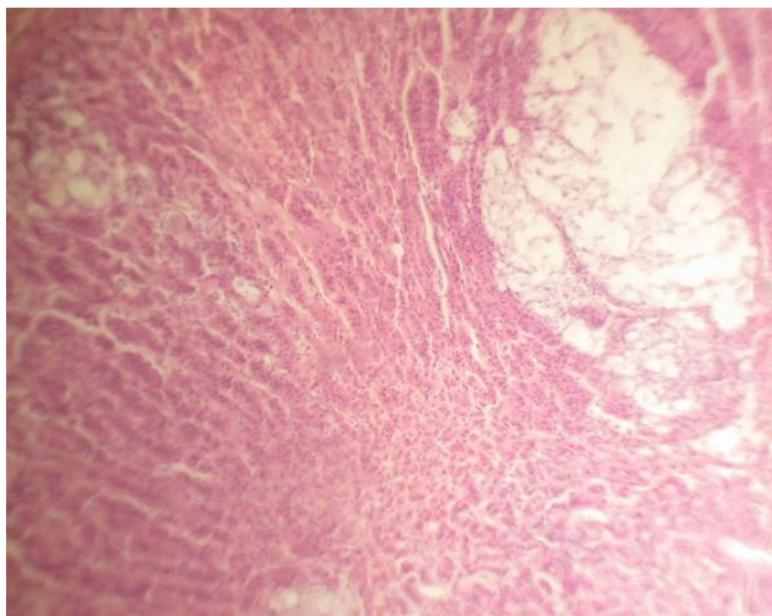


Рисунок 26 - Надпочечник. Рост колоний криптококков в корковом и мозговом слоях. Перифокальная воспалительная реакция не выражена. Окраска гематоксилином и эозином. x 80

Таким образом, впервые была определена частота встречаемости криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов в специализированном стационаре. Она составила 5,1 на 1000 госпитализированных больных. При этом отмечался рост заболеваемости за период с 2007 по 2015 гг. более чем в 20 раз.

Впервые выявлены «медицинские» и «общественно-поведенческие» факторы риска развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Среди «медицинских»: длительность ВИЧ-инфекции на момент развития криптококкоза в среднем 6,5 лет, тяжелое состояние пациентов, стационарное лечение в течение 30 дней, предшествующих госпитализации, а также наличие туберкулеза и ХОБЛ; среди «общественно-поведенческих» - неблагоприятные жилищные условия и отсутствие трудоустройства.

Наиболее значимыми комбинациями факторов риска стали: сочетание отсутствия трудоустройства с фактом стационарного лечения в предшествующие госпитализации 30 дней (у $42,6 \pm 5,99\%$ обследованных в группе наблюдения); с ХОБЛ (у $35,3 \pm 5,79\%$); с проживанием в неблагоустроенном жилье (у $11,7 \pm 3,89\%$);

а также тяжелое состояние + стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней ($y 8,8 \pm 3,43\%$).

Результаты нашего исследования подтверждают наличие прямой связи между степенью иммунодефицита при ВИЧ-инфекции и возникновением криптококкоза. Заболевание достоверно чаще развивается при количестве $CD4^+$ Т-лимфоцитов менее 100 клеток/мкл. Кроме этого, выявлено важное значение абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, при их снижении (менее $5,89 \cdot 10^9/\text{л}$ и $0,97 \cdot 10^9/\text{л}$ соответственно) риск развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных больных значительно возрастает.

Клинически криптококкоз у ВИЧ-инфицированных пациентов проявляется поражением центральной нервной системы в виде менингита или менингоэнцефалита у всех пациентов и поражением легких более чем у трети больных, имеет тяжелое течение и заканчивается летальным исходом в $42,6 \pm 5,99\%$ случаев. Ранними симптомами являются лихорадка (97,0%), упорная головная боль, головокружение, тошнота и рвота. Следует заметить, что у большинства наблюдаемых нами больных (65,0%) имели место менингеальные симптомы, хотя по литературным данным, они обнаруживаются лишь у 30,0% пациентов, страдающих криптококкозом. Очаговая неврологическая симптоматика отмечается у трети обследованных. Такие симптомы, как слабость в ногах и шаткость походки наблюдались у каждого четвертого пациента, у 15,0% больных – нарушение зрения, двоение в глазах.

Поражение легких у пациентов с криптококкозом наблюдается в 38,2% случаев, клиника его неспецифична, проявляется в виде развития пневмонии. Обращает на себя внимание, что у половины наблюдаемых имеет место сочетание криптококкового поражения легких с туберкулезом, пневмоцистной, бактериальной и кандидозной пневмонией.

Клиническая картина заболевания ограничивается манифестными проявлениями острого менингита (менингоэнцефалита) и пневмонии, сходных с таковыми при других заболеваниях. Усложняет диагностическую задачу наличие ассоциированной с грибковой бактериальной и вирусной микрофлоры. У

четвертой части обследованных ВИЧ-инфицированных имело место сочетание криптококкоза с менингоэнцефалитами другой этиологии (туберкулезной, герпетической, токсоплазмозной).

При проведении микологического обследования выявлено наличие *C. neoformans* не только в ликворе, но и в крови у подавляющего большинства наблюдаемых нами пациентов (94,0%). Однако прижизненно у них не было обнаружено клинических симптомов поражения внутренних органов и кожи, изменения были обусловлены лишь оппортунистическими и вторичными заболеваниями, характерными для поздней стадии ВИЧ-инфекции.

Анализ аутопсийного материала показал, что, несмотря на отсутствие специфических клинических данных, выраженные патоморфологические изменения, характерные для криптококкоза, были обнаружены не только в головном мозге и легких, но и в печени, лимфатических узлах, почках, надпочечниках, селезенке, поджелудочной, щитовидной железах и кишечнике. Они представлены формированием множественных фокусов некрозов со скоплениями криптококков во всех органах при отсутствии значимой перифокальной воспалительной реакции со стороны окружающих тканей. Клеточная воспалительная инфильтрация носила характер слабо выраженного продуктивного воспаления.

Результаты клинического наблюдения и патоморфологического исследования позволяют уточнить патогенетические закономерности криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. После проникновения возбудителя в организм человека аэрогенным путем при проживании в неблагоустроенном жилье, криптококки находят в легких благоприятную среду для размножения и развития. Этому способствует наличие у ВИЧ-инфицированных патологии дыхательной системы – туберкулеза и ХОБЛ. На фоне угнетения клеточного иммунитета (снижения уровня CD4⁺ Т-лимфоцитов, общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови) происходит гематогенная диссеминация возбудителя и развитие генерализованного процесса. Криптококки обнаруживаются у ВИЧ-

инфицированных пациентов в крови, спинномозговой жидкости и во всех органах. Однако клинические симптомы, характерные для генерализованного процесса, у данной категории больных отсутствуют. В клинической картине криптококкоза доминирует поражение ЦНС и легких.

Итак, типичным проявлением криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов является развитие острого генерализованного инвазивного процесса с манифестной клинической картиной поражения ЦНС и легких при отсутствии признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи.

Наибольшую эффективность показала схема лечения криптококкоза, включающая сочетание амфотерицина В и флюконазола, по сравнению с монотерапией этими препаратами.

Учитывая вышеизложенное, ранняя диагностика криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания должна основываться на выявлении факторов риска, клинических признаков поражения центральной нервной системы и легких, микологического исследования крови, ликвора, определения антигена криптококка в спинномозговой жидкости для последующего назначения адекватной антимикотической терапии. Кроме того, необходимым условием успешного лечения является проведение микробиологических и паразитологических исследований для выявления сочетанного течения криптококкового менингита/ менингоэнцефалита и пневмонии с бактериальными, вирусными и протозойными инфекциями.

ГЛАВА 4. ИНВАЗИВНЫЙ КАНДИДОЗ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

4.1. Распространенность и факторы риска ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов

Оценка распространенности ИК у ВИЧ-инфицированных больных в специализированном отделении краевой инфекционной больницы за период с 2007 по 2015 гг. показала, что частота его составила 3,5 на 1000 госпитализированных больных (46 пациентов с ИК из 13134 госпитализированных). За этот период произошел рост заболеваемости почти в 5 раз (с 1,8 в 2007 г. до 8,8 в 2015 г. на 1000 госпитализированных) (рисунок 27).

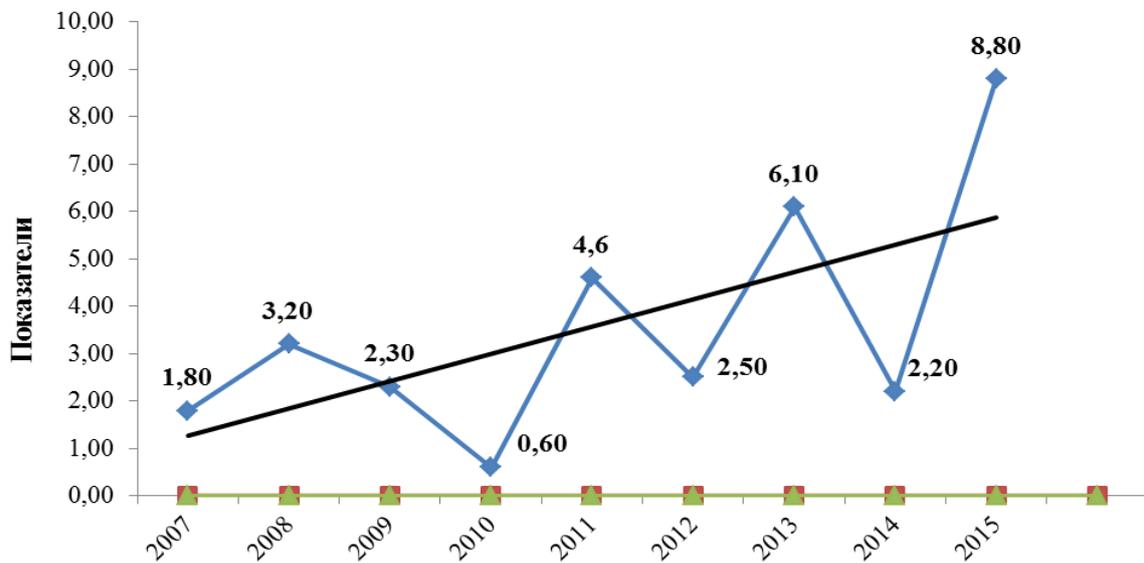


Рисунок 27 – Частота встречаемости ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов за 2007-2015 гг. (на 1000 госпитализированных)

Факторы риска ИК у больных с ВИЧ-инфекцией были изучены в исследовании «случай-контроль» в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов Пермской краевой клинической инфекционной

больницы. Группу «случай» составили 43 пациента с подтвержденным диагнозом инвазивный кандидоз по критериям ESCMID Candida Guidelines 2012 г., контрольную группу - 59 пациентов без ИК. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, территории проживания, стадии ВИЧ-инфекции (4 стадия вторичных заболеваний согласно классификации Покровского В.И. 2001 г.), количеству CD4⁺ Т-лимфоцитов < 350 кл/мкл, отсутствию АРТ (таблица 5).

Таблица 5 - Характеристика исследуемых групп («случай-контроль»)

Характеристика признака		Группа «Случай» (43 чел)	Группа «Контроль» (59 чел)	р
Пол	мужчины	33 (76,7%±6,44)	45 (76,3%±5,54)	>0,05
	женщины	10 (23,3%±6,44)	14 (23,7%±5,54)	>0,05
Средний возраст (года)		32,2	33,0	>0,05
Территория проживания	г. Пермь	38 (88,3%±4,89)	49 (83,1%±4,88)	>0,05
	Пермский край	5 (11,7%±4,89)	10 (16,9%±4,88)	>0,05
Среднее количество CD ₄ -Т-лимфоцитов (кл/мкл)		159,6	114,0	>0,05

Изучались 2 группы гипотетических факторов развития ИК – медицинские (путь заражения ВИЧ-инфекцией и ее длительность, наличие ХОБЛ, сахарного диабета, хронического гепатита С, ОФК, туберкулеза, оперативные вмешательства и стационарное лечение в течение 30 дней до госпитализации, тяжесть состояния пациента, пребывание в ОРИТ, ИВЛ, количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови) и «общественно-поведенческие» (трудоустройство, нахождение в учреждениях ФСИН, зависимость от ПАВ. При оценке синдрома зависимости от ПАВ учитывался вид

зависимости (алкогольная и наркотическая) и клиническая форма зависимости согласно МКБ-10 (активная зависимость с употреблением наркотических веществ внутривенно и период воздержания) (таблица 6).

Таблица 6 - Частота встречаемости потенциальных факторов развития ИК в группах «случай-контроль» (абс/%)

Исследуемые факторы		Группа «Случай» (43)	Группа «Контроль» (59)	t-критерий (р)	Хи-квадрат	Сила связи	Отношение шансов (ДИ=95)
<i>Общественно-поведенческие</i>							
Трудоустройство	Официально трудоустроены	3 (6,98%±3,89)	15 (25,42%±5,67)	2,68 P<0,05	5,82	средняя	0,22 (0,059-0,817)
	Не работают	40 (93,02%±3,89)	44 (74,58%±5,67)	2,68 P<0,05	5,82	средняя	4,659 (1,256-17,278)
Синдром зависимости от алкоголя		18 (41,86%±7,52)	21 (35,59%±6,23)	0,64 P>0,05	0,41	несущ	0,303 (0,581-2,920)
Синдром зависимости от ПАВ, воздержание		35 (81,4%±5,93)	47 (79,66%±5,24)	0,22 P>0,05	0,05	несущ	1,117 (0,413-3,024)
Синдром активной зависимости от ПАВ (употребление наркотиков внутривенно)		32 (74,42%±6,65)	25 (42,37%±6,43)	3,46 P<0,05	10,36	средняя (отн сильная)	3,956 (1,678-9,330)
Нахождение в учреждениях ФСИН		25 (58,14%±7,52)	19 (32,2%±6,08)	2,68 P<0,05	6,821	средняя	2,924 (1,293-6,610)
<i>Медицинские</i>							
<i>Анамнестические</i>							

Половой путь заражения	4 (9,3%± 4,43)	12 (20,34%± 5,24)	1,61 P>0,05	2,29	слабая	0,402 (0,120- 1,345)
Парентеральный путь заражения	39 (90,7%± 4,43)	47 (79,66%± 5,24)	1,61 P>0,05	2,29	слабая	2,489 (0,743- 8,337)
Длительность ВИЧ-инфекции (года)	6,12	5,62	0,52 P>0,05	-	-	-
Стационарное лечение в предшествующие 30 дней	19 (44,19%± 7,57)	14 (23,72%± 5,53)	2,18 P<0,05	4,75	средняя	2,545 (1,088- 5,952)
Оперативные вмешательства	8 (41,86%± 5,93)	0	3,14 P<0,05	11,9 1	Средняя (отн сильная)	-
Сахарный диабет	2 (4,65%± 3,21)	0	1,45 P>0,05	2,8	слабая	-
Хроническая обструктивная болезнь легких	7 (16,28%± 5,63)	14 (32,56%± 5,54)	0,94 P>0,05	0,84	несущ	0,625 (0,228- 1,712)
Хронический гепатит С	40 (93,02%± 3,89)	58 (98,31%± 1,68)	1,25 P>0,05	1,84	слабая	0,230 (0,023- 2,290)
<i>Туберкулез</i>	24 (55,81%± 7,57)	16 (27,12%± 5,79)	3,01 P<0,05	8,59 2	Средняя	3,395 (1,478- 7,798)
Клинические						
<i>Тяжесть состояния</i>	24 (55,81%± 7,57)	10 (16,95%± 4,88)	4,31 P<0,05	16,9 1	Отн сильная	6,189 (2,496- 15,349)
<i>Орофарингеальный кандидоз (ОФК)</i>	22 (51,16%± 7,62)	16 (27,12%± 5,79)	2,51 P<0,05	6,15	Средняя	2,815 (1,229- 6,449)

<i>ИВЛ</i>	18 (41,86%± 7,52)	7 (11,86%± 4,21)	3,48 P<0,05	12,1	Средняя (отн сильная)	5,349 (1,978- 14,465)
<i>Нахождение в ОРИТ</i>	18 (41,86%± 7,52)	7 (11,86%± 4,21)	3,48 P<0,05	12,1	Средняя (отн сильная)	5,349 (1,978- 14,465)
Лабораторные						
Уровень CD4 ⁺ Т-лимфоцитов	159,6	114,02	1,34 P>0,05	-	-	-
Лейкоциты (*10 ⁹ /л)	9,7	5,8	3,2 P<0,05	-	-	-
Нейтрофилы (*10 ⁹ /л)	7,2	4,16	3,2 P<0,05	-	-	-
Лимфоциты (*10 ⁹ /л)	1,45	1,19	1,13 P>0,05	-	-	-

Как показали проведенные исследования, достоверно чаще в группе ВИЧ-инфицированных пациентов с ИК встречались следующие факторы: нахождение в ОРИТ (ОШ 5,349; ДИ=1,978-14,465), предшествующие оперативные вмешательства на органах желудочно-кишечного тракта, стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней (ОШ 2,545; ДИ=1,088-5,952), применение ИВЛ (ОШ 5,349; ДИ=1,978-14,465), тяжелое состояние пациентов (ОШ 6,189; ДИ=2,496-15,349). Согласно данным литературы, вышеперечисленные факторы являются факторами риска развития ИК и у пациентов без ВИЧ-инфекции [152,173]. Дополнительно к ним, нами установлен ряд факторов, которые достоверно чаще встречались только у ВИЧ-инфицированных пациентов с ИК. Это орофарингеальный кандидоз (ОШ 2,815; ДИ=1,229-6,449) и туберкулез (ОШ 3,395; ДИ=1,478-7,798). Полученные результаты свидетельствуют о наличии прямой связи между этими признаками и вероятностью развития ИК.

Такие факторы, как наличие у пациентов сахарного диабета и ХОБЛ (ОШ 0,625; ДИ=0,228-1,712) с одинаковой частотой имели место в группах пациентов

с ИК и без него. Это свидетельствует о том, что они не оказывают значимого влияния на вероятность развития ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов. У пациентов же без ВИЧ-инфекции они рассматриваются как факторы риска [56].

Вместе с тем выявлено, что на возможность развития ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов не оказывают влияния такие факторы, как путь заражения - половой (ОШ 0,402; ДИ=0,120-1,345) или парентеральный (ОШ 2,489; ДИ=0,743-8,337) и длительность ВИЧ-инфекции.

Как показали наши исследования, кроме «медицинских» факторов, достоверные различия в частоте встречаемости были установлены в группе так называемых «общественно-поведенческих», каковыми являются нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,924; ДИ=1,293-6,610), отсутствие постоянного места работы (ОШ 4,659; ДИ=1,256-17,278) и наличие синдрома зависимости от ПАВ. Обнаружена прямая связь между возникновением ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов с активной формой зависимости от ПАВ (употребление наркотиков внутривенно ОШ 3,956; ДИ=1,678-9,330). У пациентов, находившихся на момент исследования в стадии воздержания от употребления ПАВ, достоверных различий не получено (ОШ 1,117; ДИ=0,413-3,024).

Известно, что в защите от кандидозной инфекции основную роль играет клеточный иммунитет, принимающий активное участие в ограничении распространения и уничтожении клеток *Candida spp.* [69]. Снижение уровня нейтрофилов у пациентов с онкологическими, гематологическими и др. заболеваниями может способствовать развитию тяжелых форм кандидоза [17,58,107,113]. У обследуемых нами ВИЧ-инфицированных больных нейтропении не наблюдалось. Более того, количество нейтрофилов и лейкоцитов крови пациентов с ИК существенно превышало таковые в контрольной группе, однако эти признаки не были отобраны нами для дальнейшего изучения, т.к. их значения соответствуют норме и не входят в диагностические критерии СВР (системной воспалительной реакции) [150]. Поэтому, не представляется возможным говорить о нейтропении как о факторе риска вероятного развития инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

При сравнении таких «лабораторных» признаков, как общее количество лимфоцитов в периферической крови и уровень CD4⁺ Т-лимфоцитов, достоверных различий в опытной и контрольной группах не получено.

Таким образом, среди изучаемых факторов риска десять имели достоверные различия в группах ВИЧ-инфицированных пациентов с ИК и без него. Оценка чувствительности и специфичности каждого из них показала, что ни один из перечисленных факторов изолированно не обладал одновременно высокой чувствительностью и специфичностью (таблица 7).

Таблица 7 - Чувствительность и специфичность факторов, ассоциированных с вероятностью развития ИК в группах «случай-контроль» (%)

Критерий	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	Отношение шансов
Не работает	93	25,4	4,54
Синдром активной зависимости от ПАВ	74,4	57,6	3,95
Нахождение в учреждениях ФСИН	58,1	67,8	2,92
Оперативные вмешательства	18,6	100	-
Туберкулез	55,9	72,9	3,39
Тяжесть состояния	55,8	83	6,18
ОФК	51,2	72,9	2,81
Факт ИВЛ	41,9	88,1	5,34
Нахождение в ОРИТ	41,9	88,1	5,34
Стационарное лечение в предшествующие 30 дней	44,2	76,3	2,54

В связи с этим, нами была изучена возможность использования сочетания этих факторов (рисунок 28).

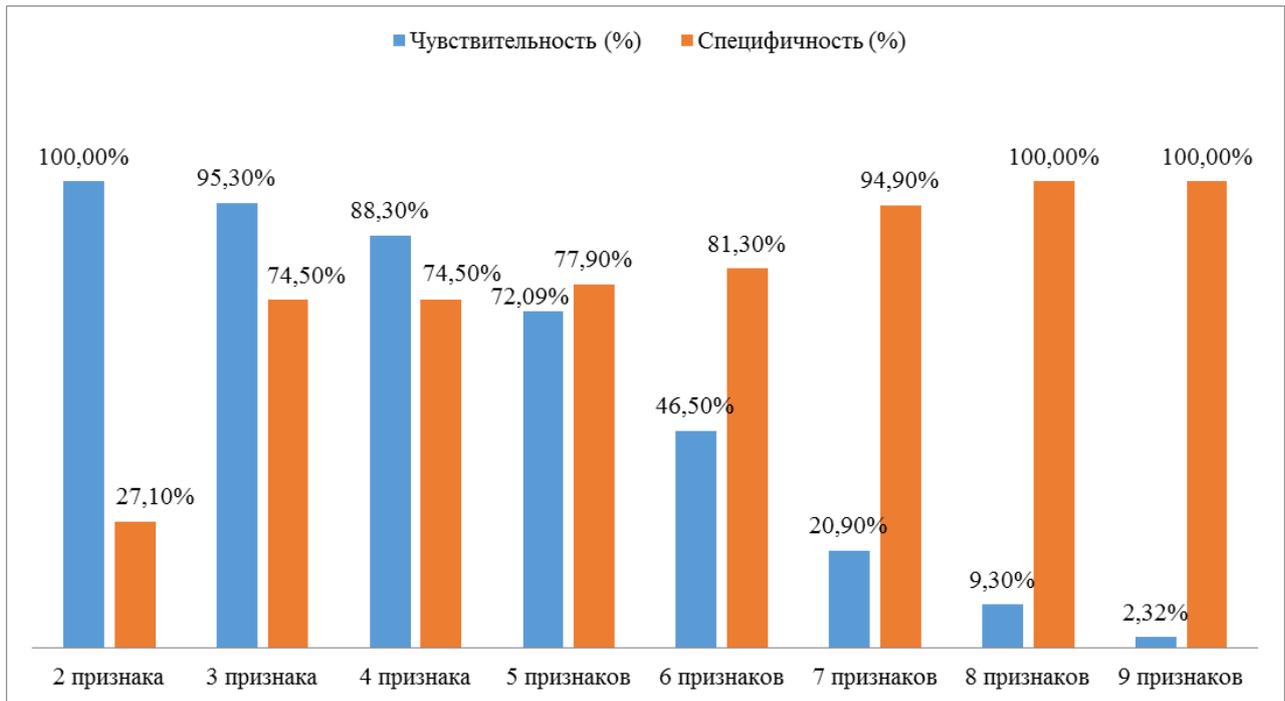


Рисунок 28 - Чувствительность и специфичность сочетаний факторов развития инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов

Установлено, что риск вероятного развития ИК значительно возрастает при сочетании нескольких факторов. Сочетание трех признаков давало одновременно высокие показатели чувствительности (88,3%) и специфичности (98,3%). При сочетании четырех и более признаков показатели чувствительности и специфичности снижались. Таким образом, наличие у ВИЧ-инфицированных пациентов не менее трех признаков из десяти является оптимальным способом ранней диагностики вероятного развития у них ИК.

При этом, нами выявлены наиболее значимые комбинации факторов риска: наличие туберкулеза, отсутствие постоянного места работы и нахождение в учреждениях ФСИН (у $41,8 \pm 7,52\%$ обследованных в опытной группе); наличие ОФК, активной формы зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы (у $39,5 \pm 7,45\%$); наличие туберкулеза, активной формы зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы (у $37,2 \pm 7,37\%$); наличие ОФК, туберкулеза и отсутствие постоянного места работы (у $32,5 \pm 7,14\%$).

Обращает на себя внимание тот факт, что среди них всегда присутствуют «общественно-поведенческие» факторы, такие как активная форма зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотических веществ), нахождение в учреждениях ФСИН, а также наличие туберкулеза в анамнезе.

Это позволяет уже при первичном осмотре ВИЧ-инфицированного пациента выявить высокий риск вероятности возникновения у него ИК без применения дорогостоящих и трудоемких методов обследования и выиграть время для проведения профилактических и лечебных мероприятий.

4.2. Клиническая характеристика ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов

Нами проведено клиническое наблюдение за 46 ВИЧ-инфицированными пациентами с ИК, находившимися на лечении в Пермской краевой клинической инфекционной больнице с 2007 по 2015 гг. Среди обследованных преобладали мужчины – их было 35 (76,0%), женщин - 11 (24,0%). Все пациенты были лицами трудоспособного возраста: от 21 до 42 лет (в среднем 33 года). Большинство наблюдаемых – 41 человек (89,1%) проживали в г.Перми, 5 - в Пермском крае (10,9%). Большая часть обследованных – 43 человека (93,4%) не имели постоянного места работы. Официально трудоустроены были только 3 пациента, они составили 6,6%, 27 человек (58,6%) до поступления в стационар находились в учреждениях ФСИН.

Заболевание развилось на фоне 4Б-В стадии ВИЧ-инфекции (согласно клинической классификации В.И.Покровского, 2001 г.). Из эпидемиологического анамнеза было выяснено, что 42 (91,3%) пациента являлись наркопотребителями, заражение ВИЧ-инфекцией произошло парентеральным путем, 4 человека (8,7%) инфицировались при гетеросексуальных и гомосексуальных контактах. Продолжительность ВИЧ-инфекции без лечения составляла от 1 до 16 лет (в среднем 5,8). У большинства пациентов выявлена зависимость от психоактивных веществ: у 42 человек (91,3% случаев) – наркотическая (в стадии активного

употребления наркотиков внутривенным путем находились 33 пациента – 71,7%), у 21 человека (45,6%) - алкогольная. Большинство наблюдаемых страдали хроническими вирусными гепатитами: гепатитом С - 43 человека (93,4%), гепатитом В - 7 (15,2%).

Среди других вторичных заболеваний, характерных для ВИЧ-инфекции, отмечены: туберкулез генерализованный, легких и внутригрудных лимфатических узлов (25 чел.- 54,3%), кандидоз слизистой оболочки полости рта (38 чел.- 82,6%), пневмоцистная пневмония (3 чел.- 6,52%).

Сопутствующими заболеваниями у наблюдаемых были: ХОБЛ (7 человек – 15,2%), сахарный диабет 1 типа (2 – 4,3%), сифилис (1 – 2,1%).

Антиретровирусную терапию в течение 1 месяца до поступления в инфекционный стационар получал лишь 1 пациент, еще 4 больным она была назначена в стационаре на фоне лечения ИК. Большинство больных (27 человек – 58,6%) были направлены в клинику с первичными диагнозами пневмония и сепсис. Обследование показало, что ИК протекал у всех наблюдаемых в форме кандидемии и острого диссеминированного кандидоза. Диагноз ИК (по критериям ESCMID Candida Guidelines 2012 г.) был установлен у 28 (60,9%) пациентов прижизненно и у 18 (39,1%) посмертно. У 7 (15,2%) больных прижизненно выявлено сочетание ИК и бактериального сепсиса, вызванного *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corinobacterium spp.* У одного пациента наблюдалось сочетание острого диссеминированного кандидоза и генерализованного криптококкоза.

Сроки установления диагноза ИК от начала заболевания составляли от 2 до 280 дней (в среднем 30 дней). От момента госпитализации в специализированный стационар диагноз был установлен в течение 1-70 дней (в среднем 9,5 дней).

При поступлении большинство пациентов предъявляли жалобы на слабость (38 чел.-82,6%), кашель с мокротой (31 чел.-67,3%) и повышение температуры. Боли в грудной клетке отмечали 13 больных (28,2%), одышку – 10 человек (21,7%). Головные боли беспокоили 8 пациентов (17,4%), миалгии и

артралгии – 12 (26,0%), нарушение сна – 7 (15,2%), головокружение – 4 (8,6%). У небольшой части наблюдаемых отмечались диспепсические явления – тошнота и рвота (2 чел.- 4,3%), жидкий стул (2 чел.- 4,3%).

У половины пациентов наблюдалась лихорадка 38-40⁰С с неправильным типом температурной кривой. Субфебрильная температура тела отмечалась у 19 человек (41,3%). В 4 случаях (8,6%) зарегистрирована нормотермия и пониженная температура тела.

Половина больных (23 чел. – 50,0%) поступила в стационар в состоянии средней степени тяжести. Тяжелое состояние зафиксировано у 15 пациентов (32,6%). Тяжесть состояния была обусловлена выраженной интоксикацией, дыхательной недостаточностью и гемодинамическими нарушениями. В крайне тяжелом состоянии госпитализированы 8 (17,3%) пациентов, заболевание закончилось летальным исходом в первые сутки пребывания в стационаре.

Большинство больных были пониженного питания (26 чел.- 56,5%) или истощены (11 чел.- 23,9%). Бледность кожных покровов отмечалась у 31 пациента (67,4%), желтуха – у 6 (13,0%), цианоз различной степени - у 5 (10,8%). Геморрагическая сыпь на туловище и в области дистальных отделов конечностей наблюдалась у трех пациентов (6,5%). Периферические лимфатические узлы у всех обследованных увеличены от 0,5 до 2 см, плотные, безболезненные, кожа над ними не изменена.

При осмотре полости рта и глотки слизистая оболочка у 38 человек была сухая, гиперемированная, умеренно отечная, покрыта серовато-желтыми творожистыми налетами с преимущественной локализацией на языке, внутренней поверхности щек, мягкого неба, в углах рта - микотические «заеды». При совместном осмотре с оториноларингологом диагностированы следующие формы орофарингеального кандидоза: псевдомембранозная (12 чел.), острая атрофическая (4 чел.), хроническая гиперпластическая (2 чел.). Сочетание псевдомембранозной формы и ангулярного хейлита выявлено у 15 пациентов, острой атрофической формы и ангулярного хейлита – у 1 пациента. В 2-х случаях

наблюдалось сочетание 3-х форм орофарингеального кандидоза: псевдомембранозной, острой атрофической и ангулярного хейлита.

У всех пациентов выявлены дефекты слизистой оболочки полости рта и глотки в виде эрозивно-язвенных поражений различного генеза (герпетического, энтеровирусного). Кроме этого, наблюдался множественный глубокий кариес с грубыми деформациями коронок зубов.

У 37 пациентов (80,4%) на коже стоп выражен гиперкератоз, трещины в межпальцевых промежутках, ногти утолщены, с неровными ногтевыми пластинками.

При обследовании сердечно-сосудистой системы у всех больных отмечались глухость сердечных тонов и нестабильность АД (от 50/30 до 140/80 мм рт ст). У 38 пациентов (82,6%) наблюдалась тахикардия с ЧСС 90-104 в мин. В 11 случаях выслушивался систолический шум на верхушке сердца.

При аускультации легких у 25 пациентов (54,3%) отмечались сухие и влажные хрипы, ослабление дыхания в очаге поражения. Одышка (ЧД 22-42 в мин.) имела место у 27 человек (58,6%). Четверо больных требовали респираторной поддержки (продленной ИВЛ).

У всех пациентов выявлено увеличение размеров печени, она пальпировалась от 2 до 11 см ниже края реберной дуги по правой срединноключичной линии, у 20 человек (43,4%) - спленомегалия.

Олигоанурия развилась у 22 обследованных (47,8%).

У одной трети больных (32,6%) наблюдались менингеальные симптомы (ригидность мышц тыла шеи, симптомы Кернига, Брудзинского). Очаговая симптоматика (недостаточность 7 пары черепных нервов, нистагм) была слабо выражена и отмечалась лишь в 3 случаях (6,5%).

Количество CD4⁺ Т-лимфоцитов в крови варьировало от 8 до 530 клеток/мкл (медиана 110 кл/мкл). Вирусная нагрузка составляла от 16 165 до 7 797561 копий РНК ВИЧ в 1 мл крови.

В гемограмме у подавляющего большинства больных обнаружена гипохромная анемия, сдвиг лейкоцитарной формулы влево и высокая СОЭ.

Лимфопения с абсолютными показателями лимфоцитов от $0,15$ до $1,19 \times 10^9/\text{л}$ (медиана $1,05 \times 10^9/\text{л}$) отмечалась больше, чем у половины обследованных (52,1%). Лейкоцитоз ($9,0 - 38,2 \times 10^9/\text{л}$) наблюдался у 19 (41,3%) пациентов, лейкопения ($1,3 - 3,9 \times 10^9/\text{л}$) – у 10 (21,7%). Тромбоцитопения с показателями менее $180 \times 10^9/\text{л}$ зафиксирована у 16 наблюдаемых (34,7%).

В общем анализе мочи у всех больных имела место протеинурия (до 6,8 г/л), у одной трети - лейкоцитурия и эритроцитурия.

При исследовании биохимического анализа крови у 13 (28,2%) пациентов выявлено повышение уровня билирубина (22-139 мкмоль/л), у 24 (52,1%) - мочевины (8,5-41,6 ммоль/л) и креатинина (до 0,66). У большинства больных (29 чел.- 63,0%) наблюдался синдром цитолиза (показатели трансаминаз от 49 до 1030 ед.), у 7 человек - гипергликемия (6,3-20,9 ммоль/л).

С диагностической целью 20 пациентам была проведена спинальная пункция. Менингит установлен у 6 больных. Выявлено повышение давления СМЖ, ликвор прозрачный, плеоцитоз от 10 до 278 клеток/мкл (в среднем 141), смешанный. Белок в среднем составлял 1149 мг/л, глюкоза -2,3 ммоль/л.

Рентгенография легких выполнена 39 больным, пневмония выявлена у 24 (52,1%), причем в 8 случаях - 2-х сторонняя. Кроме этого, диагностирован абсцесс легкого, пневмоторакс, гидроторакс и осумкованный плеврит.

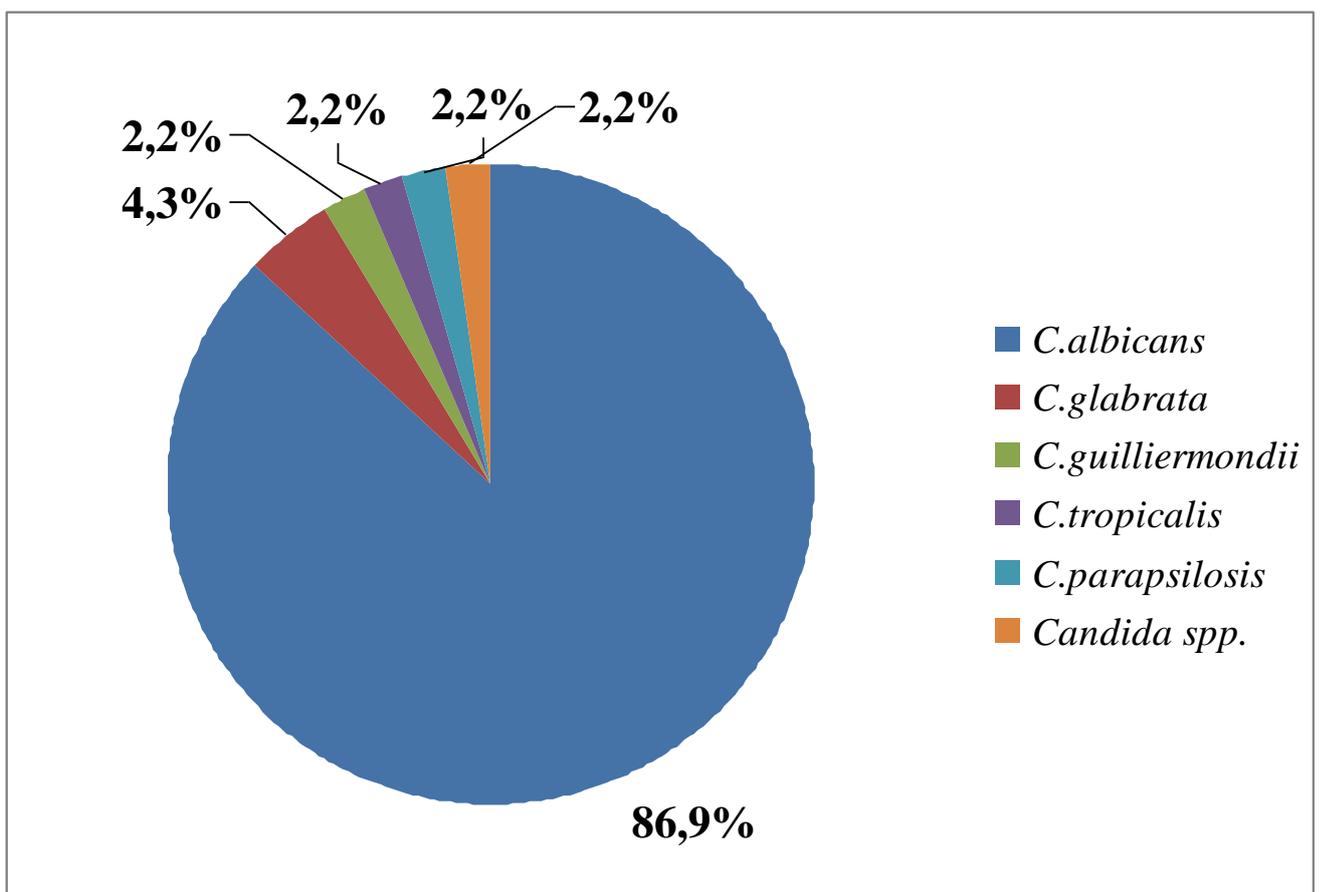
Изменения на ЭКГ наблюдались у 27 (58,6%) пациентов в виде снижения вольтажа зубцов и нарушения внутрижелудочковой проводимости.

У 38 больных (82,6%) при микологическом исследовании отделяемого ротоглотки и верхних дыхательных путей выделены грибы рода *Candida spp.*, из них *C. albicans* у 20 человек (52,6%), *C. glabrata* – у 2 (5,2%), *C. tropicalis* – у 2 (5,2%), сочетание *C. albicans* + *C. glabrata/C. tropicalis/C. lusitaniae/C. crusei* - у 9 пациентов, в 5 случаях *Candida spp.* не идентифицированы. В 20 случаях (43,4%) *C. albicans* обнаруживались в посевах мочи.

Для подтверждения диагноза ИК материалом исследования являлась кровь, СМЖ, а также образцы трупного материала умерших пациентов. С целью выделения культуры и идентификации возбудителя проводилось микологическое

исследование. Выявление грибов рода *Candida spp.* из крови имело место у 28 человек, из СМЖ – у 2-х. Высеив грибов рода *Candida spp.* из трупного материала получен в 19 случаях, в т.ч. из легких - 9, головного мозга – 3, клапанов сердца и миокарда – 3, селезенки – 2, ткани средостения и забрюшинных лимфатических узлов – по 1 случаю.

Выяснено, что возбудителями ИК у подавляющего числа ВИЧ-инфицированных больных были микромицеты *C. albicans* (40 человек – $86,9 \pm 4,97\%$). Значительно реже причиной ИК являлись кандиды других видов: *C. glabrata* (2 чел. – $4,4 \pm 3,02\%$), *C.gullermondii*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* (по 1 случаю). Сочетание микромицетов *C.albicans* + *C.lusitania* и *C.albicans* + *C.tropicalis* вызвало заболевание у 2-х пациентов. В одном случае идентификация



грибов не проведена (рисунок 29).

Рисунок 29 - Этиология ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов

При исследовании клинического и секционного материала от пациентов в 21 случае ($45,6 \pm 7,34\%$) имело место сочетание грибов рода *Candida* и различных бактерий (*Esherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Corinobacterium spp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Acinetobacter*, *Ps.aeruginosae*).

Этиотропная антимикотическая терапия была назначена 17 пациентам в стационаре. Из них 10 получали флюконазол (6,0 мг/сутки в/в), трое – каспофунгин (70 мг/сутки в 1-й день, затем по 50 мг/сутки в/в), трое - амфотерицин В (0,6 мг/кг/сутки в/в) с последующим переходом на флюконазолом (400 мг/сутки), одному пациенту был назначен позконазол (200 мг/сутки). Антибиотики широкого спектра действия получали все пациенты.

Исходы заболевания были различны. В 25 случаях удалось добиться положительной динамики. Пациенты, получавшие АРТ и антимикотическую терапию, находились в их числе.

Приводим краткую выписку из медицинской карты стационарного больного (№6061) (рисунок 30).

Пациентка Щ-на Т.Г. 38 лет поступила в специализированное отделение краевой инфекционной больницы 11 мая 2013 г. на 3-й день болезни с жалобами на лихорадку, головную боль, кашель. Заболевание началось остро с повышения температуры тела до 38,0, головной боли, покашливания. Вызывала бригаду скорой медицинской помощи, но от госпитализации отказалась. В последующие дни лихорадка сохранялась, усилились головная боль, головокружение, кашель. Самостоятельно пришла в приемное отделение.

Из эпидемиологического анамнеза выяснено, что пациентка страдала алкогольной и наркотической зависимостью, много лет употребляла наркотики внутривенно, не работала. Диагноз ВИЧ-инфекции установлен в 2001 г., заражение произошло парентеральным путем. У инфекциониста не наблюдалась, АРТ не получала.

При объективном обследовании: состояние средней тяжести, температура тела 38,0 гр. Пациентка пониженного питания, бледная, на лице проявления

себорейного дерматита. В зеве гиперемия слизистой оболочки ротоглотки, обилие белых творожистых налетов на небе, щечных поверхностях и языке. Все группы лимфатических узлов увеличены до 1,0-2,0 см, плотно-эластичные, подвижные, безболезненные. Тоны сердца приглушены, ритмичные, АД 180/120 мм РТ ст, пульс 96 в мин, удовлетворительных свойств. В легких справа в нижних отделах выслушивается некоторое ослабление дыхания, слева в прикорневой области - жесткое, единичные сухие хрипы. ЧД 22 в мин. Живот при пальпации безболезненный, печень +3 см ниже края реберной дуги по правой срединно-ключичной линии, селезенка не пальпируется. Стул и диурез без особенностей. Менингеальные симптомы слабо выражены. Очаговых симптомов не выявлено.

Общий анализ крови 13.05.13: эритроциты $4,0 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин 124 г/л, лейкоциты $3,8 \times 10^9$ /л, э - 10%, п/я - 9%, с/я - 52%, л - 22%, м 7%, СОЭ 57 мм/ч, тромбоциты 110×10^9 /л. Общий анализ мочи 15.05.13: удельный вес 1019, белок 0,33 г/л, лейкоциты 16-20, эпителий 2-3 в п/зр, эритроциты 2-3 в п/зр. Биохимический анализ крови 13.05.13: билирубин 18,0 ммоль/л, АСТ 42 ед., АЛТ 16 ед., глюкоза 5,1 ммоль/л, креатинин 116, мочевины 10,6 ммоль/л. СМЖ от 14.05.13: ликвор прозрачный, вытекает частыми каплями, цитоз 4 клетки в мм^3 , белок 330 мг/л. Посев ликвора стерилен. В крови от 21.05.13 количество CD4^+ Т-лимфоцитов - 310 клеток/мкл.

При посеве крови на стерильность от 13.05.13 получен рост *C.parapsilosis*, имеющую чувствительность к амфотерицину В и резистентную к флюконазолу. При микологическом исследовании отделяемого зева обнаружена *C. albicans*, чувствительная к амфотерицину В и азолам.

Рентгенография легких 15.05.13 и 30.05.13 выявила диффузный пневмосклероз, усиление легочного рисунка. Инфильтративных изменений не обнаружено. 6.06.13 выполнена МРТ головного мозга - признаки демиелинизирующего процесса, мультифокальной лейкоэнцефалопатии.

На основании клинико-лабораторных данных был установлен диагноз: ВИЧ-инфекция 4В стадия, фаза прогрессирования без АРТ. Грибковый сепсис, вызванный *C.parapsilosis*, средней тяжести. Мультифокальная

лейкоэнцефалопатия. Хронический гепатит смешанной этиологии (вирусный С + токсический). Орофарингеальный кандидоз.

Пациентке в качестве этиотропного лечения 21.05.13 назначен каспофунгин в дозе 70 мг/сутки в/в, с 22.05.13 – 50 мг/сутки 14 дней, а также инфузионная, патогенетическая и симптоматическая терапия. На фоне лечения наблюдалась положительная динамика, нормализация температуры тела с 13 дня нахождения в стационаре. Контрольный посев крови 30.05.13 двукратно - стерилен. Выписана в удовлетворительном состоянии 11.06.13 (31 койко/день), сохранялся астенический синдром.

Пациентка Щ., 38 лет

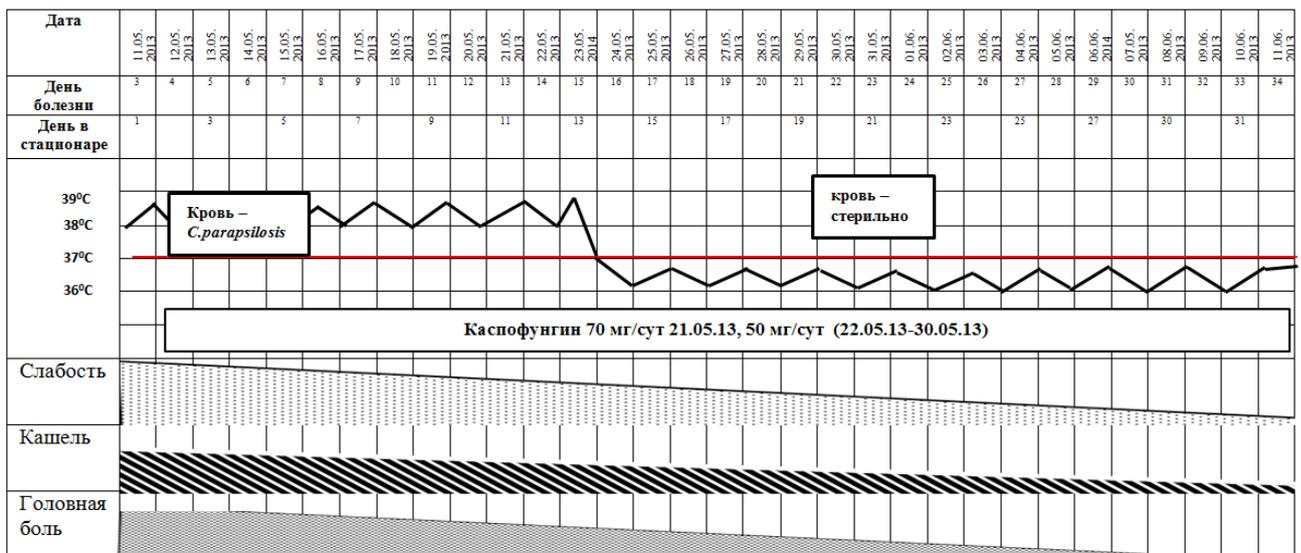


Рисунок 30 – Клинический пример терапии пациентки Щ., 38 лет

Несмотря на проводимое лечение, у 21 пациента (45,6%) заболевание закончилось летальным исходом в результате септического шока, полиорганной недостаточности и проявлений ДВС-синдрома. Смерть наступила в сроки от 1 до 72 дней лечения (в среднем через 11,2 дня).

Приводим клинический пример (рисунок 31).

Пациентка П-на К.С. 31 года (медицинская карта стационарного больного №13049) находилась в краевой инфекционной клинической больнице с 10.11.12

по 21.11.12 г. Поступила на 5-й день болезни с жалобами на кашель, одышку, нарастающую слабость. Заболевание началось остро - появилась лихорадка до 39,0, кашель сухой, затем с мокротой, присоединились боли в правой половине грудной клетки при дыхании. Не лечилась, за медицинской помощью не обращалась. Резкое ухудшение самочувствия наступило 10.11.12, выросла одышка, бригадой скорой медицинской помощи госпитализирована в ОРИТ ПККИБ.

Из эпидемиологического анамнеза: ВИЧ-инфекция с 2001 г., заражение произошло парентеральным путем при внутривенном введении наркотических средств. Страдала зависимостью от алкоголя и наркотиков, не работала. В КЦ СПИД не наблюдалась, АРТ не получала.

Объективно: состояние тяжелое, температура 41,0. Сознание отсутствует, кома. Пациентка истощена, кожа бледная, в паховых областях следы от внутривенных инъекций наркотических препаратов, стойкий цианоз ногтей и носогубного треугольника. Увеличены периферические лимфатические узлы всех групп до 1 см, плотные, безболезненные. В легких дыхание ослаблено, масса влажных хрипов с обеих сторон. ЧД 18 в мин. (ИВЛ). Тоны сердца глухие, ритмичные, систолический шум в точке Боткина. АД 140/90 мм рт ст. Пульс 122 в мин., слабого наполнения. Печень пальпируется на 8 см ниже края реберной дуги по правой срединно-ключичной линии, плотно-эластичная. Селезенка пальпаторно выступает на 2 см из-под левого подреберья. Менингеальных знаков нет. Моча темно-желтая, стул задержан.

Проведено лабораторное обследование. Общий анализ крови при поступлении: эритроциты $3,88 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин 121 г/л, лейкоциты $1,3 \times 10^9$ /л, п/я 20%, с/я 40%, л 26%, м 13%, СОЭ 39 мм/ч, тромбоциты $97,0 \times 10^9$ /л. Общий анализ мочи: удельный вес 1012, белок 2,31 г/л, лейкоциты 2-4, эритроциты 3-5 в п/зр, бактерии ++. В биохимическом анализе крови 10.11.12: билирубин 12 ммоль/л, АСТ 70 ед., АЛТ 72 ед., креатинин 154, мочевины 14,8 ммоль/л, сахар 6,5 ммоль/л.

Количество CD4⁺ Т лимфоцитов 34 кл/мкл. Вирусная нагрузка 81273 копий РНК вируса в 1 мл крови.

Рентгенография легких 12.11.12 – инфильтрация в нижних отделах легких с обеих сторон (двусторонняя пневмония).

При посеве крови на стерильность получен рост *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, с промежуточной чувствительностью к флюконазолу.

В посеве отделяемого ротоглотки выделена *C.glabrata* 10⁷ и *C.albicans* 10⁴, чувствительные к нистатину, резистентные к флюконазолу и амфотерицину В.

Диагноз: ВИЧ-инфекция 4В стадия, фаза прогрессирования без АРТ, сепсис тяжелый смешанной этиологии (грибково-бактериальный). СПОН. Хронический гепатит С, зависимость от ПАВ. Орофарингеальный кандидоз.

Назначены антибактериальные препараты, флюконазол 200 мг/сутки внутривенно в сочетании с нистатином (2 г) внутрь через зонд, инфузионная, патогенетическая и симптоматическая терапия.

На фоне лечения состояние оставалось тяжелым, сохранялась лихорадка до 40,0 гр. ежедневно, на 6 сутки развилась глубокая кома, нестабильность гемодинамики, снижение диуреза.

Общий анализ крови 20.11.12: эритроциты 2,3x10¹² /л, гемоглобин 79 г/л, лейкоциты 25,1x10⁹ /л, п/я 23%, с/я 75%, л 1%, м 1%, СОЭ 79 мм/ч, тромбоциты 20,0 x10⁹ /л. В биохимическом анализе крови 20.11.12 мочевины 34,6 ммоль/л, креатинин 602, прокальцитонин 48,5 нг/л.

Рентгенография легких 15.11.12 и 20.11.12 – отрицательная динамика: в правом легком формирование полости деструкции (гангрена).

На 9 сутки лечения – анурия, гипотермия, гипотония. 21.11.12 остановка кровообращения, смерть больной (11 койко/дней).

Патологоанатомическое заключение: ВИЧ-инфекция 4 В стадия, прогрессирование в отсутствие АРТ. Септикопиемия. 2-х сторонняя гнойная пневмония, гангрена правого легкого. Гнойный пиелонефрит. ДВС. Асцит, отек легких и мозга. Хронический гепатит С, энцефалопатия, опийная наркомания.

Пациентка П., 31 год

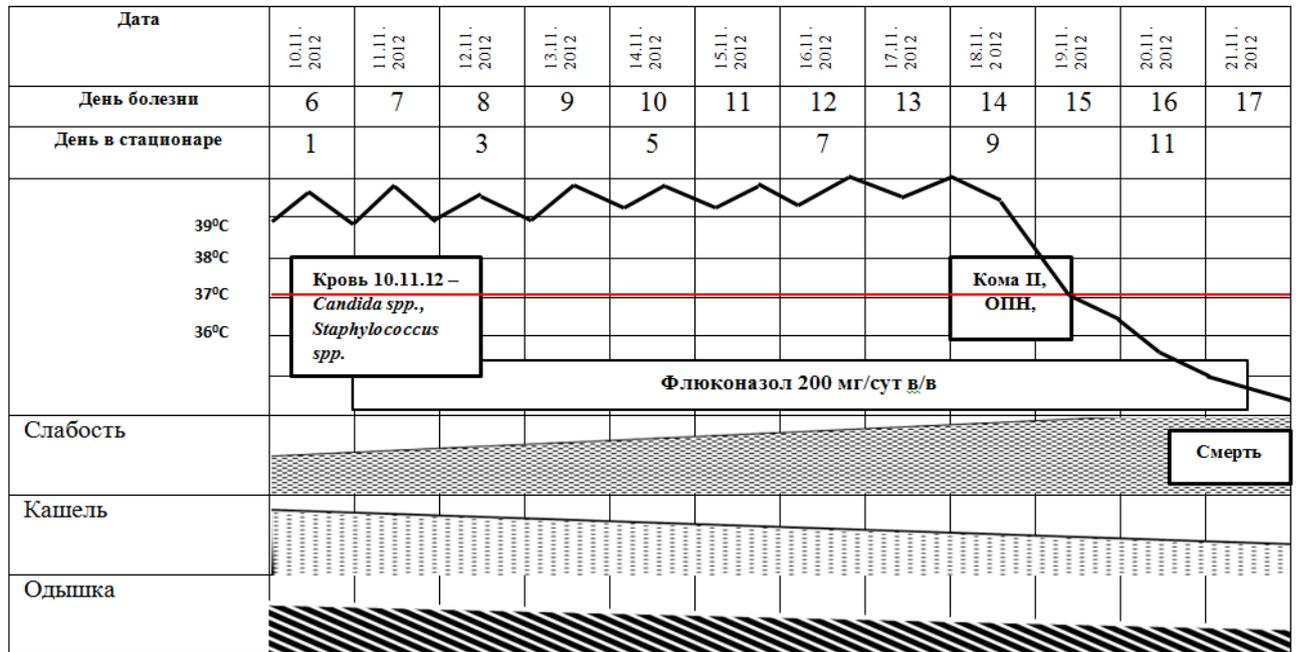


Рисунок 31 – Клинический пример терапии пациентки П., 31 год

У 8 больных, поступивших в крайне тяжелом состоянии с признаками инфекционно-токсического шока, летальный исход наступил в первые сутки пребывания в стационаре.

Таким образом, клиническая картина системного кандидоза сходна с таковой при сепсисе другой этиологии. Характерными признаками являются лихорадка, поражение внутренних органов с развитием полиорганной недостаточности, ДВС-синдрома и септического шока. Это вызывает трудности в диагностике и адекватной терапии заболевания. Усложняет задачу и то, что почти у половины ВИЧ-инфицированных пациентов ($45,6 \pm 7,34\%$) причиной заболевания являлась ассоциация грибов и бактерий.

Анализ результатов нашего исследования в сравнении с литературными данными позволил выявить особенности течения ИК у ВИЧ-инфицированных больных [3,36,57,93,107,125,132,139].

Заболевание протекало в виде острого генерализованного процесса с тяжелым течением и высокой летальностью ($45,6 \pm 7,34\%$). Инфекционно-токсический шок развился у 1/5 части пациентов ($19,5 \pm 5,84\%$).

Основным клиническим вариантом течения ИК являлась кандидемия ($67,4 \pm 6,90\%$). ОДК зарегистрирован у $32,6 \pm 6,91\%$ наблюдаемых (таблица 8).

Таблица 8 - Сравнительная характеристика течения ИК у ВИЧ-инфицированных и неинфицированных ВИЧ

Формы ИК	ВИЧ+	ВИЧ-
Кандидемия	67,4%	} 70-85%
ОДК	32,6%	
ХДК	-	7-10%

Из данных, представленных в таблице 9, следует, что наиболее частыми проявлениями ОДК у ВИЧ-инфицированных пациентов было поражение легких (у четвертой части больных) и эндокардит – у 6,5% (в одном случае в сочетании с миокардитом), хотя для лиц, неинфицированных ВИЧ они не характерны. Напротив, поражение центральной нервной системы у ВИЧ-негативных пациентов встречалось в 2 раза чаще, чем у ВИЧ-инфицированных.

В исследованиях многих авторов показано, что наиболее часто у пациентов без ВИЧ-инфекции при ИК наблюдается поражение почек, так как *Candida spp.* обладают высокой степенью тропности к ним [3,57,107,126,226]. У обследованных нами больных на фоне ВИЧ-инфекции ни в одном случае не наблюдалось специфического поражения почек. Аналогичные результаты получены и в отношении кандидоза органов зрения, кожи, подкожной клетчатки, остеомиелита и артрита. У наблюдаемых нами ВИЧ-инфицированных пациентов такие формы ОДК не встречались.

Хронический гепато-лиенальный кандидоз у ВИЧ-инфицированных больных также не выявлялся.

Таблица 9 - Сравнительная характеристика течения ОДК у ВИЧ-инфицированных и неинфицированных ВИЧ

Признаки	ВИЧ+	ВИЧ-*
<i>Формы ОДК</i>		
Кандидоз почек	-	Часто
Кандидоз легких	20,0±5,89%	Редко
Кандидоз органов зрения	-	10-37%
Эндокардит	6,5±3,63%	1%
Поражение ЦНС	6,5±3,63%	10-14%
Артрит, остеомиелит	-	5-15%
Кандидоз кожи	-	10%

* - по литературным данным

По литературным данным основным клиническим симптомом ИК является высокая лихорадка с ознобами, рефрактерная к антибактериальной терапии, наблюдающаяся у 98% больных [36,57,107,132]. Обращает на себя внимание, что у наблюдаемых нами ВИЧ-инфицированных лихорадка выше 38,0⁰ отмечалась лишь у половины пациентов, в остальных случаях зафиксирована субфебрильная, нормальная или пониженная температура тела (таблица 10).

В подавляющем большинстве случаев (86,9±4,97%) возбудителем ИК на фоне ВИЧ-инфекции были микромицеты *C. albicans*, хотя по литературным данным у больных без ВИЧ-инфекции они являются причиной заболевания в 15-60% случаев. При исследовании гемограммы у ВИЧ-инфицированных пациентов реже наблюдается лейкоцитоз, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции (количество лейкоцитов более 9,0x10⁹ - у 41,3±7,25% против 72% соответственно), но чаще – нейтропения (количество нейтрофилов менее 1500/мкл – у 8,7±4,15% против 5% соответственно). При этом в обеих группах зафиксирована тромбоцитопения (менее 150 x10⁹).

Таблица 10 - Клинические проявления ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов и пациентов без ВИЧ

Симптомы	ВИЧ+	ВИЧ-*
Лихорадка > 38°C	50,0±7,34%	90-98%
Гипотермия	8,6±4,13%	-
Возбудитель <i>C.albicans</i>	86,9±4,97%	15-60%
Поражение легких с ОДН	58,6±7,26%	21%
ИТШ	19,5±5,84%	19%
Летальность	45,6±7,34%	30-60%
ОПН	47,8±7,36%	56%
Тяжесть состояния	50,0±7,37%	63%
ДВС-синдром	43,5±7,30%	11%
Гепатомегалия	100%	Нет данных
Спленомегалия	43,4±7,30%	Нет данных
Полилимфоаденопатия	100%	Нет данных
Менингеальные симптомы	32,6±6,91%	Нет данных

* - по литературным данным

Заболевание развивалось на фоне выраженного иммунодефицита, количество CD4⁺ Т-лимфоцитов было меньше 200 клеток/мкл. Кроме того, обращает на себя внимание колонизация грибами рода *Candida spp.* кожи и слизистых оболочек и наличие очагов поверхностного кандидоза у наблюдаемых больных (орофарингеальный кандидоз - у 38, онихомикоз у 37 пациентов, кандидоз мочевыводящих путей – у 20).

Таким образом, при ИК могут поражаться практически все органы и ткани организма, однако у ВИЧ-инфицированных пациентов в патологический процесс вовлекались преимущественно легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система, причем в половине случаев высокая лихорадка отсутствовала.

4.3. Патоморфологические изменения при инвазивном кандидозе

Изучался секционный материал 21 ВИЧ-инфицированного пациента, с летальным исходом после инвазивного кандидоза. В 18 случаях диагноз установлен посмертно (выделение культуры кандид из трупного материала – стерильных локусов или глубоких тканей).

При анализе секционного материала установлено, что у большинства умерших пациентов (13 чел. – 72,2±4,979,47%) был получен рост смешанной грибково-бактериальной флоры - *Candida spp.* в сочетании с *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Acinetobacter*, *Ps.aeruginosae*. У 6 (28,5±9,85%) умерших от ИК на аутопсии выявлен генерализованный туберкулез. В 3-х случаях (14,2±7,61%) отмечалось сочетание ИК, бактериального сепсиса и генерализованного туберкулеза. У одного пациента при бактериологическом исследовании ткани головного мозга обнаружен рост бактерий (*St.aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumonia*) и грибов *C. albicans*, а при гистологическом и бактериоскопическом исследованиях – микобактерии туберкулеза и криптококки. В 3-х случаях при микологическом исследовании крови прижизненно наблюдался изолированный рост микромицетов *C. albicans*.

В головном мозге макроскопически выявлялись признаки острого менингоэнцефалита. Твердая мозговая оболочка напряжена, в синусах ее жидкая кровь. Извилины полушарий сглажены, борозды сужены. Мягкие мозговые оболочки полнокровные.

При гистологическом исследовании обнаружена воспалительная инфильтрация (рисунок 32), очаговый фиброз лептоменинкса, периваскулярные кровоизлияния на фоне полнокровия и отека мягкой мозговой оболочки (рисунок 33). В ткани мозга периваскулярный и перицеллюлярный отек, очаги энцефалолизиса и продуктивно-некротического воспаления, единичные макрофаги - клетки «зернистых шаров», в сосудах - плазматическое

пропитывание стенок, лейкостазы (рисунок 34). Выражены дистрофические изменения нейрональных клеток, набухание отростков.

В случаях сочетания кандидозного и туберкулезного поражения головного мозга в мягкой мозговой оболочке - фиброз, полнокровие, картина экссудативно-пролиферативного менингита (рисунок 35) с казеозным некрозом и распространением воспалительного инфильтрата в ткань коры головного мозга, плазморрагия (рисунок 36). В субэпендимной зоне боковых желудочков мозга, в подкорковых узлах полушарий обнаруживалась слабая диффузная пролиферация макроглии, многочисленные сосудистые конволюты, в периваскулярных пространствах очаговый энцефалолизис. Перивентрикулярно в подкорковых узлах по ходу сосудов встречались воспалительные мононуклеарные инфильтраты (рисунок 37).

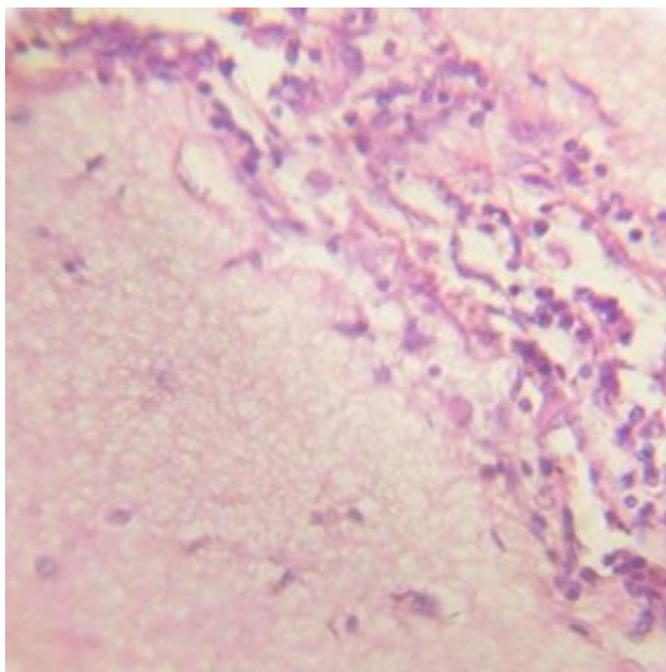


Рисунок 32 - Воспалительная инфильтрация мягкой мозговой оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. х 200

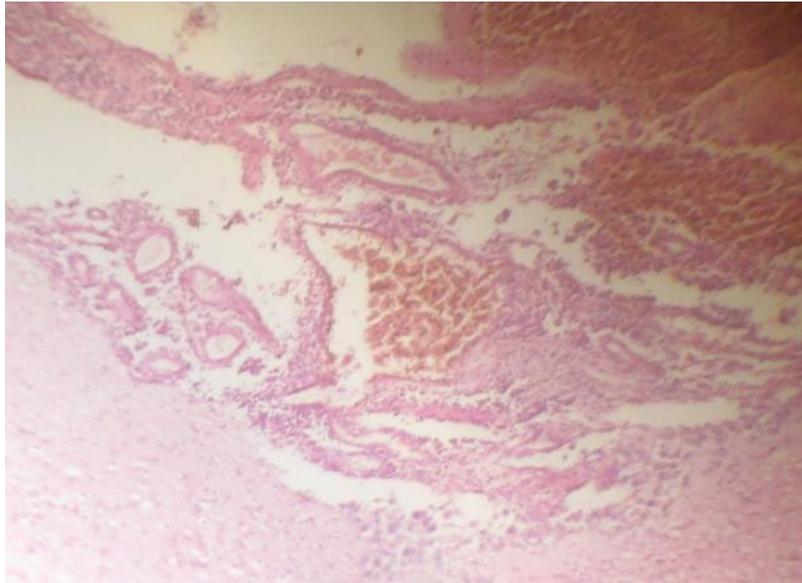


Рисунок 33 - Полнокровие мягкой мозговой оболочки, умеренный фиброз и мононуклеарная воспалительная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. x 80

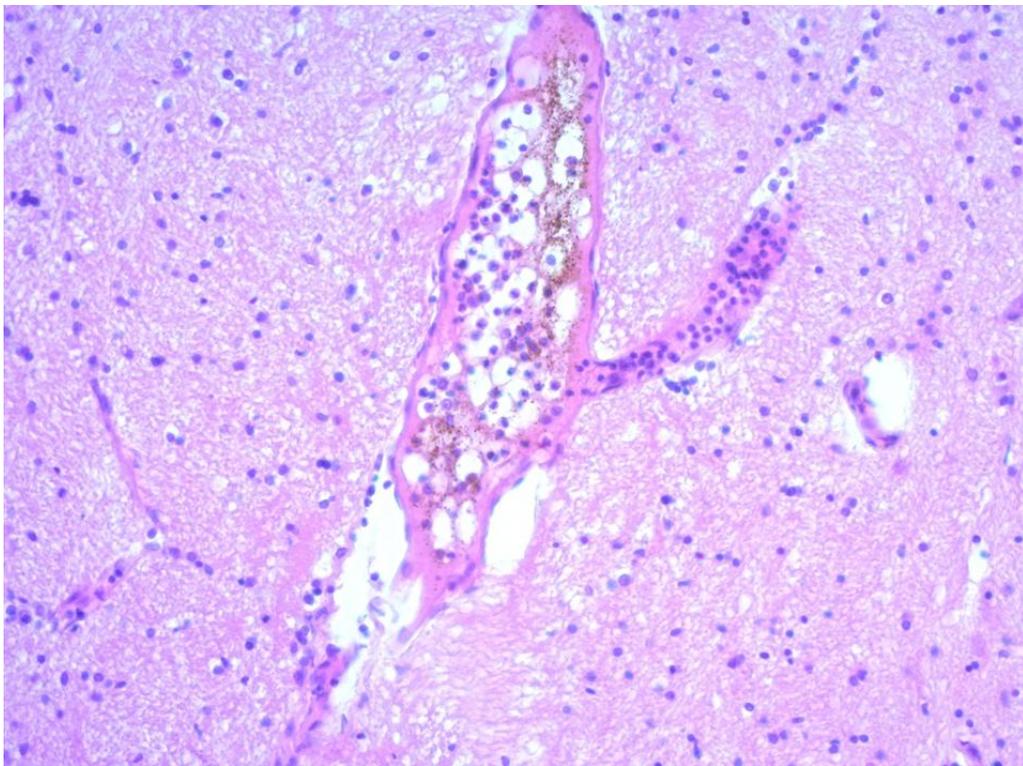


Рисунок 34 - Головной мозг. Плазматическое пропитывание стенки сосуда. Лейкостаз. Окраска гематоксилином и эозином. x 400

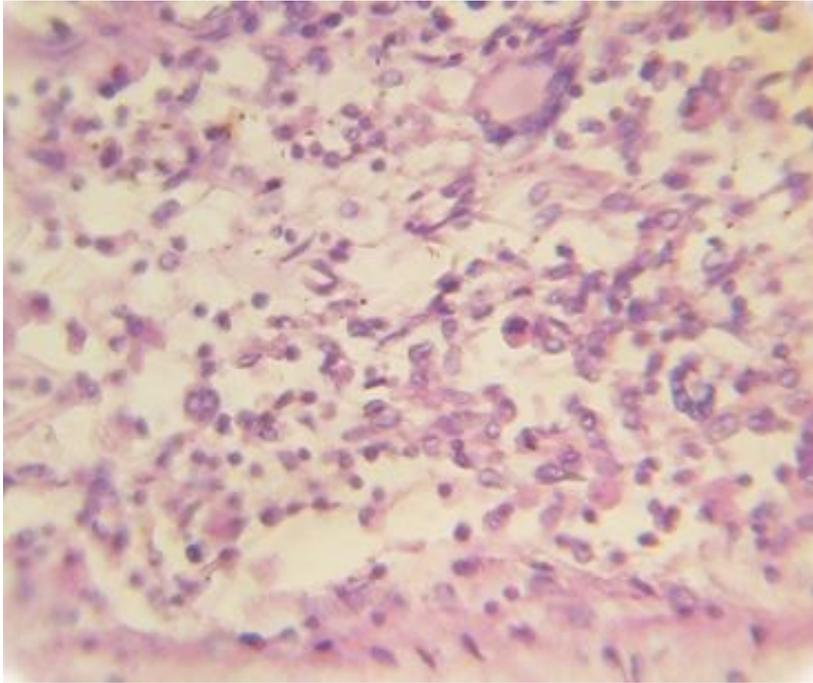


Рисунок 35 - Диффузный продуктивный лептоменингит. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

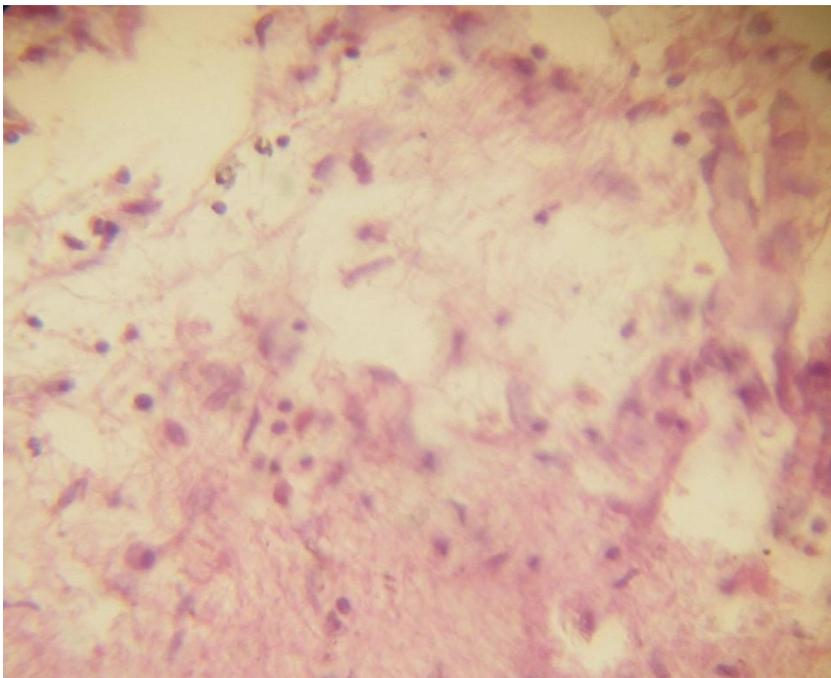


Рисунок 36 - Менингоэнцефалит. Фиброз мягкой мозговой оболочки, инфильтрация лимфоидными клетками молекулярного слоя коры головного мозга. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

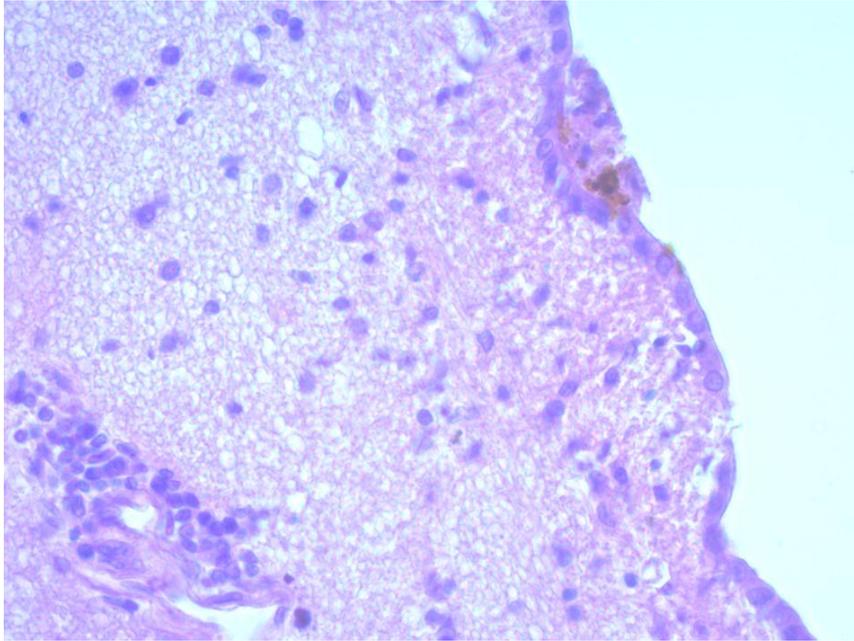


Рисунок 37 - Энцефалит. Воспалительный мононуклеарный инфильтрат по ходу капилляров. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

В глубине борозд в мягкой мозговой оболочке стаз крови с гемолизом эритроцитов, в сосудах тромбы. В базальных отделах полушарий в участках, прилегающих к мягкой мозговой оболочке в наружном зернистом слое - обилие миелиновых шаров (рисунок 38).

При поражении легких стенки бронхов и бронхиол утолщены, полнокровны (рисунок 39) в просветах некротические массы, лейкоциты, макрофаги, слущенные пласты призматического эпителия. Наблюдалась картина дольковой пневмонии. В отдельных случаях преобладал гнойный экссудат, при этом альвеолярные перегородки местами расплавлены с формированием мелких абсцессов. Среди некроза встречались структуры псевдомицелия грибов рода *Candida spp.*(рисунок 40).

В случаях сочетанного грибкового и туберкулезного поражения легких в фокусах инкапсулированного казеозного некроза и перифокально в ткани легкого в воспалительном инфильтрате, в стенках сосудов с картиной панваскулита обнаруживались кислотоустойчивые микобактерии при окраске по методу Циля-Нильсена. В очагах казеозного некроза кариорексис окружен зоной

воспалительного инфильтрата. В строме альвеолярных перегородок картина панваскулита, милиарные с творожистым некрозом либо субмилиарные без некроза гранулемы, состоящие из эпителиоидных и лимфоидных клеток с единичными клетками Пирогова-Лангганса.

В случаях инфекционного эндокардита с поражением клапанного аппарата (трикуспидального, аортального и митрального) сердца при бактериологическом исследовании получен рост смешанной бактериальной флоры (*Staphylococcus spp.*) в сочетании с *C. albicans*. Наблюдался фиброз створок клапанов и пристеночного эндокарда. Кардиомиоциты гипертрофированы, исчерченность их не выражена. В подклапанном миокарде массивная воспалительная инфильтрация лейкоцитами, фрагментированные волокна с явлениями миолиза (рисунок 41).

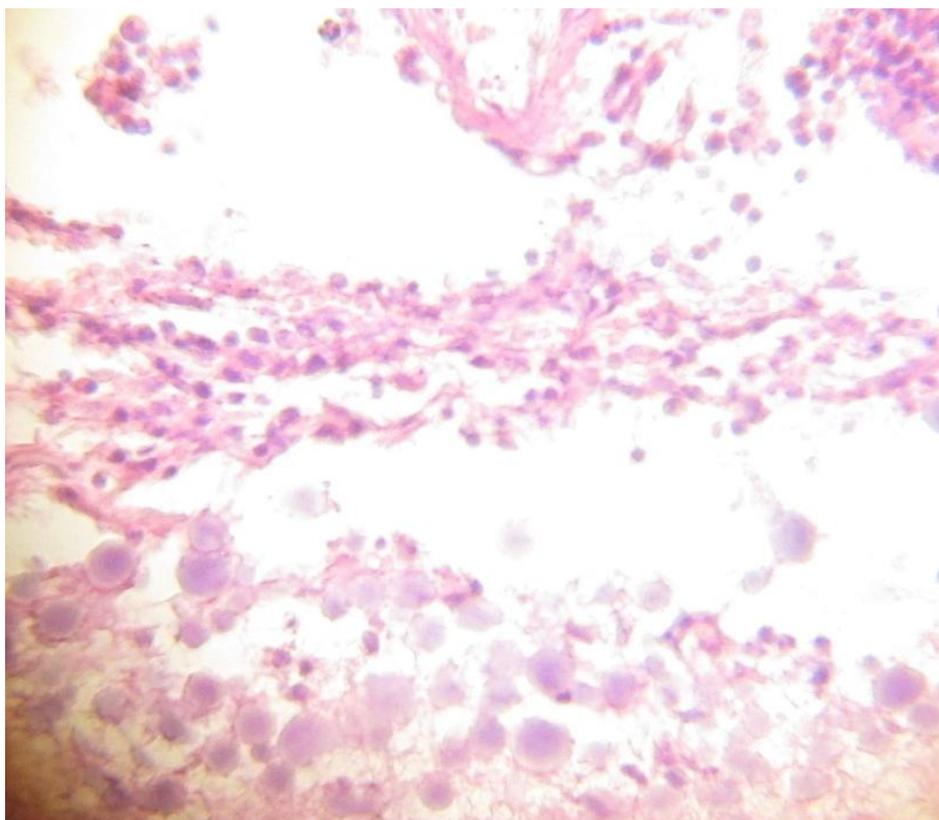


Рисунок 38 - Менингоэнцефалит. Миелиновые шары в ткани мозга. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

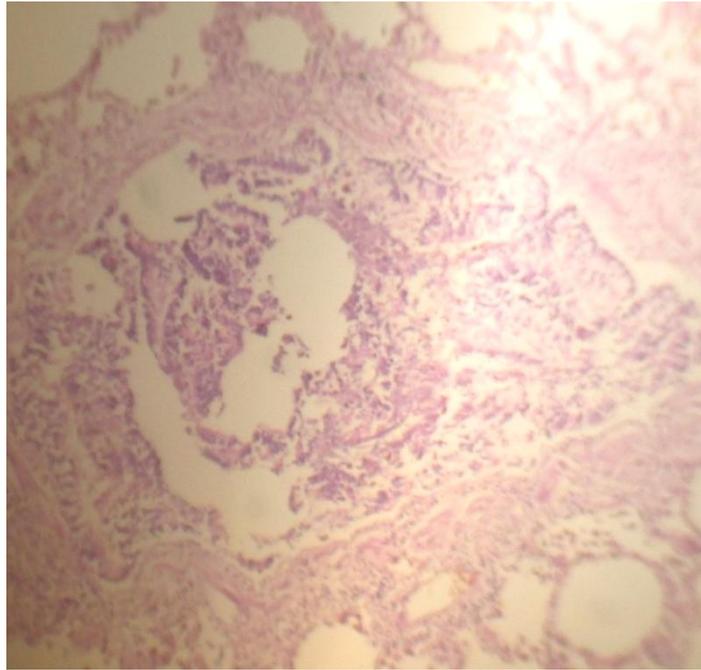


Рисунок 39 - Обострение хронического бронхиолита. Окраска гематоксилином и эозином. х 80

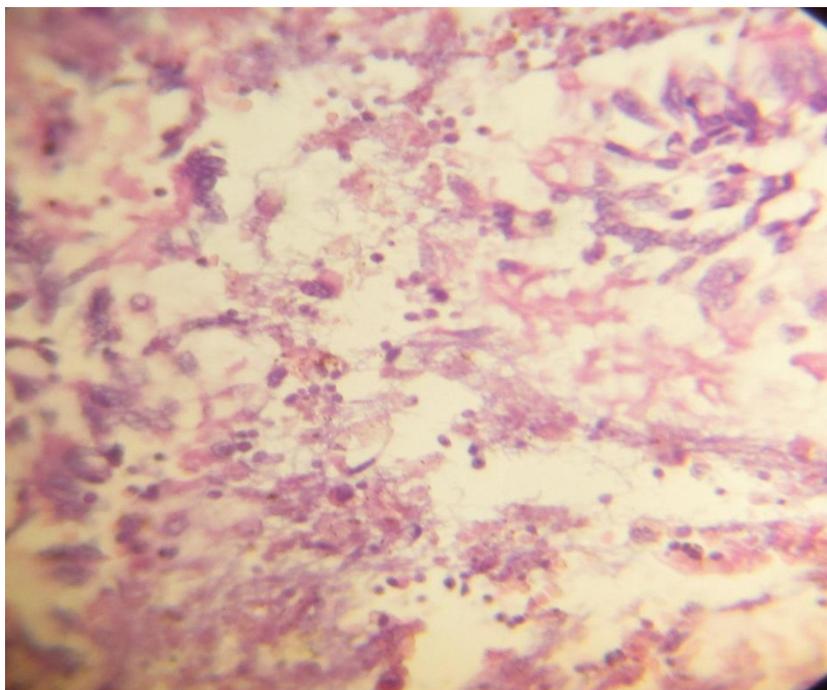


Рисунок 40 - Деструктивная пневмония. Гнойно-некротическое воспаление, распад нитчатых структур псевдомицелия *C. albicans*. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

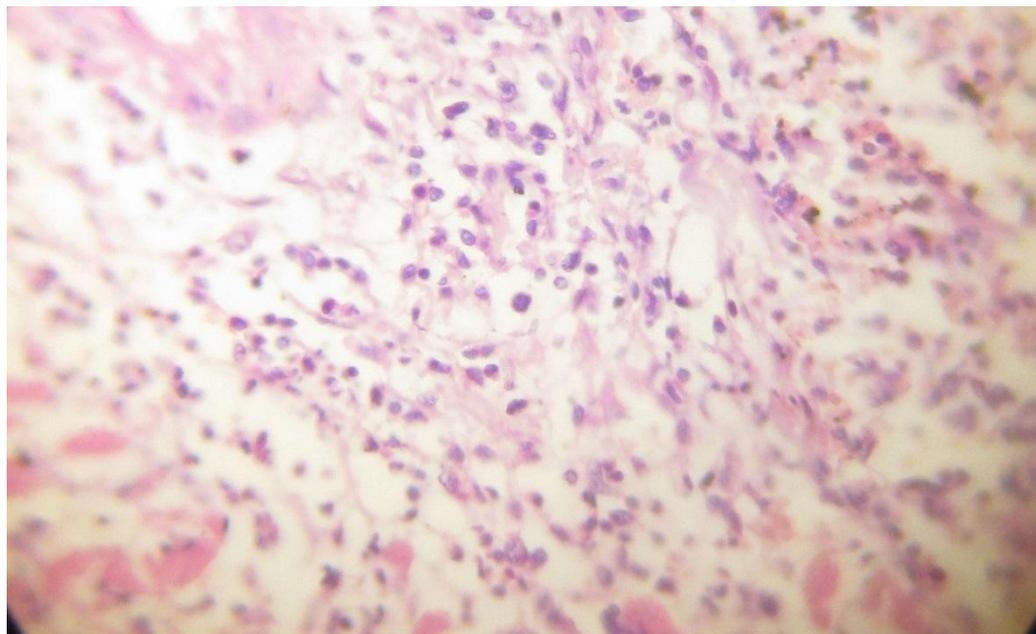


Рисунок 41 - В миокарде воспалительная инфильтрация, рост *C. albicans*.
Окраска гематоксилином и эозином. х 400

В прилежащих отделах миокарда в строме встречались абсцессы с нитчатым псевдомицелием грибов *Candida spp.* Отмечалась паренхиматозная зернистая вакуольная и жировая дистрофия кардиомиоцитов.

В почках наблюдалась паренхиматозная белковая зернистая и вакуольная дистрофия эпителия извитых канальцев 1 порядка. При сочетании генерализованного туберкулеза и кандидоза в клубочках фиброз стромы мезангия с инфильтрацией лейкоцитами, картина очагового гломерулосклероза. Отмечался фиброз стенок ветвей почечной артерии с перифокальным фиброзом стромы почки, гиалиноз мелких артериол. В коре, пирамидах и их сосочках, лоханке имелись крупные фокусы продуктивно-некротического воспаления. Нитчатые структуры грибов не выявлялись.

Селезенка во всех случаях дряблая. Капсула незначительно инфильтрирована лейкоцитами, лимфоидными клетками, сосуды и синусы полнокровны. Лимфоидная ткань выражена умеренно. В белой и красной пульпе

значительное количество плазматических клеток, в красной пульпе встречались миелобласты, эозинофилы, сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты, гемосидерофаги.

В печени белковая и жировая дистрофия гепатоцитов, монолобулярный цирроз в случаях злоупотребления алкоголем в анамнезе. При сочетании кандидоза и генерализованного туберкулеза в ткани мелкие очаги некрозов. Более крупные очаги продуктивно-некротического воспаления под капсулой с казеозным детритом в центре и зоной перифокальной клеточной инфильтрации.

В периферических лимфатических узлах (забрюшинных, парааортальных и др.) умеренная лимфоретикулярная гиперплазия. Рисунок строения лимфоидной ткани стерт, вплоть до ее истощения с отсутствием фолликулов. В бронхопульмональных лимфатических узлах лимфоретикулярная гиперплазия и плазматические клетки, в случае туберкулеза казеозный некроз и неширокая зона продуктивного воспаления.

В поджелудочной железе признаки хронического панкреатита, в одном случае наблюдался панкреатолитиаз, аутолиз.

В стенке пищевода (рисунок 42), желудка, 12-перстной (рисунок 43), тонкой и толстой кишок выявлялись острые эрозии, язвы. Дно их в пределах слизистого и подслизистого слоя, среди некротических масс выявлены фрагментированные цепочки дрожжевых грибов рода *Candida*.

Макроскопически небные миндалины были резко уменьшены в размерах. На их поверхности располагались плотные налеты в виде сероватых творожистых или пленчатых наложений.

При гистологическом исследовании биоптатов небных миндалин на поверхности и в очагах деструкции выявлены микромицеты рода *Candida spp.* как в дрожжевой, так и в нитчатой форме. Псевдомицелий грибов пенетрировал эпителий, распространялся на всю глубину слизистой оболочки, разрушал базальную мембрану и проникал в паренхиму (рисунок 44). Ответная клеточная реакция тканей была незначительной в виде минимальных воспалительных экссудативных изменений (рисунок 45).

В паренхиме миндалин отмечалось выраженное истощение лимфоидной ткани, проявлений гранулематозного воспаления не обнаружено. Отмечалась выраженная сосудисто-стромальная реакция в виде диффузной пролиферации стромальных клеток и ангиоматоза.

Таким образом, при микроскопии нити псевдомицелия *Candida spp.* обнаруживались в очагах некроза в легких, миокарде, головном мозге, небных миндалинах, дне эрозий и язв пищевода и кишечника в случаях сочетания генерализованного кандидоза и бактериального сепсиса. При туберкулезном поражении органов и тканей нити псевдомицелия выявить не удавалось.

Высев грибов рода *Candida spp.* из трупного материала получен в 19 случаях, в т.ч. из легких - 9, головного мозга – 3, клапанов сердца и миокарда – 3, селезенки – 2, ткани средостения и забрюшинных лимфатических узлов – по 1 случаю.

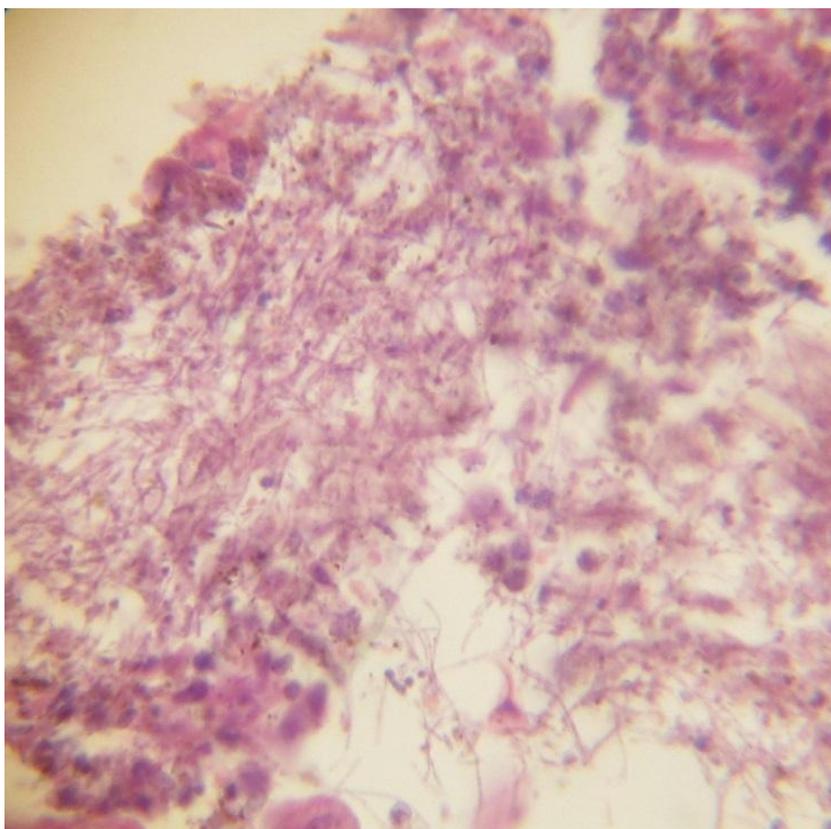


Рисунок 42 - Эрозивный кандидозный эзофагит. В некротических массах рост псевдомицелия грибов *C.albicans*. Окраска гематоксилином и эозином. х 400

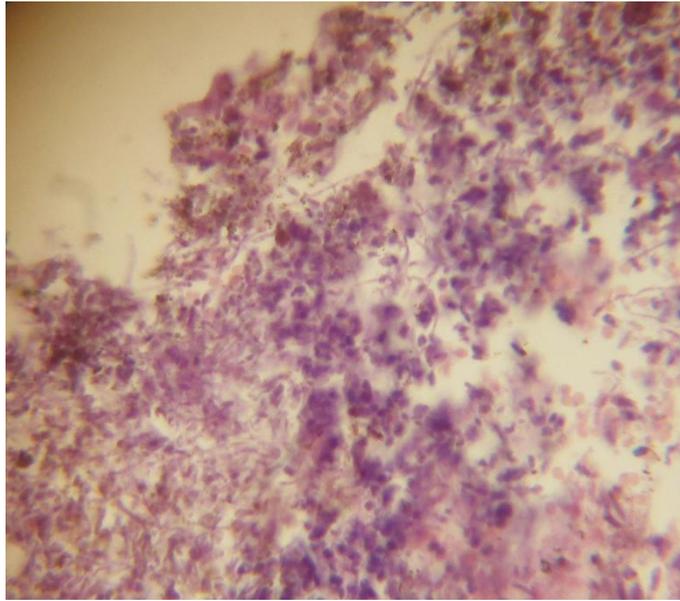


Рисунок 43 - Среди некроза в дне язвы 12-перстной кишки фрагменты цепочек псевдомицелия грибов *C. albicans*. Окраска гематоксилином и эозином. х 200

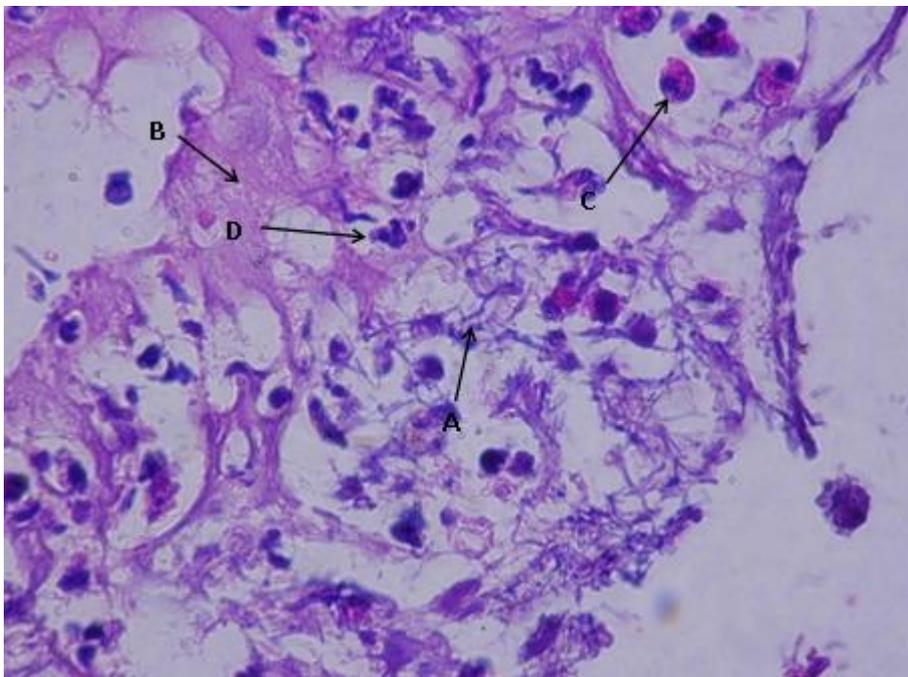


Рисунок 44 - Инвазия грибов *Candida spp.* (A). Некроз эпителия (B), инфильтрация макрофагами (C) и единичными нейтрофильными гранулоцитами (D). Окраска гематоксилином и эозином х 1000

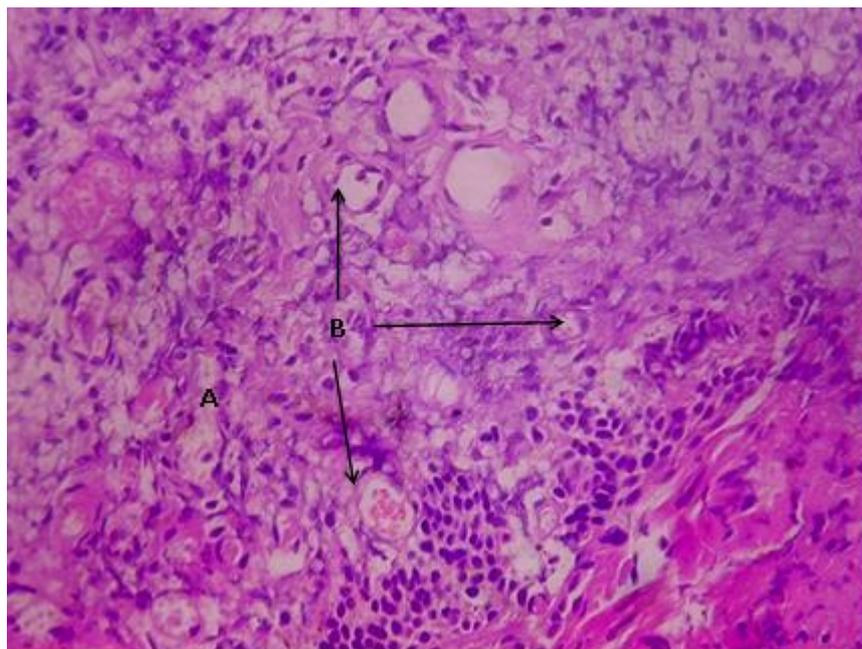


Рисунок 45 - Фиброз (А) и огрубение стромы миндалины, ангиоматоз (В).
Окраска гематоксилином и эозином х 400

Обращает на себя внимание тот факт, что при микроскопических и микологических исследованиях тканей печени и почек пациентов, умерших от инвазивного кандидоза, ни в одном случае не были обнаружены микромицеты рода *Candida spp.*

Причиной смерти умерших от инвазивного кандидоза стали септический шок, полиорганная недостаточность, отек головного мозга и проявления ДВС-синдрома.

Итак, патоморфологические изменения, наблюдаемые в тканях при ИК, разнообразны, что согласуется с литературными данными. По результатам исследований Хмельницкого О.К., Хмельницкой Н.М., они зависят от длительности патологического процесса с развитием экссудативной и далее продуктивной (гранулематозной) фаз. В экспериментальных моделях генерализованного кандидоза при внутривенном введении *C. albicans* лабораторным животным также выявлено, что ведущим морфологическим

признаком является возникновение кандидозных гнойно-продуктивных поражений органов без специфических признаков [126].

Результаты нашего исследования позволяют сделать вывод о том, что тканевые изменения при ИК неспецифичны и обусловлены не столько давностью заболевания и остротой процесса, сколько характером выявленной микрофлоры. Если ИК развивался у пациентов на фоне бактериальной инфекции, то патоморфологические изменения выражались преимущественно в виде альтеративного (экссудативно-некротического) воспаления с формированием гнойных очагов. В них среди некротических масс при гистологическом исследовании обнаруживались структуры нитчатого псевдомицелия микромицетов рода *Candida*, в дальнейшем это подтверждалось бактериологически. Очаги некроза в тканях, на наш взгляд, являются не проявлением «деятельности» микромицетов, а благоприятной средой для их размножения и развития.

В случаях сочетанного грибкового и туберкулезного поражения наблюдалось отграничение очагов с образованием казеозного некроза в центре и продуктивного воспаления вокруг с формированием гранулем и наличием гигантских клеток типа инородных тел и Пирогова-Лангганса. Микромицеты рода *Candida* в их цитоплазме не выявлены.

Итак, установлена распространенность ИК у ВИЧ-инфицированных больных. Она составила 3,5 на 1000 госпитализированных больных, причем за изучаемый период с 2007 по 2015 гг. отмечается ее рост (в 5 раз).

Заболевание развивается в основном у мужчин в возрасте 33 лет, не работающих, страдающих ХГС и зависимостью от ПАВ, не получающих АРТ, длительностью ВИЧ-инфекции в среднем 5,8 лет и выраженной иммуносупрессией ($CD4^+$ Т-лимфоцитов 110 кл/мкл). У большинства пациентов наблюдались очаги локального кандидоза.

Впервые описаны факторы, ассоциированные с вероятностью риска развития ИК у ВИЧ-инфицированных больных. Ими являются не только медицинские (наличие ОФК (ОШ 2,815; ДИ=1,229-6,449) и туберкулеза (ОШ

3,395; ДИ=1,478-7,798), нахождение в ОРИТ (ОШ 5,349; ДИ=1,978-14,465), ИВЛ (ОШ 5,349; ДИ=1,978-14,465), тяжесть состояния (ОШ 6,189; ДИ=2,496-15,349), предшествующие операции на желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и стационарное лечение в течение 30 дней до госпитализации (ОШ 2,545; ДИ=1,088-5,952), но и общественно-поведенческие (активная форма зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков ОШ 3,956; ДИ=1,678-9,330), нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,924; ДИ=1,293-6,610), отсутствие постоянного места работы (ОШ 4,659; ДИ=1,256-17,278)). Подобный асоциальный образ жизни приводит к низкому уровню дохода, неполноценному питанию, провоцирует конфликты в семье и стрессовые ситуации, что неизбежно способствует развитию иммуносупрессии у пациентов. Кроме того, внутривенное введение наркотических препаратов приводит к нарушению целостности кожных покровов и слизистых оболочек, возникновению «эпителиальных дефектов», являющихся в дальнейшем входными воротами для проникновения различных патогенов, в т.ч. микромицетов в кровяное русло.

Обнаружено сочетанное воздействие факторов риска при возникновении ИК у больных ВИЧ-инфекцией. Наиболее значимыми комбинациями являются следующие: наличие туберкулеза, отсутствие постоянного места работы и нахождение в учреждениях ФСИН; наличие ОФК, активной формы зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы; наличие туберкулеза, активной формы зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы.

Наиболее вероятен ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов при наличии не менее трех из перечисленных признаков: тяжелое состояние пациента, орофарингеальный кандидоз, нахождение в ОРИТ, применение ИВЛ, предшествующие госпитализации операции на ЖКТ и стационарное лечение, туберкулез, отсутствие постоянного места работы, активная форма зависимости от ПАВ (употребление наркотиков внутривенно), нахождение в учреждениях ФСИН до госпитализации.

В процессе проведенного исследования установлено, ИК как у ВИЧ-инфицированных, так и ВИЧ-негативных пациентов протекал в виде тяжелого септического процесса с развитием инфекционно-токсического шока у пятой части больных. Летальность составила $45,6 \pm 7,34\%$. Основными вариантами течения ИК были кандидемия ($67,4 \pm 6,90\%$) и ОДК ($32,6 \pm 6,91\%$).

Вместе с тем, выявлены особенности клинического течения ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях. ДВС-синдром чаще развивался при ИК на фоне ВИЧ-инфекции. Следует отметить, что в отличие от пациентов, не инфицированных ВИЧ, у половины наблюдаемых нами больных ИК на фоне ВИЧ-инфекции заболевание протекало при нормальной или субфебрильной температуре. Наиболее часто в патологический процесс вовлекались легкие (у пятой части наблюдаемых), ЦНС и эндокард. Кандидоз органов зрения, почек, кожи, подкожной клетчатки, остеомиелит и артрит у наблюдаемых нами пациентов не выявлен.

Хронический гепатолиенальный кандидоз у ВИЧ-инфицированных больных также не диагностировался.

У большинства пациентов ($82,6 \pm 5,58\%$) ИК развивается при наличии орофарингеального кандидоза в виде псевдомембранозной, острой атрофической и хронической гиперпластической форм.

У большинства ВИЧ-инфицированных возбудителем ИК были микромицеты *C. albicans*, причем у половины наблюдаемых причиной заболевания являлась ассоциация грибков и бактерий. Сочетание ИК и туберкулеза наблюдалось в $54,3 \pm 7,34\%$ случаев (25 больных).

Особенностью патоморфологических изменений органов и тканей при ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов является наличие у всех сочетанной сопутствующей микрофлоры и их зависимость от ее характера. При развитии ИК в сочетании с бактериальной инфекцией они выражались преимущественно в форме экссудативно-некротического воспаления с формированием гнойных очагов, в которых при гистологическом исследовании обнаруживался псевдомицелий микромицетов рода *Candida*, что подтверждалось

бактериологически. Очаги некроза в тканях служат благоприятной средой для размножения и развития кандид.

В случаях грибкового и туберкулезного поражения наблюдалось отграничение очагов с образованием казеозного некроза в центре и продуктивного воспаления вокруг с формированием гранулем и наличием гигантских клеток типа инородных тел и Пирогова-Лангганса. При этом микромицеты рода *Candida* в их цитоплазме нами не обнаруживались.

Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее выраженные изменения выявлялись в легких, миокарде, головном мозге ВИЧ-инфицированных пациентов, умерших от ИК. При микроскопических и микологических исследованиях тканей печени и почек ни в одном случае не были обнаружены микромицеты рода *Candida spp.*

Установлены патоморфологические особенности кандидоза небных миндалин в виде развития псевдомембранозного поражения с инвазией псевдомицелия вглубь паренхимы без выраженной клеточной реакции на фоне фолликулярного лимфоидного истощения ткани органа.

Результаты клинического наблюдения, патоморфологического исследования и изучения факторов риска, позволяют уточнить некоторые патогенетические закономерности ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания.

Известно, что кандиды, широко распространенные в окружающей среде – почве, воде, продуктах питания и др. колонизируют кожу, слизистые оболочки, желудочно-кишечный тракт человека. В зависимости от состояния макроорганизма, может возникать кандидоносительство либо локальные формы кандидоза (орофарингеальный кандидоз, вульвовагинит, кандидоз кожи и ее придатков и др.). Генерализация инфекции из очагов локального кандидоза может происходить, если в них существуют благоприятные условия для персистенции возбудителя и наличия факторов, способствующих их гематогенной диссеминации в организме. По мнению многих авторов, кандидемия является следствием инфицирования внутрисосудистых катетеров и

проведением других инвазивных медицинских процедур, а также повышения колонизации кишечника грибами, что в сочетании с нарушением целостности его слизистой оболочки способствует проникновению возбудителя в подслизистые кровеносные сосуды, несущие кровь в портальную вену и печень, где в дальнейшем формируются очаги поражения [3,36,51,107].

Полученные нами данные способствуют уточнению представления о входных воротах и дальнейших путях распространения кандид в организме. На наш взгляд, «главными входными воротами»/первичным очагом генерализованного кандидоза при ВИЧ-инфекции являются ротоглотка и верхние дыхательные пути. Именно эти, так называемые, «открытые» локусы, являющиеся начальными отделами пищеварительного и дыхательного трактов, тесно связаны с внешней средой, являющейся местом локализации кандид. Исследование, проведенное совместно с оториноларингологами показало, что у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях наблюдается значительное нарушение барьерно-защитной функции слизистых оболочек. Это обусловлено множественными дефектами эпителия – эрозиями, язвами различного генеза, уменьшением количества ротовой жидкости в рамках ксеростомического синдрома, снижением специфических (иммуноглобулинов А) и неспецифических факторов местного гуморального иммунитета, наличием кариеса. Кроме того, разнообразная микрофлора этих локусов – грибы, бактерии, вирусы может оказывать друг на друга благоприятное влияние, создавая условия для совместной интеграции. В ранее проведенных нами исследованиях показано, что крипты небных миндалин и кариозные зубы являются местами, где происходит «укрывание и селекция» штаммов грибов рода *Candida*, обладающих выраженной ферментативной активностью и устойчивых к антимикотическим препаратам [130].

Анализ аутопсийного материала показал отсутствие очагов кандидозного поражения печени и почек пациентов, умерших от ИК. При этом значительные изменения наблюдались в легких, центральной нервной и сердечно-сосудистой системах.

Все вышеперечисленное позволяет утверждать, что у ВИЧ-инфицированных больных первичным очагом и отправной точкой для дальнейшего распространения кандид в кровотоке являются прежде всего ротоглотка и верхние дыхательные пути. ИК протекает в виде кандидемии или ОДК. Органами-мишенями при этом становятся легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система. В этих случаях можно говорить о развитии вторично-септической формы заболевания.

Однако, известно, что в некоторых случаях возбудитель попадает непосредственно в кровь (при внутривенном использовании наркотиков, инвазивных медицинских манипуляциях и др.) [156,172,185,188], вызывая первично-септическую форму системного кандидоза.

В настоящее время не существует единой универсальной классификации кандидоза. Учитывая клинико-патогенетические особенности инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов, мы предлагаем выделять у них следующие формы микоза, как нозологической формы:

1. Кандидозное носительство.
2. Локализованные формы (орофарингеальный кандидоз, вульвовагинит, кандидоз кожи и ее придатков и др.).
3. Генерализованные формы:
 - первично-септическая;
 - вторично-септическая.

Данная классификация может представлять интерес для врачей-клиницистов различных специальностей.

ГЛАВА 5. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОНТАМИНАЦИИ МИКРОМИЦЕТАМИ ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКИХ И НЕМЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ

При изучении факторов риска возникновения у ВИЧ-инфицированных инвазивных микозов (криптококкоза и инвазивного кандидоза) нами была выявлена прямая связь между ними и фактом стационарного лечения наблюдаемых в течение 30 дней, предшествующих госпитализации. Известно, что микробный пейзаж объектов внешней среды медицинских организаций оказывает влияние на эпидемическую обстановку в них и играет немаловажную роль в состоянии здоровья пациентов [21,42].

В связи с этим, нами проведена ретроспективная оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды по результатам исследований, выполненных бактериологическими лабораториями г.Перми и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по Пермскому краю» в 2007-2010 гг. в 199 организациях различного профиля (медицинских и немедицинских), включая 154 муниципальных и 45 частных. Для анализа были взяты медицинские организации с пребыванием больных – лечебные учреждения различного профиля (терапевтического, хирургического, гинекологического, реанимационного, инфекционного, стоматологического) и структурные подразделения медицинских организаций без пребывания больных – аптеки, лаборатории, автоклавные. В исследование в качестве группы сравнения были включены немедицинские организации, в которых осуществлялся производственный контроль объектов внешней среды – оздоровительные учреждения, парикмахерские, салоны красоты.

При оценке результатов микробиологического мониторинга объектов внешней среды в динамике установлено, что за период наблюдения доля положительных проб составила $12,6 \pm 0,84\%$ (таблица 11).

Таблица 11 - Многолетняя динамика результатов лабораторных исследований объектов внешней среды на микромицеты в различных организациях г. Перми за 2007-2010 гг.

Годы	Общее число полож. проб		В т.ч. на микромицеты	
	Абс.	%±m	Абс.	%±m
2007	226	98,7±0,75	221	97,7±1,02
2008	541	11,2±1,35	425	78,5±2,06
2009	551	18,7±1,66	347	62,9±2,68
2010	239	5,5±1,47	93	38,9±5,63
Всего	1557	12,6±0,84	1086	69,7±1,43

Наибольшая доля в структуре нестандартных проб с объектов внешней среды за 2007-2010 гг. приходилась на микромицеты, она составила в среднем 69,7±1,43% с колебаниями от 97,7±1,02% до 38,9±5,63%.

Нами проведена сравнительная оценка уровня контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских и немедицинских организаций (таблица 12).

Таблица 12 - Уровень контаминации микромицетами объектов внешней среды в различных организациях г. Перми за 2007 – 2010 гг.

Профиль организации	2007			2008			2009			2010			Всего		
	Все + проб	В т.ч. гри-бы	%±m	Все + пробы	В т.ч. гри-бы	%±m	Все + про-бы	В т.ч. грибы	%±m	Все + про-бы	В т.ч. гри-бы	%±m	Все + про-бы	В т.ч. гри-бы	%±m
Инфекционный				50	37	74,0±6,20	25	20	80,0±8,00	48	18	37,5±6,98	123	75	61,0±4,39

медицинские	Терапевтический	39	38	97,4 ± 2,54	96	83	86,4±5, 91	15 1	11 2	74,1±7, 12	74	31	41,8 ± 5,73	360	264	73,3 ± 2,33
	Хирургический	80	78	97,5 ± 1,74	68	57	83,8±5, 15	41	21	51,2±6, 24	8	1	12,5 ± 11,6 9	197	157	79,6 ± 2,87
	Гинекологический	11	10	90,9 ± 8,67	9	7	77,7±6, 83	5	2	40,0± 21,9	-	-	-	25	19	76,0 ± 8,54
	Стоматологический	37	37	100, 0	64	51	79,6±6, 14	97	48	49,4±11 ,65	30	7	23,3 ± 7,71	228	143	62,7 ± 3,20
	Реанимационный	2	2	100, 0	3	3	100,0	6	6	100,0	-	-	-	11	11	100, 0
	Итого	16 9	16 5	97,6 ± 1,17	29 0	23 8	82,0± 2,25	32 5	20 9	64,3± 2,65	16 0	57	35,6 ± 3,78	944	669	70,8 ± 1,47
2. Организации без больных	39	39	100, 0	20 7	15 5	74,8± 3,07	20 3	12 9	63,5± 3,37	67	29	43,2 ± 6,05	516	352	68,2 ± 2,05	

Итого	20 8	20 4	98,0 ± 0,97	49 7	39 3	79,0± 1,90	52 8	33 8	64,0± 2,15	22 7	86	37,9 ± 3,62	146 0	102 1	69,9 ± 1,24
3. Немедицинские организации	18	17	94,4 ± 5,41	44	32	72,7± 6,71	23	9	39,1± 10,17	12	7	58,3 ± 14,2 3	97	65	67,0 ± 4,77
Всего	22 6	22 1	97,7 ± 0,99	54 1	42 5	78,5± 1,83	55 1	34 7	62,9± 2,11	23 9	93	38,9 ± 3,53	155 7	108 6	69,7 ± 1,43

Установлено, что доля микромицетов в структуре микроорганизмов, обнаруженных на объектах внешней среды в медицинских организациях за 2007-2010 гг. по среднесноголетним данным составила $69,9 \pm 1,24\%$ против $67,0 \pm 4,77$ в организациях немедицинского профиля – оздоровительные учреждения, парикмахерские, салоны красоты ($t < 2$; $p > 0,05$). Не выявлено достоверных различий и в уровнях контаминации объектов внешней среды в медицинских организациях с пребыванием больных и структурных подразделениях без больных (лаборатории, аптеки, автоклавные) – $70,8 \pm 1,47$ и $68,2 \pm 2,05$ ($t < 2$; $p > 0,05$).

Таким образом, установлено, что важную роль в микробном пейзаже всех изучаемых организаций играют микромицеты. Однако наибольшую опасность они представляют для людей, имеющих отклонения в состоянии здоровья и находящихся на лечении в различных отделениях медицинских организаций [38]. В связи с этим была проведена сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды медицинских организаций различного профиля – хирургического, гинекологического, терапевтического, инфекционного, стоматологического и отделений реанимации и интенсивной терапии.

Оценка уровня обсемененности микромицетами объектов больничной среды в медицинских организациях различного профиля за 2007-2010 гг. выявила достоверные различия. Наиболее высоким он оказался в отделениях реанимации и интенсивной терапии (100%). В хирургических стационарах медицинских организаций этот показатель равнялся $79,6\% \pm 2,87\%$.

В отделениях гинекологического, терапевтического, стоматологического и инфекционного профилей доля положительных проб на грибы составила соответственно $76,0 \pm 8,54\%$, $73,3 \pm 2,33\%$, $62,7 \pm 3,20\%$ и $61,0 \pm 4,39\%$.

Таким образом, наибольшая контаминация объектов внешней среды микромицетами наблюдается в отделениях реанимации. Это связано с организационно-технологическими особенностями оказания медицинской помощи и характером патологии госпитализированных больных. Уровень контаминации микромицетами инфекционных и стоматологических отделений был значительно ниже ($t > 2$; $p < 0,05$).

Оценка уровня контаминации микромицетами больничной среды медицинских организаций г. Перми в зависимости от организационно-правовой формы собственности (муниципальные и частные) выявила статистически достоверные различия (таблица 13). Так, в частных медицинских учреждениях удельный вес контаминации больничной среды микромицетами составил $52,0 \pm 2,8\%$, а в муниципальных – $82,4 \pm 1,77\%$ ($t > 2,0$; $p < 0,05$). Это обусловлено уровнем ресурсного обеспечения (материально-технического, кадрового, финансового) государственных медицинских организаций, более высокой изношенностью строений, особенностями их эксплуатации и характером профессиональной деятельности [85].

Наряду с уровнем контаминации была проведена и оценка интенсивности обсемененности воздушной среды микромицетами. До 2010 г. чистота воздуха помещений медицинских организаций регламентировалась документом - СанПиН 2.1.3.1375-03 «Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров». В них нормировалось определение общего количества микроорганизмов в воздухе, в зависимости от класса чистоты допускалось нахождение от 200 до 1000 КОЕ/м³. В помещениях, где находятся пациенты и персонал, наличия микромицетов не допускалось.

Таблица 13 - Уровень контаминации микромицетами муниципальных и частных медицинских организаций г. Перми

Годы	Муниципальные мед. организации			Частные мед. организации		
	Всего «+» проб (абс.)	Из них вызв. грибами		Всего «+» проб (абс.)	Из них вызв. грибами	
		Абс. число	%+_m		Абс. число	%+_m
2007	114	112	98,2±1,24	54	52	96,2±2,60
2008	133	120	92,3±2,31	70	42	60,0±5,85
2009	173	122	70,5±3,46	133	62	46,6±4,32
2010	41	26	63,4±7,52	60	9	15,0±4,60
Всего	461	380	82,4±2,77	317	165	52,0±3,80

В нашем исследовании в воздушной среде всех медицинских организаций г.Перми были обнаружены микромицеты с преобладанием плесневых грибов (96,35%). Это связано с их физиолого-биохимическими свойствами. Споры плесневых грибов гидрофобные, сухие, легко распределяются в воздушных потоках и могут долгое время находиться во взвешенном состоянии. Количественная оценка интенсивности контаминации плесневыми грибами больничной среды показала, что в структурах с постоянным пребыванием больных этот показатель за изучаемый период составил $86,9 \pm 2,91$ КОЕ/м³ (таблица 14).

В отделениях хирургического, реанимационного, терапевтического и гинекологического профилей интенсивность контаминации больничной среды микромицетами колебалась от $68,0 \pm 3,62$ до $75,8 \pm 2,92$ КОЕ/м³ и существенных различий не имела ($t < 2$; $p > 0,05$). Значительно ниже был этот показатель в стоматологических отделениях ($61,1 \pm 2,85$ КОЕ/м³).

Обращает на себя внимание, что в инфекционном стационаре показатели интенсивности контаминации больничной среды микромицетами значительно

превышали таковые во всех изучаемых организациях ($167,3 \pm 2,89$ КОЕ/м³) ($t > 2$, $p < 0,05$).

Более низкая степень обсемененности микромицетами обнаружена в немедицинских учреждениях, по сравнению с медицинскими – $58,2 \pm 2,50$ против $83,2 \pm 2,80$ КОЕ/м³ ($t > 2$, $p < 0,05$).

Таблица 14 - Интенсивность контаминации плесневыми грибами воздуха в различных организациях г. Перми за 2007-2010 годы (КОЕ/м³ ±m)

Профиль организаций	2007	2008	2009	2010	Средне годовые данные
I Медицинские организации с постоянным пребыванием больных					
Терапевтический	119,8 ±1,72	83,0 ±1,73	43,9 ±2,60	37,7 ±2,88	71,1 ±2,35
Хирургический	153,4 ±2,17	95,5 ±2,68	35,3 ±3,27	28,5 ±3,53	78,2 ±2,95
Гинекологический	140,0 ±4,23	36,0 ±3,22	96,0 ±3,04	-	68,0 ±3,62
Инфекционный	-	112,0 ±3,19	80,1 ±1,97	310,0 ±3,22	167,3 ±2,89
Стоматологический	142,3 ±3,79	35,0 ±2,55	19,8 ±3,21	47,3 ±1,85	61,1 ±2,85
Реанимационный	60,0 ±2,93	223,0 ±3,03	44,6 ±2,79	-	75,8 ±2,92
Итого по мед. орг. с пребыванием больных	123,1 ±3,61	97,4 ±2,73	53,3 ±2,83	105,8 ±2,82	86,9 ±2,91
II Медицинские организации без постоянного пребывания больных					
Аптеки	121,3 ±3,22	73,4 ±1,24	69,4 ±1,59	54,3 ±2,51	79,6 ±2,15
Итого по всем медицинским организациям	122,2 ±3,35	85,4 ±2,50	61,3 ±2,51	80,0 ±2,73	83,2 ±2,80
III Немедицинские организации					
	171,2 ±2,65	28,9 ±2,70	30,4 ±2,63	2,5 ±2,13	58,2 ±2,50

Исходя из полученных результатов, интерес представляет изучение микробного пейзажа в медицинской организации инфекционного профиля, которое проводилось на базе ГБУЗ ПК «ПККИБ».

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Пермского края «Пермская краевая клиническая инфекционная больница» обслуживает население Пермского края (2603,2 тыс.человек), в т.ч. более 1 миллиона проживающего в г.Перми. В больнице оказывается специализированная и квалифицированная медицинская помощь инфекционным больным любого профиля и возраста. Больница рассчитана на 400 коек круглосуточного пребывания, в т.ч. 239 для взрослого населения, остальные – для детского. Расположена в нескольких корпусах, санитарно-технически оборудованных. В больнице имеется 10 госпитальных отделений: 8 – взрослых и 2 – детских, боксированных.

В структуре больницы предусмотрены отделения: приемное, лечебно-диагностические, реанимации и интенсивной терапии; консультативно-диагностический центр клещевых инфекций и гепатологический центр; клинко-диагностические лаборатории (биохимическая и клиническая), лаборатории микробиологических исследований (серологическая и бактериологическая), аптека, кабинеты функциональной диагностики, физиотерапевтические и вспомогательная служба. Больница является научно-методическим, консультативным центром по инфекционной патологии и учебной базой для подготовки кадров высшей квалификации (ординаторов, аспирантов), а также профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов данного профиля, на ее базе располагаются кафедры инфекционных болезней и детских инфекций ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера.

Изучение уровня контаминации и характера микрофлоры объектов внешней среды проведено ретроспективно по результатам микробиологического мониторинга за период 2008-2010 гг. в 8 стационарных, 2 поликлинических отделениях и аптеке Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Необходимо уточнить, что в стационарных отделениях краевой инфекционной

больницы на лечении находились пациенты с острыми инфекционными заболеваниями, исключая ВИЧ-инфекцию.

Выявлено, что из общего количества проб, отобранных для исследования (10185), положительных оказалось 123 ($1,20 \pm 0,01\%$). Микробный пейзаж характеризовался разнообразием и был представлен бактериальной флорой: золотистый стафилококк, синегнойная палочка, клебсиелла и др., удельный вес которой составил $39,0 \pm 4,39\%$. Однако наибольшую долю в структуре выделенных микроорганизмов ($61,0 \pm 4,39\%$), как и в других медицинских организациях занимали микромицеты (таблица 15).

Таблица 15 - Динамика положительных проб на микромицеты в медицинском учреждении инфекционного профиля за 2008-2010 гг.

Годы	Общее число полож. проб		В т.ч. на микромицеты	
	Абс. число	$\% \pm m$	Абс. число	$\% \pm m$
2008	50	$40,65 \pm 6,24$	37	$74,0 \pm 6,20$
2009	25	$20,32 \pm 6,28$	20	$80,0 \pm 8,00$
2010	48	$39,03 \pm 4,39$	18	$37,5 \pm 6,98$
Всего	123	100	75	$61,0 \pm 4,39$
Среднегодов. показатель	41	$33,33 \pm 7,36$	25	$63,83 \pm 7,50$

Анализ результатов исследования объектов внешней среды инфекционной больницы по признаку выявления микромицетов позволил выделить 3 группы структурных подразделений: аптека, поликлинические отделения и стационарные отделения с круглосуточным пребыванием больных (таблица 16).

Таблица 16 - Доля микромицетов в структуре микробного пейзажа различных подразделений медицинского учреждения за 2008-2010 гг.

Годы	Аптека				Поликлиника				Стационары			
	Общ.число полож. проб		В т.ч. микромицеты		Общ.число полож. проб		В т.ч. микромицеты		Общ.число полож. проб		В т.ч. микромицеты	
	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m
2008	7	7,95±2,88	5	71,40± 4,81	6	2,40± 0,96	5	83,33± 2,35	37	1,42± 0,23	27	72,97±7,30
2009	4	3,42±1,68	2	50,00± 4,62	4	1,20± 0,59	3	75,00± 2,38	17	0,49± 0,11	15	88,23±7,81
2010	7	7,00±2,55	4	57,10± 4,94	-	-	-	-	41	0,38± 0,17	27	65,85±7,40
Средне год.число пол.проб	6	5,90±2,33	3,6 6	61,00± 4,83	5	1,72± 0,76	4	80,00± 2,34	31,6 6	0,06± 0,18	23	71,87±7,94

Дифференцированная оценка микробного пейзажа показала, что удельный вес положительных проб на грибы в 1 группе подразделений (аптека) в среднем за 3 года составил $61,0 \pm 4,83\%$. Во 2 группе (поликлинические отделения) доля микромицетов была значительно выше и равнялась $80,0 \pm 2,34\%$. В стационарных отделениях с круглосуточным пребыванием пациентов среднегодовой показатель был равен $71,87 \pm 7,94\%$ и не имел существенных различий с подразделениями без круглосуточного пребывания больных ($t < 2$; $p > 0,05$).

Оценка интенсивности контаминации микромицетами объектов внешней среды в инфекционном медицинском учреждении установила, что этот показатель за период 2008-2010 гг. в среднем составил $167,3 \text{ КОЕ/м}^3$ (таблица 17). При этом, если в 2008 г. интенсивность контаминации была 112 КОЕ/м^3 , то к 2010 г. она возросла почти в 3 раза и составила 310 КОЕ/м^3 ($p < 0,05$).

Таблица 17 - Интенсивность контаминации микромицетами (КОЕ/м^3) объектов внешней среды в инфекционной больнице за 2008-2010 гг.

Годы	$\text{КОЕ/м}^3 \pm m$
2008	$112,00 \pm 3,19$
2009	$80,10 \pm 1,97$
2010	$310,00 \pm 3,22$
Всего	$502,10 \pm 4,05$
Среднегодовой показатель	$167,3 \pm 2,89$

Таким образом, в структуре положительных проб с объектов внешней среды инфекционной больницы преобладали микромицеты, также как и во всех медицинских организациях г.Перми. Однако интенсивность контаминации ими более чем в 2 раза превышала таковую в медицинских организациях другого профиля.

Сравнительная оценка интенсивности обсемененности микромицетами воздушной среды в муниципальных и частных медицинских организациях

показала, что средний показатель обсемененности плесневыми грибами в муниципальных структурах за изучаемый отрезок времени равнялся $87,7 \pm 1,59$ КОЕ/м³, что почти в 2 раза превышает таковой в частных медицинских учреждениях ($50,0 \pm 1,91$; $p < 0,05$) (таблица 18).

Таблица 18 - Интенсивность (КОЕ/м³±m) контаминации плесневыми грибами объектов внешней среды в муниципальных и частных медицинских организациях г. Перми за 2007-2010 гг. по среднемуголетним данным

Годы	Муниципальные мед. организации	Частные мед. организации
2007	146,1±1,27	143,5±2,79
2008	107,0±1,09	14,3±1,89
2009	43,2±2,23	17,6±1,64
2010	54,4±1,92	24,6±1,45
Итого	87,7±1,59	50,0±1,91

Это во многом обусловлено износом строений, что приводит к возникновению очагов биодеструкции в результате неудовлетворительного состояния инженерных коммуникаций и несвоевременного устранения дефектов внутренней отделки. Микромицеты способствуют развитию процессов старения и биоразрушения больничных зданий и помещений медицинского назначения [38]. Пребывание в них людей приводит к значимым медицинским и социально-экономическим потерям.

Таким образом, оценка контаминации объектов внешней среды выявил не только наличие, но и преобладание грибковой флоры над бактериальной во всех медицинских организациях г.Перми за 2007-2010 гг., удельный вес ее составил $69,7 \pm 1,43\%$.

Доля микромицетов в общем количестве положительных проб наиболее высока в медицинских организациях реанимационного, хирургического и гинекологического профилей. Однако интенсивность контаминации больничной

среды микромицетами была самой высокой в медицинской организации инфекционного профиля.

Уровень и интенсивность обсемененности микромицетами в муниципальных медицинских структурах значительно превышали таковые в частных медицинских организациях.

Полученные результаты привлекают внимание в связи с тем, что именно в этих отделениях находятся на лечении длительное время пациенты с тяжелой патологией, сопровождающейся иммунодефицитом, нередко после оперативных вмешательств. Повышенный уровень «грибковой нагрузки» в помещениях, где пребывают пациенты с иммуносупрессией, приводит к возрастанию риска развития микотических инфекций, в том числе инвазивных микозов.

ГЛАВА 6. УРОВЕНЬ И ИНТЕНСИВНОСТЬ КОНТАМИНАЦИИ МИКРОМИЦЕТАМИ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ ВЫСОКОГО РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ

По результатам нашего исследования (глава 5) выявлено неблагополучие состояния контаминации больничной среды микромицетами в медицинской организации инфекционного профиля. Это может представлять опасность прежде всего для пациентов с иммуносупрессией, страдающих ВИЧ-инфекцией, онкологическими, гематологическими заболеваниями, перенесших хирургические вмешательства, а также находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии [38,57].

Внедрение в клиническую практику новых методов диагностики и лечения, с одной стороны, позволило значительно увеличить продолжительность жизни пациентов, с другой стороны, привело к росту числа осложнений, ведущее место среди которых принадлежит инвазивным микозам [58,113,139].

Учитывая это, нами было проведено исследование состояния контаминации больничной среды микромицетами в данных медицинских организациях.

6.1. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды медицинской организации онкологического профиля

Оценка состояния контаминации микромицетами объектов внешней среды проводилась в радиологическом отделении Пермского краевого онкологического диспансера г.Перми в феврале 2013 г. Общее количество проб, отобранных для исследования, составило 63, в т.ч. 12 проб воздуха и 51 смывов с объектов больничной среды.

Выявлен высокий уровень контаминации микромицетами больничной среды радиологического отделения онкологического диспансера. Доля положительных проб составила $90,5 \pm 3,6\%$ (таблица 19).

Таблица 19 - Уровень контаминации микромицетами больничной среды онкологического стационара (%)

Исследуемый объект	Количество проб			Микромицеты					
	Всего проб	«+» пробы		плесневые		дрожжевые		mixt	
		абс	% \pm m	абс	% \pm m	абс	% \pm m	абс	% \pm m
Воздух	12	12	100	12	100	6	50,0 $\pm 20,4$	6	50,0 $\pm 20,4$
Смывы	51	45	88,2 $\pm 4,5$	21	46,6 $\pm 12,8$	45	100	18	40,0 $\pm 12,6$
всего	63	57	90,5 $\pm 3,6$	33	57,9 $\pm 14,8$	51	89,5 $\pm 7,4$	24	42,1 $\pm 17,4$

Микромицеты были обнаружены в 100% проб воздуха, взятых из различных помещений онкологического стационара. Удельный вес положительных проб в смывах был ниже и составил $88,2 \pm 4,5\%$ ($t > 2$; $p < 0,05$).

Анализ этиологической структуры микромицетов показал, что в пробах воздуха плесневые грибы обнаруживались в 100%, а дрожжевые – в половине изучаемых проб, при этом все они были в сочетании с плесневыми. В смывах, наоборот, во всех пробах выявлены дрожжевые грибы, тогда как плесневые – лишь в $46,6 \pm 12,8\%$, их сочетание – в $40,0 \pm 12,6\%$.

Итак, в больничной среде радиологического отделения выявлен высокий уровень обсемененности микромицетами, с преобладанием в воздухе плесневых, а в смывах – дрожжевых грибов.

При изучении интенсивности контаминации воздушной среды микромицетами было установлено, что интенсивность контаминации воздуха плесневыми грибами ($37,7 \pm 12,6$ КОЕ/м³) более чем в 30 раз превышала таковую дрожжевыми ($1,0 \pm 0,3$ КОЕ/м³), ($t=2,3$; $p<0,05$) (таблица 20).

Таблица 20 - Интенсивность контаминации различными видами микромицетов воздушной среды помещений онкологического стационара (КОЕ/м³)

Наименование подразделения	Общее (среднее) количество микромицетов КОЕ/м ³ (M±m)	Плесневые грибы КОЕ/м ³ (M±m)	Дрожжевые грибы КОЕ/м ³ (M±m)
Коридор	50,6±25,5	100,1±28,8	1,3±0,1
Процедурный кабинет	2,0±0,9	4,0±0,5	0
Палаты	11,3±5,0	22,6±1,4	0
Столовая	13,2±4,7	23,8±0,1	2,6±0,1
Всего в ЛПУ	19,4±7,2	37,7±12,6*	1,0±0,3
Примечание - * наличие статистически достоверных различий интенсивности контаминации объектов внешней среды плесневыми грибами по сравнению с дрожжевыми, $p<0,05$			

Степень грибковой нагрузки различных помещений радиологического отделения онкологического диспансера колебалась от $50,6 \pm 25,5$ КОЕ/м³ до $2,0 \pm 0,9$ КОЕ/м³, однако достоверных различий не выявлено ($t=1,9$; $p>0,05$).

В целом интенсивность контаминации воздуха микромицетами была на уровне $19,4 \pm 7,2$ КОЕ/м³. Порогом устойчивости организма человека к мицелиальным микромицетам считается наличие в воздушной среде до 500 КОЕ/м³ [2,42,86,278]. В онкологических, гематологических, отделениях реанимации и интенсивной терапии и других стационарах высокого риска

развития микотических осложнений допускается присутствие единичных колоний грибов в 1 м^3 [102].

В этиологической структуре плесневых грибов, содержащихся в воздушной среде радиологического отделения, выявлено преобладание 2 родов микромицетов: *Aspergillus* и *Penicillium*. Почти половина приходилась на род *Penicillium* (49,7%), доля *Aspergillus* составила 29,1%. Микромицеты других родов встречались в единичных случаях.

При анализе обсемененности предметов в помещениях радиологического отделения (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки, рабочие столы и др.) обнаружено присутствие в смывах как плесневых, так и дрожжевых грибов, однако степень загрязненности ими различалась (таблица 21).

Таблица 21 - Интенсивность контаминации микромицетами различных объектов больничной среды онкологического стационара (КОЕ/дм²)

Наименование объектов	Общее количество микромицетов КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы КОЕ/дм ² (M±m)
Тумбочки	1213,0±545,3	0	2427,0±129,3*
Дверные ручки	471,9±202,8	0	943,9±345,1
Стол вытяжного шкафа	0	0	0
Вентиляционные решетки	3430,0±1398,0	49,0±10,1	6812,0±1394,0*
Руки пациентов	59,3±15,1	1,3±0,5	117,3±18,7
Руки персонала	5,1±1,0	0,6±0,2	9,7±0,6

Примечание - * наличие статистически достоверных различий интенсивности контаминации объектов внешней среды дрожжевыми грибами по сравнению с плесневыми, $p < 0,05$

В смывах со всех объектов больничной среды, кроме рабочего стола персонала преобладали дрожжевые грибы с наибольшей загрязненностью тумб пациентов ($2427,0 \pm 129,3$ КОЕ/дм²) и вентиляционных решеток ($6812,0 \pm 1394,0$ КОЕ/дм²).

Интенсивность контаминации микромицетами рук пациентов почти в 12 раз превышала таковую у среднего медицинского персонала, при этом преобладали дрожжевые грибы.

Итак, при исследовании объектов больничной среды радиологического отделения онкологического стационара обнаружен высокий общий уровень загрязнения микромицетами ($90,5 \pm 3,6\%$). Во всех пробах воздуха присутствовали плесневые грибы, однако интенсивность контаминации ими была значительно ниже рекомендуемых пороговых значений ($19,4 \pm 7,2$ КОЕ/м³). Не выявлено существенных различий в степени загрязнения грибами воздуха коридора, столовой, палат и процедурного кабинета. В смывах преобладали дрожжевые грибы, наиболее контаминированными оказались вентиляционные решетки, тумбочки и руки пациентов.

6.2. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды медицинской организации гематологического профиля

Изучение уровня и интенсивности контаминации микромицетами объектов больничной среды проводилось в гематологическом отделении многопрофильной медицинской организации г.Перми. Общее количество проб, отобранных для исследования, составило 41, в т.ч. 24 пробы воздуха и 17 смывов с объектов больничной среды.

Установлен высокий уровень контаминации объектов больничной среды гематологического отделения грибами, доля положительных проб составила $85,4 \pm 5,5\%$ (таблица 22).

Грибы обнаруживались во всех пробах воздуха и в $64,7 \pm 11,6\%$ смывов, при этом выявлены их существенные различия. В смывах преобладали дрожжевые грибы, удельный вес их равнялся $90,9 \pm 8,6\%$, плесневые грибы обнаружены в $36,4 \pm 9,8\%$ ($t > 2$; $p < 0,05$), сочетание их – в $27,3 \pm 13,4\%$.

В пробах воздуха в 100% исследованных образцов были обнаружены плесневые грибы, в то время как дрожжевые выделены лишь в трети случаев (33,3+9,6%), все - в сочетании с плесневыми.

Таблица 22 - Уровень контаминации микромицетами больничной среды гематологического отделения стационара (%)

Исследуемый объект	Количество проб			Наименование микромицетов					
	Всего	В т.ч.полож.		плесневые		дрожжевые		mixt	
		абс	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс
Воздух	24	24	100	24	100	8	33,3** ±9,6	8	33,3 ±9,6
Смывы	17	11	64,7± 11,6	4	36,4 ±9,8	10	90,9* ±8,6	3	27,3 ±13,4
всего	41	35	85,4 ±5,5	28	80,0 ±6,7	18	51,4 ±8,4	11	31,4 ±7,8
Примечание - * достоверность различий уровня контаминации объектов больничной среды дрожжевыми грибами по сравнению с плесневыми, $p < 0,05$ - ** достоверность различий уровня контаминации объектов больничной среды плесневыми грибами по сравнению с дрожжевыми, $p < 0,05$									

Таким образом, выявлено достоверное преобладание в структуре микромицетов, выделенных с объектов больничной среды, доли плесневых микромицетов (80,0±6,7%) по сравнению с дрожжевыми (51,4±8,4%), а также их сочетанием ($t=2,6$; $p < 0,05$ и $t=4,6$; $p < 0,05$).

При оценке интенсивности контаминации воздушной среды микромицетами было выявлено достоверное преобладание плесневых грибов (32,8±7,1 КОЕ/м³) по сравнению с дрожжевыми (2,5±0,8 КОЕ/м³), $t=4,2$; $p < 0,01$ (таблица 23).

Таблица 23 - Интенсивность контаминации различными видами микромицетов воздушной среды помещений гематологического отделения стационара (КОЕ/м³)

Наименование структурного подразделения	Общее (среднее) количество микромицетов КОЕ/м ³ (M±m)	Плесневые грибы КОЕ/м ³ (M±m)	Дрожжевые грибы КОЕ/м ³ (M±m)
Коридор	21,6±7,5	35,0±12,8	8,3±2,9
Процедурный кабинет	32,5±13,4	65,0±19,3	0
Палаты	8,3±2,7	15,7±4,5	0,8±0,3
Всего по отделению	15,6±3,3	32,8±7,1*	2,5±0,8
Примечание - * наличие статистически достоверных различий интенсивности контаминации объектов больничной среды плесневыми грибами по сравнению с дрожжевыми, p<0,05			

Сравнительная оценка интенсивности загрязнения грибами различных помещений гематологического отделения не выявила достоверных различий. Общая «грибковая нагрузка» в гематологическом отделении медицинского учреждения равнялась 15,6±3,3 КОЕ/м³, что значительно ниже порогового значения, которое по данным ряда авторов и ВОЗ в воздухе помещений может достигать 500 КОЕ/м³ [2,42,86,278].

В пробах воздушной среды гематологического отделения преобладали плесневые грибы 3 родов: *Aspergillus*, *Penicillium* и *Rhizopus*. При этом почти половина приходилась на род *Aspergillus* (с преобладанием *A.wentii*) – 47,0%, грибы рода *Rhizopus* составили 36,0%. Значительно меньшую долю занимали грибы рода *Penicillium* (14,9%) и прочие виды (2,1%).

Сравнительная оценка этиологической структуры микромицетов в различных помещениях стационара показала, что в палатах преобладали грибы рода *Rhizopus* (88,2%) при минимальной доле грибов рода *Aspergillus* (7,1%) и *Penicillium* (4,7%), в коридоре и процедурном кабинете доминировали *Aspergillus spp.* (46,1- 48,6%).

При анализе загрязненности микромицетами предметов в помещениях гематологического отделения (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбы пациентов, рабочие столы и др.) установлены различия в интенсивности контаминации их плесневыми и дрожжевыми грибами (таблица 24).

Таблица 24 - Интенсивность контаминации микромицетами различных объектов больничной среды гематологического отделения стационара (КОЕ/дм²)

Наименование объектов	Общее количество микромицетов КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы КОЕ/дм ² (M±m)
Тумбочки	29,8±14,4	3,0±1,5	56,6±26,4*
Дверные ручки	88,5±47,3	0	177,1±50,2*
Стол вытяжного шкафа	3,7±1,6	7,5±0,2	0
Вентиляционные решетки	366,2±104,0	49,5±6,6	682,8±179,8*
Руки пациентов	0,5±0,2	0	1,0±0,4
Руки персонала	0	0	0
Примечание - * наличие статистически достоверных различий интенсивности контаминации объектов больничной среды дрожжевыми грибами по сравнению с плесневыми, p<0,05			

Во всех смывах с объектов больничной среды гематологического отделения наблюдалось доминирование дрожжевых грибов. Наибольшая интенсивность обсемененности дрожжевыми грибами выявлена на вентиляционных решетках (682,8±179,8 КОЕ/дм²), хотя в воздухе преобладали плесневые. На втором месте по обсемененности были дверные ручки (177,1±50,2 КОЕ/дм²). Достоверно меньшая концентрация микромицетов была выявлена на тумбочках пациентов (56,6±26,4 КОЕ/дм²); (t>2, p<0,05).

Сравнительная оценка загрязненности микромицетами рук пациентов и персонала медицинской организации показала, что у пациентов гематологического отделения обнаруживались единичные колонии дрожжевых

грибов, а плесневые отсутствовали вовсе. На руках медицинского персонала микромицеты вообще не были выявлены.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований установлен высокий уровень контаминации микромицетами объектов больничной среды гематологического отделения ($85,4 \pm 5,5\%$). При этом в воздушной среде преобладали плесневые грибы, а в смывах – дрожжевые. Однако интенсивность обсемененности воздушной среды микромицетами была значительно ниже пороговых значений ($15,6 \pm 3,3$ КОЕ/м³). Не выявлено существенных различий в степени «грибковой нагрузки» отдельных помещений стационара. Вместе с тем, они были обнаружены при изучении интенсивности контаминации грибами больничных объектов. Максимальная загрязненность выявлена на вентиляционных решетках.

При исследовании кожных покровов рук обнаружено полное отсутствие микромицетов у персонала и наличие единичных колоний дрожжевых грибов у пациентов.

6.3. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии

Оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды проводилась в отделениях реанимации и интенсивной терапии хирургического и инфекционного профиля г.Перми в 2013 г. Общее количество исследованных проб составило 59, в т.ч. 30 проб воздуха и 29 смывов с объектов больничной среды. В инфекционной реанимации всего 30 проб, в т.ч. воздуха - 18, смывов – 12. В хирургической реанимации всего 29 проб, в т.ч. воздуха 12, смывов - 17.

Лабораторное исследование объектов внешней среды изучаемых ОРИТ показало, что во всех пробах воздуха обнаруживались грибы (100%). При изучении смывов обнаружено, что удельный вес положительных проб в инфекционном ОРИТ составил 100%, в хирургическом - $76,5 \pm 10,2\%$ ($t > 2$, $p < 0,05$) (таблица 25).

Таблица 25 - Уровень контаминации микромицетами больничной среды ОРИТ различного профиля (%)

Изучаемый объект	ОРИТ инфекционного отделения						ОРИТ хирургического отделения					
	Наименование микромицетов											
	Плесневые		Дрожжевые		Mixt		Плесневые		Дрожжевые		Mixt	
	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m
Воздух	18	100	18	100*	18	100	12	100	6	50,0± 14,4	6	50,0± 14,4
Смывы	9	75,0± 14,4	12	100*	9	75,0± 14,4	12	92,3± 7,6	8	61,5± 17,2	7	53,8± 18,8
Всего	27	90,0±5,7	30	100*	27	90,0± 5,7	24	96,0± 4,0	14	56,0± 13,2	13	52,0± 13,8
Примечание - * наличие статистически достоверных различий в показателях контаминации в инфекционном ОРИТ по сравнению с хирургическим, p<0,05												

Этиологическая структура микромицетов, выделенных с объектов больничной среды инфекционного и хирургического ОРИТ, различалась. В пробах воздуха инфекционного ОРИТ в 100% случаев выявлялись и плесневые, и дрожжевые грибы. В ОРИТ хирургического профиля во всех пробах воздуха обнаружены плесневые грибы, а дрожжевые - лишь в половине, при этом все в сочетании с плесневыми.

При изучении смывов в ОРИТ инфекционного профиля дрожжевые грибы выявлены во всех пробах, доля плесневых составляла $75,0 \pm 14,4\%$, все в сочетании с дрожжевыми. В хирургическом ОРИТ плесневые грибы обнаружены в $92,3 \pm 7,6\%$ проб, дрожжевые грибы - в $61,5 \pm 17,2\%$.

Итак, обсемененность микромицетами больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии была достаточно высокой. Следует отметить, что уровень контаминации дрожжевыми грибами инфекционной реанимации был в 1,6 раза выше, чем хирургической. При этом загрязненность плесневыми микромицетами обеих реанимаций существенных различий не имела.

При сравнительной оценке интенсивности контаминации микромицетами воздушной среды в ОРИТ инфекционного и хирургического профиля выявлено, что инфицированность плесневыми грибами составила $91,7 \pm 12,1$ и $197,9 \pm 44,1$ КОЕ/м³, дрожжевыми – $40,1 \pm 5,7$ и $2,5 \pm 1,2$ КОЕ/м³ соответственно. Общая степень «грибковой нагрузки» в инфекционной ($66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³) и хирургической ($100,2 \pm 29,6$ КОЕ/м³) ОРИТ существенных различий не имела. Эти показатели соответствуют требованиям СанПин 2010 г., согласно которым общее количество микроорганизмов в помещениях класса чистоты А, к которым относятся палаты интенсивной терапии и реанимационные залы, не должно превышать 200 КОЕ/м³ до начала работы и 500 КОЕ/м³ во время работы.

Несмотря на значительное преобладание плесневых грибов над дрожжевыми ($t > 2$, $p < 0,01$) в воздухе изучаемых отделений, интенсивность контаминации дрожжевыми грибами воздушной среды инфекционного ОРИТ была в 16 раз выше по сравнению с ОРИТ хирургического профиля.

При исследовании предметов больничной среды ОРИТ разного профиля установлено наличие в смывах как плесневых, так и дрожжевых грибов. Однако интенсивность контаминации изучаемых объектов (вентиляционные решетки и дверные ручки в палатах, тумбы пациентов) имела существенные различия (таблица 26).

Таблица 26 - Интенсивность контаминации микромицетами различных объектов больничной среды ОРИТ (КОЕ/дм²)

Наименование объекта	ОРИТ инфекционного отделения			ОРИТ хирургического отделения		
	Общее кол-во микромицетов в КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Общее кол-во микромицетов в КОЕ дм ² (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)
Тумбочки	417,5±14,5	12,0±0,5	**823,0±10,1	305,0±76,8	13,3±3,5	598,0±60,8
Дверные ручки	182,0±77,8	8,0±1,1	**356,0±2,3	0,4±0,1	0,8±0,3	0
Вентиляцион. решетки	45484,0±1375,0	1,0±0,2	**90954,0±2154,0*	659,7±218,8	39,5±2,9	*1280,0±238,2
Аппарат ИВЛ	432,0±101,2	35,1±1,3	829,0±6,3	389,0±125,5	48,2±1,1	730,0±5,7
Руки пациентов	6,6±1,8	2,4±0,7	10,8±2,1	5,4±1,9	3,0±0,6	7,7±1,6
Руки персонала	0	0	0	0,8±0,3	1,7±0,4	0
Примечание - * достоверность различий интенсивности контаминации объектов больничной среды, p<0,05 - ** достоверность различий интенсивности контаминации объектов внешней среды хирургического и инфекционного отделений, p<0,05						

На всех предметах в ОРИТ преобладали дрожжевые грибы, наибольшая степень загрязненности ими выявлена на вентиляционных решетках (в инфекционной ОРИТ - 90954,0±2154,0, в хирургической – 1280,0±238,2 КОЕ/дм²), затем в убывающем идут тумбы пациентов, аппараты ИВЛ, дверные ручки в палатах. Плесневые грибы обнаруживались на всех объектах больничной среды в единичных случаях.

В ОРИТ инфекционного профиля выявлена более высокая интенсивность контаминации объектов больничной среды дрожжевыми грибами. Зафиксировано превышение загрязненности вентиляционных решеток по сравнению с

хирургическим ОРИТ в 70 раз, а тумбочек пациентов – на 40%. Это объясняется прежде всего особым профилем инфекционных пациентов с массивной колонизацией различных локусов дрожжевыми грибами, а также недавно проведенным ремонтом в хирургической реанимации.

Следует обратить внимание на обсемененность микромицетами дверных ручек в сравниваемых отделениях. В инфекционном ОРИТ степень контаминации их дрожжевыми грибами была $356,0 \pm 2,3$ КОЕ/дм², на дверных ручках хирургического отделения они отсутствовали, что обусловлено спецификой лечебно-диагностического процесса медицинских организаций. В инфекционном ОРИТ больные иногда имеют возможность передвигаться по палате, тогда как хирургические пациенты в послеоперационном периоде круглосуточно находятся на постельном режиме и не касаются дверных ручек.

При исследовании контаминации микромицетами кожных покровов рук обнаружен значительно более низкий уровень ее у персонала хирургического отделения по сравнению с пациентами (в 6 раз), при этом доминируют дрожжевые грибы. Микромицеты вообще не были обнаружены на руках персонала инфекционного отделения.

При изучении этиологии плесневых грибов, содержащихся в воздушной среде инфекционной ОРИТ, выявлено наличие 3 родов: *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium sph.* Удельный вес рода *Aspergillus* составил 40,3%, *Penicillium* – 27,8%, *Cladosporium sph.* – 10,0%. Микромицеты других родов встречались в единичных случаях, их общая доля составила 21,9%.

В воздухе ОРИТ хирургического профиля наибольшая доля приходилась на грибы рода *Trichoderma viride* (43,0%). Представители рода *Aspergillus spp.* составляли 34,1%, *Penicillium spp.* – 19,6%. Микромицеты других родов встречались в единичных случаях.

Таким образом, в отделениях реанимации и интенсивной терапии различного профиля имеет место высокий уровень контаминации больничной среды микромицетами (доля положительных проб более 90%). Общая степень «грибковой нагрузки» сравниваемых ОРИТ не превышала допустимых значений

и не имела существенных различий. Она составила $66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³ в инфекционном отделении и $100,2 \pm 29,6$ КОЕ/м³ – в хирургическом, с преобладанием в воздухе плесневых грибов. В воздушной среде инфекционного ОРИТ наблюдается доминирование рода *Aspergillus spp.*, а в хирургическом – *Trichoderma viride*, доля их превышала 40%.

Руки медицинского персонала фактически не были контаминированы микромицетами.

В ОРИТ хирургического профиля как по уровню, так и интенсивности контаминации выявлено преобладание в воздухе плесневых грибов, а в смывах с объектов больничной среды – дрожжевых.

Особенностью микобиоты инфекционного ОРИТ является высокий уровень контаминации воздушной среды не только плесневыми, но и дрожжевыми микромицетами (по 100% в обоих случаях). При этом интенсивность загрязнения дрожжами воздуха и предметов больничной среды в 16 раз превышала таковую в ОРИТ хирургического профиля.

6.4. Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов

Оценка состояния контаминации микромицетами объектов внешней среды проводилась в специально организованном исследовании в медицинской организации инфекционного профиля для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов г.Перми в 2012 г. Отделение находится в составе Пермской краевой клинической инфекционной больницы, рассчитано на 80 коек круглосуточного пребывания и располагается в отдельном типовом 2-х этажном кирпичном здании. Исследование проводилось в осенне-зимний период. Общее количество проб, взятых для исследования, составило 76, в т.ч. 24 пробы воздуха и 52 смыва с объектов больничной среды.

При лабораторном исследовании объектов больничной среды обнаружено, что доля положительных проб на грибки составила $97,3 \pm 1,86\%$ (таблица 27).

Таблица 27 - Уровень контаминации микромицетами больничной среды инфекционного стационара (%)

Исследуемый объект	Количество проб				Микромицеты					
	Всего проб		«+» пробы		плесневые		дрожжевые		mixt	
	абс	% \pm m	абс	% \pm m	абс	% \pm m	абс	% \pm m	абс	% \pm m
Воздух	24	31,57 $\pm 9,48$	24	32,44 $\pm 9,55$	24	100*	3	12,5 $\pm 19,04$	3	12,5 $\pm 19,04$
Смывы	52	68,43 $\pm 6,44$	50	67,56 $\pm 6,62$	47	90,38* $\pm 4,30$	31	59,61 $\pm 8,81$	27	51,92 $\pm 9,61$
всего	76	100	74	97,36 $\pm 1,86$	71	93,42* $\pm 2,94$	34	45,94 $\pm 8,54$	30	40,54 $\pm 8,96$
Примечание - * достоверность различий уровня контаминации объектов больничной среды плесневыми грибами по сравнению с дрожжевыми, $p < 0,05$										

Удельный вес положительных проб воздуха составил $32,44 \pm 9,55\%$, смывов - $67,56 \pm 6,62\%$.

Анализ родовой структуры микромицетов показал, что в $93,4\%$ смывов с объектов внешней среды имеют место плесневые грибы, дрожжевые – в $45,3\%$, сочетание их – в $40,5\%$.

Плесневые грибы выявлялись во всех пробах воздуха (100%), а дрожжевые - лишь в 3 случаях ($12,5\%$), при этом все они были в сочетании с плесневыми.

Кроме того, обнаружено существенное преобладание доли плесневых микромицетов ($90,3 \pm 4,30\%$) по сравнению с дрожжевыми ($59,6 \pm 8,81\%$) также и

при исследовании смывов с объектов больничной среды ($t=3,13$; $p<0,05$). Доля проб с сочетанием плесневых и дрожжевых грибов составила $51,9\pm 9,61\%$.

Оценка уровня обсемененности грибами различных помещений инфекционного стационара показала, что максимальное количество положительных проб выявлено в палатах, где постоянно находятся ВИЧ-инфицированные пациенты - 78 ($57,8\pm 5,59\%$), что значительно превышало уровень контаминации в процедурном кабинете ($13,3\pm 8,01\%$), столовой ($10,37\pm 8,14\%$), сестринском кабинете ($9,6\pm 8,17\%$) и приемном покое ($8,88\pm 8,21\%$). Коэффициент вероятности колебался от 4,5 до 4,9; $p<0,05$ (таблица 28).

Таблица 28 - Уровень контаминации грибами различных помещений инфекционного стационара (%)

Наименование подразделения	Количество положительных проб					
	Из воздуха		Из смывов		Всего	
	Абс	% \pm m	Абс	% \pm m	Абс	% \pm m
Приемный покой	5	41,66 $\pm 22,04$	7	58,34 $\pm 18,63$	12	8,88* $\pm 8,21$
Процедурный кабинет	6	33,33 $\pm 19,24$	12	66,67 $\pm 13,60$	18	13,33* $\pm 8,01$
Сестринский кабинет	3	23,08 $\pm 24,32$	10	76,92 $\pm 13,32$	13	9,62* $\pm 8,17$
Палаты	13	16,66 $\pm 10,33$	65	83,34 $\pm 4,62$	78	57,80 $\pm 5,59$
Столовая	3	21,42 $\pm 23,68$	11	78,58 $\pm 12,36$	14	10,37* $\pm 8,14$
Примечание - * достоверность различий уровня контаминации помещений стационара по сравнению с палатами, $p<0,05$						

Сравнительная оценка уровня контаминации грибами различных предметов в помещениях инфекционного стационара (подоконников, кафельной плитки, дверных ручек, вентиляционных решеток, тумбочек пациентов) обнаружила, что во всех пробах имели место как плесневые, так и дрожжевые микромицеты.

Анализ этиологической структуры микромицетов выявил преобладание плесневых грибов во всех помещениях стационара (таблица 29). Доля их колебалась от $46,1 \pm 13,82\%$ в сестринском кабинете до $66,6 \pm 11,11\%$ в процедурном. При этом преимущественно они обнаруживались в пробах воздуха (от $60,0 \pm 21,90\%$ до 100%). В смывах же их доля была достоверно ниже ($t=2,44$; $p < 0,05$) и колебалась соответственно от $30,0 \pm 14,49\%$ до $50,0 \pm 20,41\%$.

Дрожжевые грибы обнаруживались чаще в смывах. Их доля в структуре положительных проб колебалась от $25,0\%$ в процедурном до $40,0\%$ в сестринском кабинете. В воздухе они либо отсутствовали (процедурный, сестринский кабинеты, столовая), либо доля их составляла от $15,38\%$ в палатах до $20,0\%$ в приемном покое.

Сочетание в пробах дрожжевых и плесневых грибов обнаружено преимущественно в смывах, при этом доля положительных mixed-проб во всех помещениях стационара была одинакова ($25-30\%$). В воздухе они обнаружены лишь в приемном покое и в палатах ($15,38\%-20,0\%$).

Таблица 29 - Уровень контаминации различными микромицетами
больничной среды в помещениях стационара (%)

Наименование подразделения	Дрожжевые				Песневые				Микт				Всего						
	Воздух		Смывы		Воздух		Смывы		Общие		Воздух			Смывы					
	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m					
Приемный покой	1	20,0 ±17,88	2	28,57± 17,07	3	25,0±1 2,5	3	60,0±2 1,90	3	42,8 5±18 ,70	6	50,0 ±14 ,43	1	20,0 ±17 ,88	2	28,5 7±1 7,0	3	25,0±12, 5	12(5:7)
Процедурный кабинет	0	0	3	25,0 ±12,5	3	37,5±1 1,41	6	100,0	6	50,0 ±20, 41	12	66,6 6±1 1,1 1	0	0	3	25,0 ±2, 5	3	16,6±8, 78	18(6:12)
Сестринский кабинет	0	0	4	40,0±1 5,49	4	30,76± 12,79	3	100	3	30,0 ±14, 49	6	46,1 5	0	0	3	30,0 ±14 ,49	3	23,07±1 1,68	13(3:10)
Палаты	2	15,38 ±10,0	18	27,69± 5,55	20	25,64± 4,94	31	69,23± 5,72	40	47,6 9±6, 19	51,2 8±5, 65	2	15,3 8±4, 47	16	24,6 1±5, 34	18	23,07±4, 77	78(13:65)	
Столовая	0	0	4	36,36± 14,50	4	28,57± 12,07	4	100	7	36,3 6±1 4,5	50,0 ±13 ,36	0	0	3	27,2 7±1 3,4	3	21,42±1 3,42	14(3:11)	
Итого	3	10,0 ±5,47	31	23,52 ±8,32	34	25,18 ±3,73	47	80,0±7 ,30	71	44,7 6±4, 85	52,5 5±4, 29	3	10,0 ±5,4 7	27	25,7 1±4, 26	30	22,22±3,5 7	135(30:1 05)	

Интенсивность контаминации воздушной среды микромицетами специализированного стационара равнялась в среднем $582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³. При этом выявлено существенное преобладание плесневых грибов над дрожжевыми ($1259,0 \pm 380,6$ против $1,56 \pm 0,6$ КОЕ/м³ соответственно) ($t > 2$, $p < 0,05$) (таблица 30).

Наиболее высокая степень обсемененности воздуха грибами имела место в палатах с круглосуточным пребыванием больных ($1500,0 \pm 527,8$ КОЕ/м³), при этом концентрация их была различной. Так, в палате, где лечился пациент с тяжелым ИК степень «грибковой нагрузки» более чем в 40 раз превышала таковую в палатах с пребыванием больных без инвазивных микозов ($8611 \pm 136,1$ против $205,6 \pm 72,7$ КОЕ/м³ соответственно) ($t > 2$, $p < 0,05$).

Таблица 30 - Интенсивность контаминации различными видами микромицетов воздушной среды помещений инфекционного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов (КОЕ/м³)

Наименование структурного подразделения	Общее (среднее) количество микромицетов в КОЕ/м ³ (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ/м ³ (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/м ³ (M±m)
Приемный покой	92,0±23,6	182,7±5,81*	1,33±0,33
Процедурный кабинет	67,0±16,1	134,0±12,1*	0
Сестринский кабинет	48,6±9,1	97,33±9,62*	0
Палаты	1500,0±307,8	3163,0±964,0*	3,88±0,9
Столовая	18,6±4,4	37,33±9,62*	0
Всего в ЛПУ	582,0±109,1	1259,0±210,6*	1,56±0,3

Примечание - * достоверность различий интенсивности контаминации воздушной среды плесневыми грибами по сравнению с дрожжевыми, $p < 0,05$

В тех помещениях стационара, где пребывание больных было непродолжительным, интенсивность контаминации грибами была значительно

ниже - от $18,6 \pm 6,4$ в столовой до $92,0 \pm 33,6$ КОЕ/м³ в приемном покое ($t > 2$, $p < 0,05$).

Микромицеты, выделенные из проб воздуха инфекционного стационара, были представлены в основном плесневыми грибами 3 родов: *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium*. Наибольший удельный вес приходился на *Aspergillus* (с доминированием *A.versicolor*) и *Cladosporium* (*C.sphaerospermum*), доля их соответственно составила 48,1% и 38,8%. Значительно меньший процент составляли грибы рода *Penicillium* (10,3%) и прочие виды (2,8%).

При сравнительном анализе этиологической структуры микромицетов, выделенных в различных помещениях стационара установлено, что в палатах они представлены преимущественно грибами рода *Aspergillus* (50,8%) и *Cladosporium* (42,8%) при минимальной доле грибов рода *Penicillium* (3,2%) и других (3,2%). В остальных помещениях (приемный покой, процедурный кабинет, столовая) наблюдалась иная картина: от 50,0% до 72,3% в этиологической структуре занимали грибы рода *Penicillium*.

Большое значение имеет изучение контаминации микромицетами различных предметов в помещениях стационара (вентиляционные решетки, тумбы пациентов, подоконники, раковины и др.). В пробах выявлялись как плесневые, так и дрожжевые грибы. Вместе с тем, интенсивность контаминации ими исследуемых предметов существенно различалась (таблица 31).

Оценка результатов лабораторного исследования смывов с объектов больничной среды показала, что доля колоний дрожжевых грибов на 1 дм² составила $99,65 \pm 0,01\%$ против $0,34 \pm 0,14\%$ плесневых.

Наибольшая интенсивность обсемененности дрожжевыми грибами выявлена на дверных ручках в палатах ($4755,0 \pm 1087,0$ КОЕ/дм²) и вентиляционных решетках ($23644,9 \pm 2139,0$ КОЕ/дм²). Достоверно более низкая концентрация микромицетов имела место на тумбах больных ($27,7 \pm 11,1$ КОЕ/дм²), подоконниках ($25,3 \pm 8,4$ КОЕ/дм²) и раковинах ($0,55 \pm 0,23$ КОЕ/дм²), где обнаружены лишь единичные колонии ($t > 2$, $p < 0,05$).

Таблица 31 - Интенсивность контаминации микромицетами различных объектов больничной среды инфекционного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов (КОЕ/дм²)

Наименование объектов	Общее (среднее) количество микромицетов в КОЕ/дм ² (M±m)	Плесневые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)	Дрожжевые грибы в КОЕ/дм ² (M±m)
Тумбочки	14,9±6,8	2,2±0,4	27,7±11,1
Дверные ручки	2380,0±926,0	4,75±1,2	4755,0±1087,0*
Раковины	1,77±0,6	3,0±1,0	0,55±0,23
Подоконник	18,5±3,4	11,67±3,1	25,3±8,4
Вентиляционные решетки	11864,0±1341,0	82,0±19,0	23644,9±2139,0 *
Руки пациентов	14,5±2,4	24,2±3,5	4,7±0,8
Руки персонала	1,3±0,1	2,6±0,4	0
Примечание - * достоверность различий интенсивности контаминации объектов больничной среды дрожжевыми грибами по сравнению с плесневыми, p<0,05			

Следует отметить, что в палате, где находился больной с ИК, интенсивность контаминации дрожжевыми микромицетами различных предметов превышала таковую в палатах с пребыванием пациентов без ИК: вентиляционных решеток – в 2,0 раза (25913,0±1984,0 против 12812,8±982,3 КОЕ/дм² соответственно), дверных ручек – в 1,8 раза (5104,5±920,0 против 2810,7±633,8 КОЕ/дм² соответственно), тумбочек – в 2,6 раза (41,0±12,1 против 15,4±3,6 КОЕ/дм² соответственно) (t>2, p<0,05).

Сравнительная оценка загрязненности микромицетами рук пациентов и персонала медицинской организации показала значительно более интенсивное загрязнение грибами рук ВИЧ-инфицированных пациентов (в 11 раз).

Итак, в больничной среде стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов имеет место высокий уровень контаминации микромицетами.

Удельный вес положительных проб равен $97,3 \pm 1,86\%$. Наиболее контаминированными микромицетами помещениями были палаты с круглосуточным пребыванием и процедурный кабинет, где непосредственно находятся пациенты и персонал.

В воздушной среде преобладали плесневые грибы, интенсивность контаминации ими составила $1259,0 \pm 210,6$ КОЕ/м³, что в 2,5 раза превышало пороговые значения.

Смывы с различных объектов больничной среды напротив, характеризовались высокой интенсивностью дрожжевых грибов, при этом лидировали дверные ручки в палатах и вентиляционные решетки.

Общая «грибковая нагрузка» объектов больничной среды зависела от сроков пребывания ВИЧ-инфицированных больных. В палате, где длительно находился пациент с тяжелым ИК, интенсивность контаминации дрожжевыми микромицетами была значительно выше, чем в других. Наименьшая обсемененность выявлена в помещениях с кратковременным пребыванием больных.

Интенсивность загрязнения рук ВИЧ-инфицированных больных в 11 раз превышала таковую у персонала.

6.5. Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды в медицинских организациях риска возникновения инвазивных микозов

Изучение состояния контаминации микромицетами объектов больничной среды проводилось в специально организованном исследовании в организациях, где на лечении находились пациенты с иммуносупрессией - больные ВИЧ-инфекцией, онкологическими, гематологическими заболеваниями, а также отделениях реанимации и интенсивной терапии хирургического и инфекционного профиля г.Перми. В качестве медицинской организации сравнения взят

родильный дом. Общее количество проб, взятых на исследование, составило 239, в т.ч. 90 проб воздуха и 149 смывов с объектов больничной среды.

Лабораторное исследование выявило высокий уровень контаминации микромицетами объектов внешней среды всех медицинских организаций. Удельный вес положительных проб варьировал от 100% в инфекционном ОРИТ до $85,4 \pm 5,5\%$ в гематологическом отделении. В инфекционном, онкологическом стационарах и ОРИТ хирургического профиля он был более 90% (соответственно $97,3 \pm 1,8\%$, $90,5 \pm 3,6\%$ и $91,0 \pm 4,1\%$). В родильном отделении уровень контаминации микромицетами равнялся $20,0 \pm 1,15\%$, что в 4-5 раз ниже по сравнению с изучаемыми организациями.

Сравнительный анализ интенсивности контаминации воздуха грибами стационаров показал, что наибольшая степень «грибковой нагрузки» имела место в инфекционном стационаре для ВИЧ-инфицированных больных ($582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³). Далее в порядке убывания расположились ОРИТ хирургического профиля ($100,0 \pm 29,6$ КОЕ/м³), ОРИТ инфекционного профиля ($66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³), онкологический ($19,4 \pm 7,2$ КОЕ/м³) и гематологический ($15,6 \pm 3,3$ КОЕ/м³) стационары. В родильном отделении многопрофильного стационара степень грибковой загрязненности воздуха составила $22,3 \pm 5,4$ КОЕ/м³ (таблица 32).

В этиологической структуре микромицетов, выявленных из воздушной среды, обнаружено существенное преобладание плесневых грибов над дрожжевыми во всех медицинских организациях – от 2,3 раза в инфекционном ОРИТ до 800 раз в отделении для ВИЧ-инфицированных больных.

Интенсивность контаминации воздуха плесневыми грибами оказалась максимальной в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных больных и ОРИТ хирургического и инфекционного профилей, показатели составляли $1259,0 \pm 210,6$; $197,9 \pm 44,1$ и $91,7 \pm 12,1$ КОЕ/м³ соответственно.

Следует отметить, что в стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов интенсивность контаминации плесневыми грибами воздушной среды в 2,5 раза превышала пороговые значения.

Таблица 32 - Интенсивность контаминации микромицетами воздушной среды различных медицинских организаций (КОЕ/м³)

Наименование профиля медицинских организаций	Общее количество микромицетов КОЕ/м ³ (M±m)	Плесневые грибы КОЕ/м ³ (M±m)	Дрожжевые грибы КОЕ/м ³ (M±m)
Инфекционный	582,0±109,1*	1259,0±210,6**	1,6±0,3***
Гематологический	15,6±3,3	32,8±7,1	2,5±0,8***
Онкологический	19,4±7,2	37,7±12,6	1,0±0,3***
ОРИТ инфекционного	66,0±7,9*	91,7±12,1**	40,1±5,7***
ОРИТ хирургического	100,2±29,6*	197,9±44,1**	2,5±1,2***
Родильное отделение	22,3±5,4	22,3±5,4	0
<p>Примечание - * достоверность различий интенсивности контаминации воздушной среды медицинских организаций микромицетами в сравнении с родильным отделением, p<0,05</p> <p>- ** достоверность различий интенсивности контаминации воздушной среды медицинских организаций плесневыми микромицетами в сравнении с родильным отделением, p<0,05</p> <p>- *** достоверность различий интенсивности контаминации воздушной среды медицинских организаций дрожжевыми микромицетами в сравнении с родильным отделением, p<0,05</p>			

В гематологическом и онкологическом отделениях эти показатели существенно не отличались от интенсивности контаминации медицинской организации контроля и не превышали пороговых значений. Доминирование плесневых грибов в воздухе больничных помещений может быть обусловлено такими факторами, как давность постройки и их состояние, наличие текущего ремонта и биоповреждений, повышенной влажностью, затрудненным воздухообменом, нарушением системы вентиляции и т.д. Важную роль играет

запыленность воздуха, в котором содержатся споры грибов диаметром от 2,5 до 5 мкм, позволяющего им достигать легочных альвеол человека.

Плесневые микромицеты имеют способность долгое время находиться во взвешенном состоянии в воздухе, обладают высокой устойчивостью к дезинфицирующим препаратам и могут сохранять жизнеспособность во время ежедневных уборок в медицинских организациях. Наиболее высокая интенсивность контаминации воздуха плесневыми грибами была обнаружена в отделении для ВИЧ-инфицированных больных, а также в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Степень «грибковой нагрузки» воздушной среды в них в 4-56 раз превышала таковую в гематологическом, онкологическом и родильном отделениях. Следует отметить, что в воздухе всех изучаемых медицинских организаций обнаруживались лишь единичные колонии дрожжевых грибов, в воздушной среде родильного дома они отсутствовали. В ОРИТ же инфекционного профиля интенсивность контаминации воздуха дрожжевыми микромицетами была наиболее высокой и составляла $40,1 \pm 5,7$ КОЕ/м³.

Итак, среди всех медицинских организаций в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных больных обнаружена наиболее высокая интенсивность контаминации воздушной среды как плесневыми, так и дрожжевыми грибами.

В этиологической структуре плесневых грибов, которые содержатся в воздухе стационаров, выявлено доминирование 2-х родов: *Aspergillus spp.*, удельный вес которых варьировал от 7,8 до 48,0% и *Penicillium spp.* (10,3 - 49,7%). В медицинских организациях больных инфекционного профиля (отделение для ВИЧ-инфицированных и ОРИТ инфекционного профиля) кроме вышеуказанных, были обнаружены микромицеты рода *Cladosporium spp.*, доля которых колебалась от 10,3% до 38,8%. В гематологическом отделении ведущее место занимали грибы рода *Rhizopus spp.* (36,0%), а в ОРИТ хирургического профиля – *Trichoderma spp.* (43,0%). В родильном отделении, представляющем организацию сравнения, наибольший удельный вес приходился *Cladosporium spp.* (62,5%).

В смывах с предметов больничной среды стационаров гематологического, онкологического и инфекционного профилей, в отличие от воздуха, было обнаружено преобладание дрожжевых грибов над плесневыми, доля их колебалась от $90,9 \pm 8,6\%$ до 100%.

В смывах с различных предметов (аппараты ИВЛ, вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, раковины, подоконники, тумбочки пациентов, рабочие столы персонала, руки пациентов и среднего медицинского персонала) наиболее высокая степень обсемененности дрожжевыми грибами обнаружена на аппаратах ИВЛ, дверных ручках, тумбочках пациентов и вентиляционных решетках. На остальных изучаемых объектах обнаруживались лишь единичные колонии дрожжевых грибов (таблица 33).

Таблица 33 - Интенсивность контаминации дрожжевыми микромицетами в смывах с объектов больничной среды медицинских организаций (КОЕ/дм²)

Наименование профилей мед. организаций	Вентиляционные решетки	Дверные ручки	Тумбочки пациентов	Аппарат ИВЛ
Инфекционный	23644,9±2139,0*	4755,0±1087,0	27,7±11,1	-
Гематологический	682,8±179,8	177,1±50,2	56,6±26,4	-
Онкологический	6812,0±1394,0	943,9±345,1	2427,0±129,3	-
ОРИТ инфекционного	90954,0±2154,0*	356,0±2,3	823,0±10,1	829,0±6,3
ОРИТ хирургии	1280,0±238,2	0	598,0±60,8	730,0±5,7
Родильное	0	0	0	-

Примечание - * достоверность различий интенсивности контаминации объектов больничной среды медицинских организаций дрожжевыми грибами, $p < 0,05$

Вентиляционные решетки оказались наиболее загрязненными дрожжевыми микромицетами в инфекционном отделении для ВИЧ-инфицированных и ОРИТ инфекционного профиля ($23644,9 \pm 2139$ КОЕ/дм² и $90954,0 \pm 2154,0$ КОЕ/дм² соответственно). Эти показатели были существенно ниже (в 13,5 – 133 раза) в хирургическом ОРИТ, онкологическом и гематологическом отделениях. Нерегулярная и недостаточная обработка вентиляционных решеток в связи с затрудненным доступом к ним характерна для всех сравниваемых медицинских организациях. Между тем, наиболее интенсивное загрязнение их отмечается в отделениях с пребыванием ВИЧ-инфицированных больных.

Интенсивность контаминации дрожжевыми грибами дверных ручек в палатах отделения для ВИЧ-инфицированных пациентов в 5-26 раз выше таковой в других изучаемых медицинских организациях. Это может быть обусловлено массивной колонизацией биотопов больных ВИЧ-инфекцией дрожжевыми грибами и выделением их в больничную среду.

Загрязненность дрожжевыми грибами тумбочек пациентов варьировала от $27,7 \pm 11,1$ в инфекционном отделении до $2427,0 \pm 129,3$ КОЕ/дм² в онкологическом, а дверных ручек - от $177,1 \pm 50,2$ в гематологии до $4755,0 \pm 1087,0$ КОЕ/дм² в инфекционном стационаре.

В ОРИТ инфекционного хирургического профилей высокая степень обсемененности дрожжевыми микромицетами выявлена также на аппаратах ИВЛ ($730,0 \pm 5,7$ и $829,0 \pm 6,3$ КОЕ/дм² соответственно).

В родильном отделении в смывах с поверхностей предметов дрожжеподобные грибы не обнаруживались.

Выявлен очень низкий уровень контаминации микромицетами рук персонала (единичные колонии). У пациентов же эти показатели колебались от $5,4 \pm 1,9$ до $59,3 \pm 15,1$ КОЕ/дм², при этом везде доминировали дрожжевые грибы. Следовательно, загрязненность ими рук медицинского персонала изучаемых отделений в 6-12 раз ниже, чем у пациентов, что обусловлено нормальным иммунным статусом медицинских работников, большей приверженностью их обработке рук, соблюдением санитарно-противоэпидемического режима.

Таким образом, высокий уровень контаминации больничной среды микромицетами установлен во всех медицинских организациях для пациентов групп риска возникновения инвазивных микозов, удельный вес положительных проб превысил 85%. Интенсивность контаминации воздуха плесневыми грибами была наиболее высока в инфекционном стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов ($1259,0 \pm 210,6$ КОЕ/м³), что значительно превышало показатели родильного отделения ($22,3 \pm 5,4$ КОЕ/м³) ($t > 2$, $p < 0,05$).

В микобиоте воздушной среды всех стационаров присутствуют плесневые грибы родов *Aspergillus spp.* и *Penicillium spp.* Отличительными особенностями является наличие других микромицетов в зависимости от профиля: в инфекционном - плесневых грибов рода *Cladosporium spp.*, в гематологическом - *Rhizopus spp.*, в ОПИТ хирургии – *Trichoderma spp.*

В смывах с предметов больничной среды медицинских организаций выявлено существенное преобладание дрожжевых грибов. Во всех изучаемых стационарах наиболее интенсивно загрязненными этими микромицетами оказались аппараты ИВЛ, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов и вентиляционные решетки. В специализированном отделении для больных с ВИЧ-инфекцией имело место многократное превышение интенсивности контаминации предметов больничной среды.

Обращает на себя внимание, что среди всех изучаемых медицинских организаций для пациентов с иммуносупрессией, больничная среда отделения для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов является наиболее загрязненной как плесневыми, так и дрожжевыми микромицетами. Это дает возможность отнести его к числу наиболее потенциально опасных для возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи грибковой этиологии. В целях своевременной и эффективной диагностики, лечения и профилактики грибковых инфекций, необходим микологический мониторинг больничной среды с оценкой не только общей микробной контаминации, но и уточнением их родовой и видовой принадлежности.

Таким образом, эпидемиологический анализ контаминации микромицетами больничной среды медицинских организаций для пациентов групп риска возникновения инвазивных микозов выявил высокий ее уровень, доля положительных проб превышала $85,4 \pm 5,5\%$. В отделении для ВИЧ-инфицированных она составила $97,3 \pm 1,8\%$.

В воздушной среде преобладали плесневые грибы, а в смывах – дрожжевые. Наиболее загрязненными дрожжевыми микромицетами оказались аппараты ИВЛ, дверные ручки, тумбочки пациентов и вентиляционные решетки.

Среди всех изучаемых медицинских организаций для лечения пациентов групп риска возникновения инвазивных микозов самой загрязненной как плесневыми, так и дрожжевыми микромицетами оказалась больничная среда специализированного стационара для пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Степень «грибковой нагрузки» зависела от сроков нахождения ВИЧ-инфицированных пациентов в разных помещениях стационара, а также тяжести состояния больных и их диагноза. Кроме того, обсемененность дрожжами рук пациентов была значительно выше в сравнении с медицинским персоналом.

Между тем, новые санитарные правила 2010 г. не предусматривают контроль грибковой нагрузки объектов больничной среды медицинских организаций.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости совершенствования профилактики внутрибольничных грибковых инфекций, организации эпидемиологического надзора, регулярного и тщательного микологического мониторинга объектов больничной среды с учетом родовой и видовой принадлежности микромицетов в медицинских организациях групп риска развития инвазивных микозов.

ГЛАВА 7. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ В СТАЦИОНАРЕ ДЛЯ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

В ранее проведенных нами исследованиях (глава 6) доказано, что стационар для ВИЧ-инфицированных больных относится к учреждениям высокого риска по инвазивным микозам. Это обстоятельство привело к необходимости выполнения проспективного исследования, направленного на изучение механизмов развития инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов.

7.1. Изучение циркуляции микромицетов *Cryptococcus neoformans* среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды специализированного стационара в разные периоды эпидемиологического благополучия

Исследование выполнялось в 2014-2015 гг. при нахождении в стационаре пациентов с генерализованным криптококкозом и без него.

На первом этапе (2014 г.) в эпидемически благополучный по криптококкозу период было проведено специальное обследование 132 пациентов и 109 объектов внешней среды. Исследовано 468 образцов клинического материала из «стерильных» (ликвор – 19, кровь – 87) и «нестерильных» в норме биосубстратов (ротовая жидкость - 123, секрет верхних дыхательных путей - 114, моча - 65, жидкость цервикального канала – 32, кал - 28). В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах изучены 18 проб воздуха и 99 смывов с поверхностей предметов (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов, раковины, подоконники, раковины, прикроватные ручки, постельные принадлежности больных). Дополнительно исследовано 42 смыва с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

На 2-ом этапе (2015 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения изучена циркуляция *C.neoformans* среди пациентов и в больничной среде стационара при нахождении там больных криптококковой инфекцией. Исследованием охвачено 40 человек, из них 6 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом генерализованный криптококкоз, и 36 пациентов, контактировавших с ними. Изучено 257 проб клинического материала, включая кровь – 53, секрет верхних дыхательных путей – 48, ротовую жидкость - 46, ликвор – 34, кал – 34, мочу - 27, жидкость цервикального канала - 15. Аналогично 1 этапу исследования были отобраны пробы с объектов внешней среды, в их числе 15 проб воздуха, 115 смывов с поверхностей и 38 смывов с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

На первом этапе исследования при отсутствии в стационаре пациентов с генерализованным криптококкозом эти микромицеты не были обнаружены ни в клинических материалах, ни в пробах, отобранных с объектов больничной среды.

На втором этапе исследования при нахождении в стационаре пациентов с криптококкозом, микромицеты *C. neoformans* обнаруживались только в «стерильных в норме» локусах больных, в т.ч. в крови – в 4 случаях, в ликворе – в 12. В отделяемом из «нестерильных в норме» биотопов (ротовая жидкость, мокрота, моча, кал, секрет цервикального канала) и на коже больных криптококковой инфекцией эти возбудители не выявлялись. Криптококки не были обнаружены в клинических материалах ни у одного пациента, контактировавшего с больными этим микозом, ни на предметах больничной среды, ни в воздухе.

Таким образом, установлено, что больные криптококкозом не являются источником возбудителя заболевания, а больничная среда - его резервуаром. Очевидно, заражение ВИЧ-инфицированных пациентов происходит вне лечебного учреждения.

7.2. Изучение циркуляции *C. albicans* среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды специализированного стационара в разные периоды эпидемиологического благополучия по инвазивному кандидозу с оценкой биологических свойств возбудителя, характеризующих его патогенные свойства

По результатам проведенных нами исследований, в развитии инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных ведущая этиологическая роль принадлежит именно *C. albicans* (86,9±4,97%). Этот вид микромицетов до настоящего времени признан наиболее патогенным, так как обладает выраженной способностью к адгезии и инвазии [44,54], прежде всего за счет выработки ферментов фосфолипазы и протеиназы. Учитывая это, нами проведено изучение наличия взаимосвязи между уровнем и интенсивностью колонизации ВИЧ-инфицированных пациентов и контаминации больничной среды микромицетами *C. albicans* в разные периоды эпидемиологического благополучия с целью выяснения механизмов развития эпидемического процесса инвазивного кандидоза.

На первом этапе (2012 г.) в эпидемически благополучный по инвазивному кандидозу период был проведен ретроспективный эпидемиологический анализ 1417 медицинских карт (с целью активного поиска *C. albicans*) и дополнительно организовано специальное обследование 138 ВИЧ-инфицированных пациентов и 76 объектов больничной среды специализированного стационара. Обследование больных включало клинические, микробиологические и инструментальные методы. Исследовано 782 образца клинического материала из «стерильных» (ликвор – 22, кровь – 201) и «нестерильных» в норме биосубстратов (ротовая жидкость - 302, секрет верхних дыхательных путей - 95, секрет цервикального канала – 67, моча - 51, кал - 44). В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах исследованы 24 пробы воздуха и 36 смывов с поверхностей предметов (вентиляционные решетки, дверные ручки в

палатах, тумбочки пациентов, прикроватные ручки, раковины, подоконники). Дополнительно взято 16 смывов с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

На 2-ом этапе (июль 2013 г. - октябрь 2014 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения изучена циркуляция *C.albicans* в эпидемическом очаге ИК. Исследованием охвачен 21 человек, из них 3 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом ИК, вызванный *C.albicans* и 18 пациентов, контактировавших с ними. Изучено 139 проб клинического материала, включая кровь – 29, ликвор – 6, ротовую жидкость - 35, секрет верхних дыхательных путей – 27, мочу - 15, секрет цервикального канала - 13, кал - 14. Аналогично 1 этапу исследования были отобраны пробы с объектов внешней среды, в их числе 18 проб воздуха, 91 смыв с поверхностей. Взято 42 смыва с рук ВИЧ-инфицированных пациентов. Всего исследовано 109 образцов. У части выделенных штаммов *C.albicans* (64 изолята: 34 из клинического материала и 30 с объектов внешней среды) изучали фосфолипазную и протеиназную активность.

На первом этапе исследования в эпидемически благополучный период (при отсутствии в стационаре пациентов с ИК) у 83,9±1,6% пациентов обнаруживались *C.albicans*. Наибольшая доля положительных находок наблюдалась в секрете верхних дыхательных путей и ротовой жидкости (таблица 34).

Таблица 34 - Встречаемость *C.albicans* в клинических материалах в эпидемически благополучный по инвазивному кандидозу период (абс/%)

Клин.материал		Ротовая жидкость	Секрет верх.дых.путей	Кровь	Ликвор	Моча	Секрет церв.канала	Кал	итого
Число проб		302	95	201	22	51	67	44	782
В т.ч. <i>C. albicans</i>	Абс.	244	59	0	0	3	4	4	314
	% М±m	80,7±2,27	62,1±4,97	0	0	5,8±3,27	5,9±2,87	9,0±4,31	40,1±1,75

Наиболее высокий уровень колонизации *C.albicans* был выявлен в «открытых» локусах, которые непосредственно связаны с внешней средой (верхние дыхательные пути и ротоглотка) (рисунок 46). Значительно меньше были колонизированы кандидами кишечник и урогенитальный тракт, т.е. «условно закрытые» локусы, имеющие отдаленный контакт с внешней средой на протяжении от входных ворот. Они составляют внутреннюю среду организма человека и представляют в большей мере его собственную микрофлору. Одновременно из нескольких локусов *C.albicans* выделялись в $19,1\pm 1,96\%$ случаев. При исследовании рук ВИЧ-инфицированных пациентов *C.albicans* были обнаружены в $50,0\pm 2,65\%$ случаев. Интенсивность контаминации равнялась $8,75\pm 1,23$ КОЕ/дм².

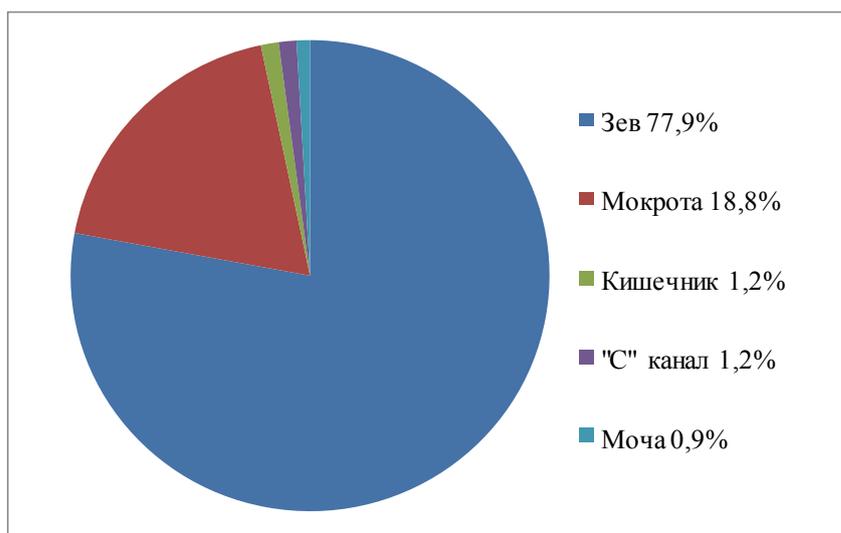


Рисунок 46 - Распределение *C.albicans* по видам биологического материала от пациентов в эпидемически благополучный период (%)

Удельный вес положительных проб с объектов внешней среды на грибы в целом составил $97,3\pm 1,86\%$. В этиологической структуре микромицетов, выделенных как из клинического материала, так и с объектов больничной среды, преобладали *C.albicans*. Средний уровень контаминации *C. albicans* объектов внешней среды специализированного стационара ($36,8\pm 3,53\%$) достоверно не

отличался от уровня колонизации различных локусов ВИЧ-инфицированных больных ($40,1 \pm 1,75\%$) ($t < 2$; $p > 0,05$).

Наибольшее число положительных находок обнаруживалось на тумбочках больных, дверных и прикроватных ручках ($30,3 \pm 6,01$; $41,2 \pm 5,24$ и $15,6 \pm 3,62\%$ соответственно). Интенсивность контаминации этих предметов больничной среды составила $284,4 \pm 26,4$; $117,5 \pm 9,16$ и $73,3 \pm 6,05$ КОЕ/дм² соответственно.

В эпидемических очагах ИК, обусловленного *C.albicans*, колонизация этими микромицетами ВИЧ-инфицированных пациентов, контактировавших с больными, составила 100% (таблица 35).

Таблица 35 - Встречаемость *C.albicans* в клинических материалах пациентов, контактировавших с больными в очагах инвазивного кандидоза (абс/%)

Клин.материал		Ротовая жидкость	Секрет вер.дых.путей	Кровь	Ликвор	Моча	Секрет церв. канал	кал	итого
Число проб		31	27	29	6	11	12	13	129
В т.ч. <i>C. albicans</i>	Абс.	31	19	0	0	2	3	5	60
	% M±m	100	70,3±8,79	0	0	18,1± 11,66	25,0± 12,5	38,4± 13,48	46,5± 4,39

Средний уровень колонизации различных локусов *C. albicans* несколько увеличился по сравнению с 1 этапом исследования и был равен $46,5 \pm 4,39\%$ ($t < 2$; $p > 0,05$). Следует обратить внимание, что в эпидемических очагах ИК имел место рост уровня колонизации кандидами всех локусов, как «открытых», так и «условно закрытых» ($t > 2$, $p < 0,05$). Темп прироста показателей колебался от 11,6% до 76,5% (рисунок 47).

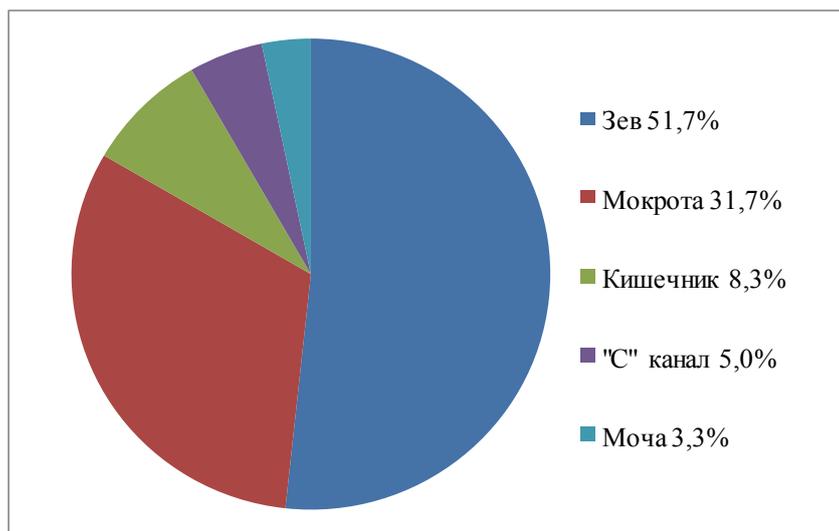


Рисунок 47 - Распределение *C.albicans* по видам биологического материала пациентов, контактировавших с больными в эпидемических очагах инвазивного кандидоза (%)

Значительно возросла (с $19,1 \pm 1,96\%$ до $57,1 \pm 10,8\%$) доля пациентов, у которых *C. albicans* одновременно выделялись из двух и более локусов ($t=3,4$, $p<0,05$), что является фактором риска развития ИК [57,107].

Уровень контаминации *C.albicans* объектов больничной среды в эпидемических очагах ИК составил $47,3 \pm 2,06\%$ и превысил показатель контаминации в эпидемически благополучный период - $36,8 \pm 3,53\%$ ($t>2$, $p<0,05$) (рисунок 48). Наиболее загрязненными предметами оказались дверные ручки и тумбы в палатах - $60,0 \pm 7,14\%$ и $53,3 \pm 8,23\%$ соответственно. Контаминация прикроватных ручек равнялась $28,6 \pm 2,70\%$; вентиляционных решеток - $12,5 \pm 1,16\%$. Эти показатели были достоверно выше таковых на 1 этапе исследования ($t>2$, $p<0,05$). При исследовании рук ВИЧ-инфицированных *C.albicans* выявлены в $64,5 \pm 6,31\%$ проб, это на 29% выше показателя 1 этапа.



Рисунок 48. Показатели (%) колонизации ВИЧ-инфицированных пациентов и контаминации объектов больничной среды *C.albicans* в эпидемически благополучный период и в очагах инвазивного кандидоза.

Наиболее высокой была интенсивность контаминации тумб пациентов ($399,5 \pm 48,3$ КОЕ/дм²), дверных ($163,3 \pm 14,8$ КОЕ/дм²) и прикроватных ручек ($101,9 \pm 9,7$ КОЕ/дм²), что также превышало показатели эпидемически благополучного периода (рисунок 49).

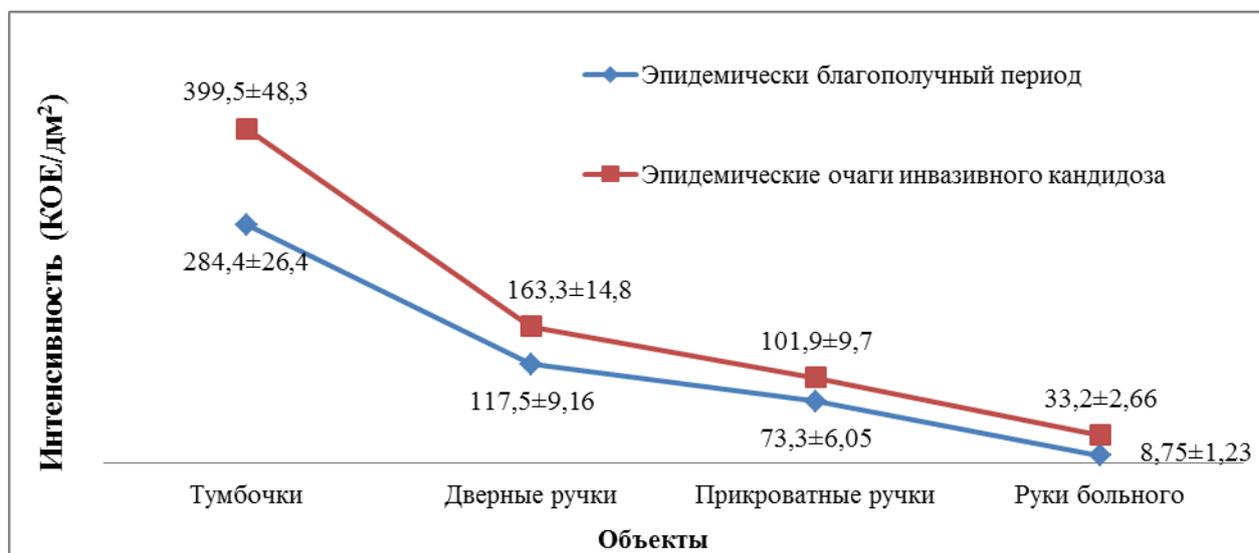


Рисунок 49. Интенсивность колонизации рук ВИЧ-инфицированных пациентов и контаминации объектов больничной среды *C.albicans* в эпидемически благополучный период и в очагах инвазивного кандидоза.

Степень инфицирования рук пациентов в очагах ИК была в 4 раза выше, чем у пациентов в эпидемически благополучный период и равнялась $33,2 \pm 2,66$ КОЕ/дм² против $8,75 \pm 1,23$ КОЕ/дм². Несмотря на высокий уровень (100%) и интенсивность ($23644,9 \pm 2139,0$ КОЕ/дм²) обсемененности вентиляционных решеток дрожжевыми грибами в целом, удельный вес *C.albicans* среди них составил всего $8,3 \pm 1,16\%$, а интенсивность контаминации - $23,3 \pm 2,31$ КОЕ/дм². На раковинах для мытья рук в палатах обнаруживались лишь единичные колонии *C.albicans*.

Таким образом, самая высокая обсемененность *C.albicans* выявлена на тех предметах больничной среды, с которыми непосредственно контактируют ВИЧ-инфицированные пациенты. Руки и полость рта большинства из них колонизированы кандидами, которые были выявлены на дверных и прикроватных ручках в палатах, тумбочках. Очевидно, при нерегулярной и недостаточно качественной обработке этих предметов *C.albicans* могут сохраняться в окружающей среде длительное время, обеспечивая распространение кандидоза среди пациентов.

ФЛА обнаружена у 35 изолятов ($54,7 \pm 6,22\%$), из них с объектов больничной среды выделено $45,7 \pm 12,4\%$, от пациентов - $54,3 \pm 11,4\%$. Зона преципитации вокруг колоний, выделенных из внешней среды, составила в среднем $1,5 \pm 0,06$ мм (Кв $2,5 \pm 0,17$); у колоний, полученных от пациентов - $1,6 \pm 0,03$ мм (Кв $2,5 \pm 0,15$). Статистически значимых различий не выявлено ($t < 2$; $p > 0,05$). Отечественные ученые в своих работах приводят данные о ФЛА *C.albicans* при различных формах вагинального кандидоза у женщин без ВИЧ-инфекции, коэффициент вирулентности у них не превышал 0,9 [53]. По результатам нашего исследования установлена значительно более высокая ФЛА *C.albicans*, выделенных в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных ($t > 10$, $p < 0,05$), что свидетельствует об их большей патогенности.

ПА обладали 42 штамма *C.albicans* ($65,6 \pm 5,93\%$). Из них $35,8 \pm 12,3\%$ выделено от пациентов, $64,2 \pm 9,0\%$ - с объектов больничной среды. Зона

разжижения питательного агара вокруг колоний и коэффициенты вирулентности равнялись, соответственно, $0,58 \pm 0,04$ мм (Кв $1,40 \pm 0,10$) и $0,59 \pm 0,04$ мм (Кв $1,41 \pm 0,13$) ($t < 2$; $p > 0,05$).

В процессе исследования установлено, что одна третья часть изучаемых штаммов *C.albicans* ($29,7 \pm 5,71\%$) обладала одновременно ФЛА и ПА, из них $42,1 \pm 11,33\%$ получено от ВИЧ-инфицированных больных, а $57,9 \pm 11,32\%$ - с объектов больничной среды. Они являются наиболее агрессивными и представляют особую опасность в отношении возникновения ИК.

Обнаружено, что ФЛА штаммов, которые выделены от пациентов с доказанным диагнозом ИК, была достоверно выше таковой у штаммов пациентов без ИК (Кв $2,73 \pm 0,19$ против $2,28 \pm 0,09$ соответственно; $t > 2$, $p < 0,05$).

Таким образом, установлено, что микрофлора больничной среды и «открытых» локусов пациентов и представляют единую систему, в которой происходит обмен микромицетами. Выявлена прямая зависимость уровня и интенсивности контаминации больничной среды *C.albicans* и колонизации ВИЧ-инфицированных больных. В эпидемических очагах ИК показатели колонизации пациентов и контаминации внешней среды *C.albicans* выше, чем в эпидемически благополучный период. Источниками штаммов *C.albicans* с высокой ферментативной активностью являются ВИЧ-инфицированные больные с ИК.

Характерными признаками «эпидемического неблагополучия» по ИК в стационаре для ВИЧ-инфицированных являются увеличение показателей контаминации больничной среды, колонизации кандидами с высокой ферментативной активностью не только «открытых», но и «условно закрытых» локусов, а также рост числа пациентов с массивной колонизацией 2-х и более локусов одновременно.

7.3. Обоснование контактно-бытового пути передачи инвазивного кандидоза, вызванного *C.albicans* в условиях специализированного стационара (молекулярно-генетическое исследование)

В условиях высокого уровня загрязнения больничной среды микромицетами в стационаре для ВИЧ-инфицированных, длительность пребывания там пациентов способствует их колонизации внутрибольничными штаммами [65]. Решение некоторых вопросов по эпидемиологии внутрибольничных кандидозов ВИЧ-инфицированных пациентов, таких как установление резервуаров, источников и путей передачи инфекции, особенности циркуляции *C. albicans* в больничной среде, без применения современных молекулярных методов исследования не представляется возможным. Наряду с этим, самостоятельный интерес представляет генотипическая характеристика *C. albicans*, выделенных с предметов больничной среды и от пациентов специализированного стационара.

Нами изучены и дана молекулярно-генетическая и микробиологическая характеристика культур *C. albicans*, изолированных в стационаре для ВИЧ-инфицированных больных с оценкой их эпидемиологической значимости. Исследовано 70 штаммов *C. albicans*, полученных от пациентов и с объектов внешней среды в специализированном отделении Пермской краевой инфекционной больницы в июле 2013 г. (скрининговое исследование) и в октябре 2014 г. (проспективное эпидемиологическое наблюдение). Из них 45 штаммов выделены от 19 пациентов (колонизация и инфекция), 25 штаммов – с предметов больничной среды (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки больных).

При оценке распространенности кандид на коже и в зеве пациентов с ВИЧ-инфекцией выявлено их существенное преобладание в зеве ($p=0,0199$). В крови *C. albicans* встречались значительно реже, по сравнению с другими биотопами ($p<0,005$).

Генетическая дискриминация на основе 25S рРНК дала возможность распределить все культуры *C. albicans* в четыре геномогруппы: генотип А (450 п.н.), генотип В (840 п.н.), генотип С (450 и 840 п.н.), а также генотип D (1080 п.н.) (Рисунок 50).

М В D А А А D D D В С С В С В А А А М А D А А А А А А А В D А А А А А

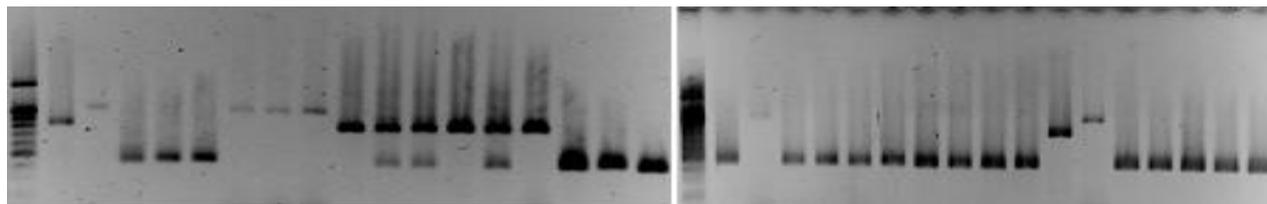


Рисунок 50 - Пример электрофореграмм продуктов амплификации интронной области 25S рРНК *C. albicans*: М – маркер молекулярных масс 100 bp + 1,5 kb; А, В, С, D – определенный генотип клинического изолята (n=34)

Встречаемость кандид генотипов А, В, С и D составила соответственно 58,6; 10,0; 18,6 и 12,8% (таблица 36). Грибы *C. albicans*, относящиеся к генотипу А, преобладали как в группе изолятов с предметов больничной среды (84%), так и среди пациентов (44,5%). Группа кандид с генотипом С была второй по значимости, представители генотипов В и D - самыми малочисленными, при этом последние обнаруживались только в экологических биотопах (кожа, верхние дыхательные пути), но не при инвазивном кандидозе. Установлено, что штаммы *C. albicans*, относящиеся к различным генотипам, за исключением генотипа D, могут сохраняться/циркулировать на объектах больничной среды (дверные ручки в палатах, тумбочки, вентиляционные решетки).

При оценке встречаемости различных генотипов *C. albicans* в материалах с объектов больничной среды и ВИЧ-инфицированных пациентов выявлено, что культуры генотипа А значительно чаще выделяли с предметов больничной среды ($p=0,0013$), а генотипа D – от пациентов ($p=0,0141$). Но преимущественного сайта выделения у культур, принадлежащих к определенному генотипу, при сравнении взятых биотопов (кожные покровы и другие, зев и другие и т.д.) не обнаружено ($p>0,05$). Вместе с тем, анализ распределения кандид в биотопах на основе их

генотипа показал, что *C. albicans* А встречаются достоверно чаще у пациентов и предметах больничной среды, по сравнению с другими ($p < 0,05$).

Таблица 36 - Распределение штаммов *C. albicans*, относящихся к различным генотипам по 25S рРНК, с учетом источника выделения

Источник выделения	Число штаммов (n/%)				
	Общее	Генотип			
		А	В	С	Д
Пациенты всего	45	20/44,5	6/13,3	10/22,2	9/20,0
зев	26	9/34,6	3/11,5	8/30,8	6/23,1
кожные покровы	15	8/53,3	2/13,3	2/13,3	3/20,0
кровь	4	3/75,0	1/25,0	-	-
Предметы больничной среды	25	21/84,0	1/4,0	3/12,0	-
Всего	70	41/58,6	7/10,0	13/18,6	9/12,8

Нами проведена оценка биологических свойств *C. albicans*, представляющие разные генотипы. Уровень ФЛА ($M \pm m$) составил $2,86 \pm 0,38$, $2,52 \pm 0,31$, $2,49 \pm 0,35$ и $1,86 \pm 0,48$ усл. ед. для культур генотипов А, В, С и Д соответственно. ПА для соответствующих групп была равна $1,4 \pm 0,56$, $1,33 \pm 0,33$, $1,72 \pm 0,86$ и $1,24 \pm 0,15$ усл. ед. Установлена умеренная корреляция между данными свойствами ($r = 0,5046$; $p = 0,05$). Следует отметить, что культуры генотипа Д обладали наименьшей ферментативной активностью в обоих случаях, хотя разница с кандидами других генотипов оказалась не существенной во всех вариантах ($M-U$ test: $p > 0,05$). Культуры этого генотипа присутствуют как транзиторная факультативная микрофлора у ВИЧ-инфицированных пациентов, не всегда вызывая возникновение заболевания.

Специальное исследование было посвящено оценке длительности циркуляции *C. albicans* в стационаре и выявлению эпидемиологических связей. Результаты анализа 38 штаммов, полученных в два этапа из разных локусов пациентов в 2014 г., показали, что при поступлении у 11-и человек во всех материалах обнаружены культуры одного генотипа, у трех человек – культуры разных генотипов. Спустя неделю у 50% обследуемых пациентов мы наблюдали изменение генотипа кандид. При этом в 5 случаях к уже имеющимся, присоединились штаммы, принадлежащие к другому генотипу, а в двух – произошла полная смена культур.

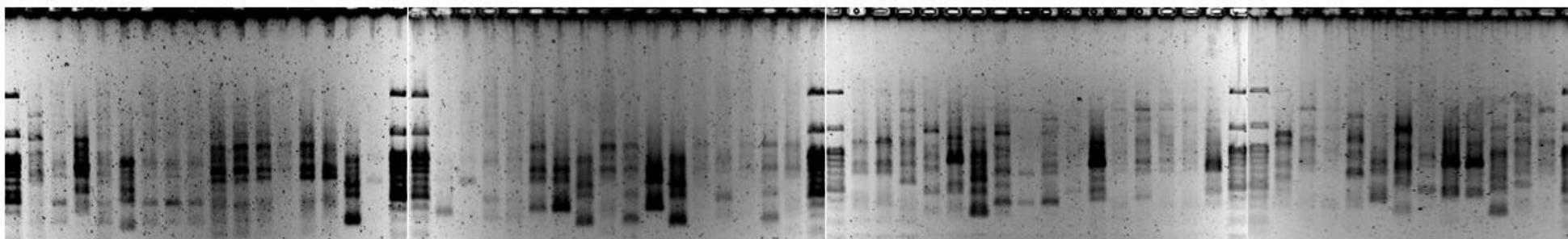
Таким образом, во всех материалах, полученных из различных локусов пациента, в большинстве случаев присутствовали штаммы сходного генотипа, что подтверждает возможность эндогенного инфицирования пациентов *C. albicans*. С другой стороны, одновременно от одного больного были выделены штаммы, относящиеся к разным генотипам, что в условиях массивной контаминации кандидами больничной среды стационара вполне объяснимо.

Молекулярный скрининг, направленный на внутривидовое дифференцирование выделенных культур, проводили с помощью технологии Рер-ПЦР, которая хорошо себя зарекомендовала для типирования кандид. Для общей характеристики и составления геномогрупп использовали ERIC-ПЦР, в сомнительных случаях для улучшения дискриминации применяли RAPD-ПЦР с тремя праймерами, что является обязательным при данном способе типирования.

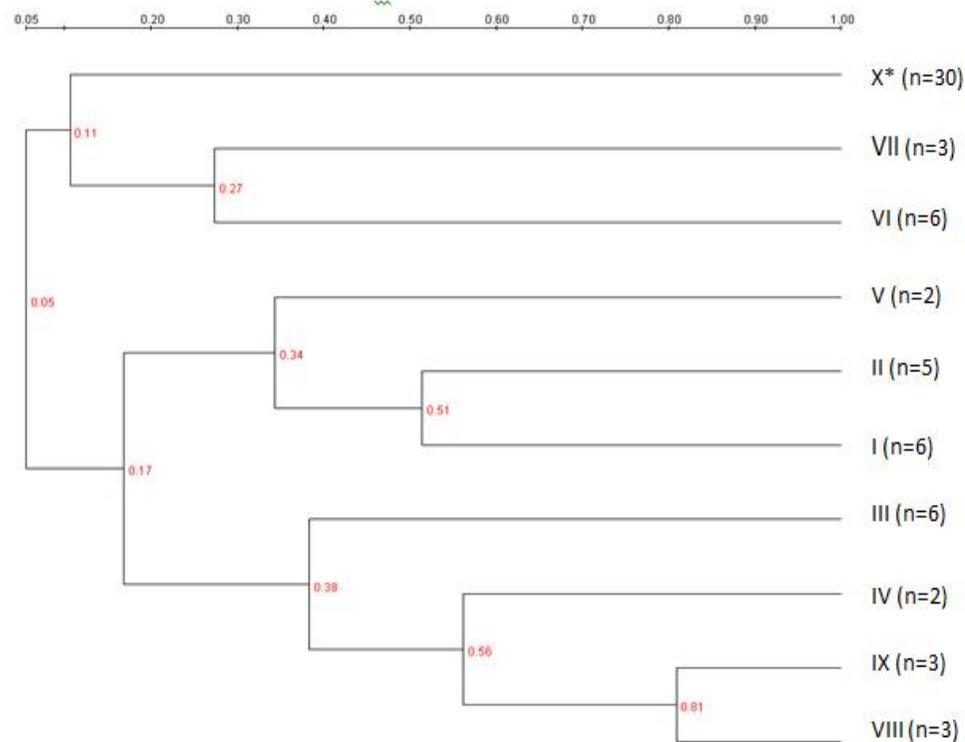
В результате сравнительного анализа все культуры *C. albicans* были распределены в 9 геномогрупп, которые включали идентичные или близкородственные изоляты. 30 изолятов представляли индивидуальные геномоварианты (рисунок 51).

А

M 4 4a 5 5a 7 9a 10 10a 12a 13 14 14a 15 15a 17 17a MM 16 18a 19 19a 20 21 21a 22a 23a 24 25a 26 26a 56 57 58 MM 59 60 31 32 41 41a 43 43a 44 44a 36 37 38 39 39a 46 M
 M 47a 49 49a 50 51 52 52a 53 53a 54 55 55a M



Б



В

<u>Геномогруппа</u>	Штаммы
I	4a, 9a, 10, 10a, 19, 19a
II	12a, 13, 14, 15, 15a
III	7, 17, 21a, 25a, 41a, 54
IV	21, 24
V	23a, 57
VI	22a, 26, 56, 58, 59, 60
VII	41, 53, 53a
VIII	38, 39, 39a
IX	49, 49a, 55a
X (индивидуальные геномоварианты)	4, 5, 5a, 7, 14a, 17, 17a, 16, 18a, 20, 21a, 25a, 26a, 31, 32, 41a, 43, 43a, 44, 44a, 36, 37, 46, 47a, 50, 51, 52, 52a, 54, 55

Рисунок 51 - Пример анализа продуктов гер-ПЦР с использованием праймера ERIC2: А – электрофореграммы: М – маркер молекулярных масс 1kb+1,5 kb+3kb; №№ – нозокомиальные изоляты *C. albicans*, выделенные в 2014 г.; Б – дендрограмма филогенетического родства штаммов из разных геномогрупп, построенная на основе метода невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA, * – в анализ взят один из штаммов X геномогруппы; В – распределение изолятов в геномогруппы.

В состав геномогрупп IV и VII входили штаммы, полученные только с предметов больничной среды стационара и рук пациентов, в остальных – присутствовали изоляты, выделенные как с объектов больничной среды, так и из нестерильных локусов (зев) обследованных больных. Особый интерес представляла геномогруппа VI, в составе которой были изоляты, выделенные из крови пациента Г. с ИК (№ 60), а также из зева больного Д. и с предметов больничной среды в этой же палате (№№ 26, 56). Кроме того, сравнительный анализ ДНК *C. albicans*, выделенных в разные сроки, показал, что штамм, изолированный в 2013 г. из крови пациентки П. с диагнозом ИК и культуры геномогруппы VI (2014 г.) полностью идентичны и относятся к генотипу А на основе типирования 25S рРНК (рисунок 52). Таким образом, ИК у двух больных, госпитализированных в разное время, вызван одним и тем же штаммом *C. albicans*.

Кроме того, именно этот штамм циркулировал в больничной среде специализированного стационара и являлся причиной кандидозного поражения полости рта других пациентов, которые не были связаны между собой за пределами медицинской организации

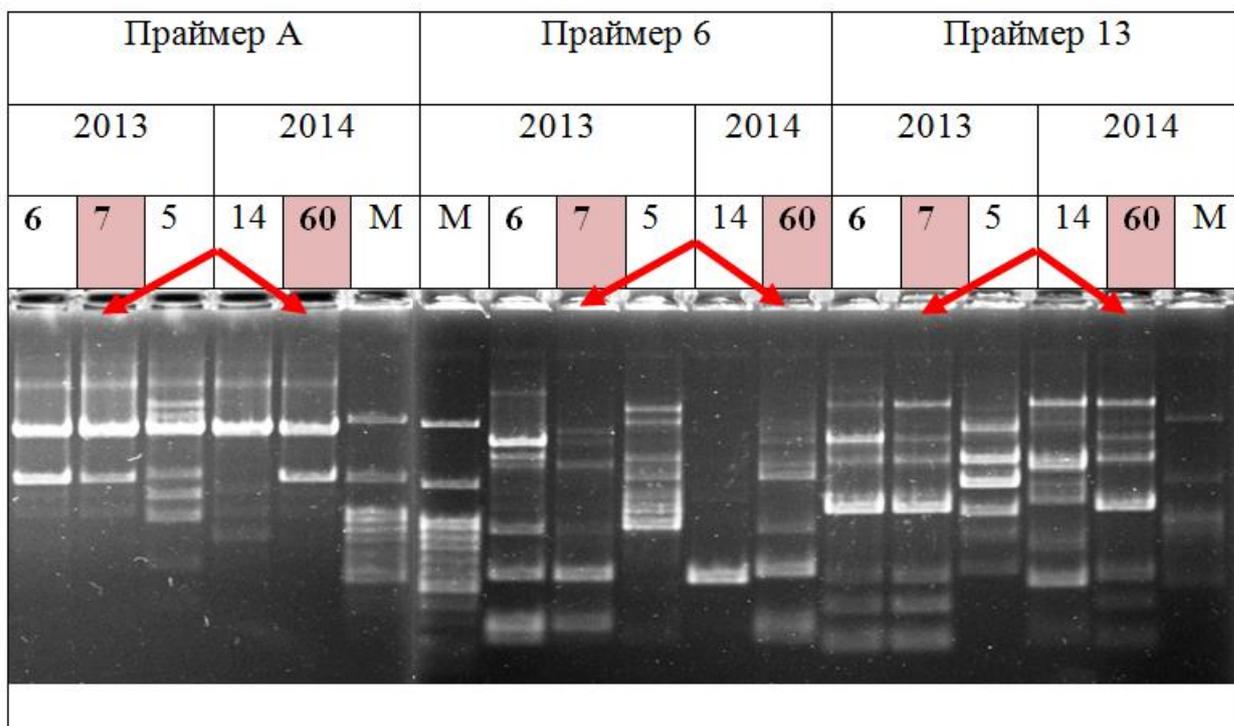


Рисунок 52 - Электрофореграммы продуктов RAPD-ПЦР с использованием праймеров А, 6, 13; М – маркеры молекулярных масс 100 b и 1kb; №№ – изоляты *C. albicans*, выделенные от больных

. Пациентка, находившаяся на лечении в стационаре в июле 2013 г., стала источником госпитального штамма *C. albicans*, который контаминировал объекты больничной среды и в дальнейшем вызвал поражение полости рта и инвазивный кандидоз у больных, госпитализированных в 2014 г. Следовательно, больничная среда становится резервуаром кандид, которые в последующем контактно-бытовым путем передаются другим пациентам через различные предметы и объекты внешней среды и могут вызывать различные виды кандидозной инфекции.

Итак, нами установлено, что у ВИЧ-инфицированных людей могут быть выделены *C. albicans* разных генотипов. При этом, в нескольких биотопах одного пациента, как правило, персистирует единственный штамм. Вместе с тем, возможно одномоментное выделение и генотипически отличных культур. Обнаружено значительное преобладание *C. albicans* генотипа А в различных

транзиторных (кожные покровы) и комменсальных (зев) локусах, и они же чаще всего являлись причиной кандидозной инфекции, в том числе ИК. Кроме того, в отличие от других, представители именно этой группы контаминируют предметы больничной среды (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов). Следует отметить, что культуры *C. albicans* генотипа D были малочисленными, обнаруживались только в экологических биотопах пациентов без проявлений кандидозной инфекции. Они не контаминировали объекты внешней среды и обладали наименьшей активностью экзоферментов – фосфолипазы и протеазы.

Таким образом, в результате проведенных исследований с применением молекулярно-генетических методов нами выяснены и уточнены эпидемиологические аспекты кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. Доказано, что сами ВИЧ-инфицированные с носительством или различными формами кандидозной инфекции являются источником *C. albicans* с высокой ферментативной активностью, которые контаминируют предметы больничной среды, и, что существенно важно, могут длительно на них циркулировать и передаваться контактно-бытовым путем вновь поступающим в стационар пациентам. Некоторые кандиды становятся комменсалами на коже и слизистых оболочках, другие – приводят к возникновению поверхностных и/или инвазивных форм заболевания с тяжелым течением и высокой летальностью. Кроме того, в больничной среде могут формироваться и длительно циркулировать госпитальные штаммы *C. albicans*, обладающие высокой ферментативной активностью, сопоставимой с активностью штаммов, выделенных от пациентов, что повышает риск возникновения кандидозной инфекции в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных.

Предвестниками эпидемического неблагополучия по внутрибольничному ИК являются: высокий уровень контаминации больничной среды ($47,3 \pm 2,06\%$) и колонизации *C. albicans* (преимущественно генотипа А) пациентов (100%), рост показателей колонизации не только «открытых», но и «условно закрытых» локусов больных, увеличение числа пациентов с массивной колонизацией

одновременно двух и более локусов (с $19,1 \pm 1,96\%$ до $57,1 \pm 10,8\%$), а также циркуляция госпитальных штаммов *C. albicans* с высокой фосфолипазной активностью.

7.4. Дезинфекция в стационаре для ВИЧ-инфицированных

Одной из актуальных задач здравоохранения является обеспечение эпидемиологической безопасности и создание комфортной больничной среды для пациентов и персонала. Важную роль в профилактике ИСМП в медицинских организациях играют дезинфекционные мероприятия, которые позволяют прервать пути передачи инфекций через предметы и поверхности, окружающие больного. Для их проведения могут использоваться дезинфицирующие средства разных химических групп. Среди них есть как универсальные, так и целевые дезинфицирующие средства. Обработка поверхностей в помещениях медицинских организаций проводится неоднократно в течение дня в присутствии больных и медперсонала, поэтому важна не только эффективность применяемых дезинфицирующих средств, но и их экономичность и безопасность.

Высокий уровень контаминации объектов больничной среды в стационаре для ВИЧ-инфицированных способствует увеличению риска возникновения ИК и требует проведения эффективных дезинфицирующих мероприятий.

Учитывая вышеизложенное, важное значение имеет разработка и внедрение в практику надежных, высокоэффективных и малотоксичных дезинфицирующих средств в тех стационарах, где находятся на лечении пациенты с иммуносупрессией, в частности ВИЧ-инфицированные.

Нами проведено исследование, нацеленное на сравнительную оценку дезинфицирующих свойств двух препаратов на основе разных действующих веществ.

Оценка эффективности дезинфицирующих средств проводилась совместно с научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВПО «ПГНИУ» в сравнительном контролируемом экспериментальном исследовании. Отбор проб

осуществляли в осенний период 2014 г. в отделении для ВИЧ-инфицированных пациентов краевой инфекционной больницы. Объектами изучения явились поверхности (взято 36 смывов) в 18 больничных палатах: дверные ручки и вентиляционные решетки. Пробы отобраны в 3-х кратной повторности. В ранее проведенных нами исследованиях было установлено, что именно они были наиболее контаминированы микроорганизмами. Внешние поверхности объектов больничной среды обрабатывались по режиму текущей дезинфекции исследуемыми препаратами.

Согласно инструкции по применению, препарат № 1 имеет в своем составе в качестве действующего вещества натриевую соль дихлоризоциануровой кислоты (80%), содержание хлора составляет 1,5г/1табл. Средство обладает антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (включая микобактерии туберкулеза), вирулицидной и фунгицидной активностью, в том числе в отношении грибов рода *Candida*, *Trichophyton*, плесневых грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. Дезинфицирующее средство предназначено для проведения профилактической, текущей, заключительной дезинфекции, генеральных уборок в медицинских учреждениях. Срок годности – 7 лет, рабочих растворов – 20 суток.

Дезинфицирующий препарат № 2 имеет в своем составе в качестве действующего вещества новый бактерицид 2-метил-5-[ди(трифторметил)оксиметил] фуран-8% и этанол. Это готовая к применению жидкость. Средство обладает антимикробной активностью в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий (включая микобактерии туберкулеза), вирусов, грибов родов *Candida*, *Trichophyton* и плесневых. Средство предназначено для небольших по площади и труднодоступных для обработки поверхностей в помещениях, жесткой мебели, оборудования, приборов, аппаратов, дверных ручек, поручней, кранов и т.д. Оно может быть использовано в различных медицинских организациях: стационарах, поликлиниках, санаториях, медсанчастях, домах для инвалидов, учреждениях родовспоможения, стоматологических кабинетах, центрах по трансплантации органов, станциях

переливания крови и скорой помощи и т.д. Срок годности при соблюдении условий хранения – не менее 2,5 лет со дня изготовления.

Контролем явились смывы (12), где исследуемые поверхности были обработаны дистиллированной водой.

Дезинфицирующий препарат № 1 использовался в виде 0,2% раствора, предназначенного для дезинфекции поверхностей методом протирания, приготовленного за 3 суток до исследования.

Дезинфицирующий препарат № 2 использовался по режиму, рекомендованному в инструкции для грибковой и туберкулезной инфекций, т.е. протирание поверхностей готовым раствором из расчета 20 мл/м².

Время воздействия препаратов в инструкциях указано 60 минут, однако в нашем случае такая длительная выдержка была невозможна ввиду проведения работ в присутствии больных, поэтому экспозиция составила 30 минут.

Микробиологические исследования контрольных объектов больничной среды до обработки показали наличие положительных результатов во всех пробах (таблица 37). Вентиляционные решетки и дверные ручки палат были контаминированными и бактериями и микромицетами. Во всех чашках Петри с питательными средами для бактерий отмечен обильный сплошной рост бактерий группы кишечной палочки (БГКП) и кокков. На среде Сабуро выделены дрожжевые грибы с вентиляционных решеток 479,3 КОЕ, с дверных ручек – 273,2 КОЕ, в том числе грибы рода *Candida*, на среде Чапека плесневые грибы – 503,8 КОЕ и 17,5 КОЕ соответственно. Бактерии из рода *Pseudomonas* не были выявлены ни в контрольных, ни в опытных вариантах.

В контрольной группе после обработки поверхностей дистиллированной водой интенсивность контаминации не изменилась.

После обработки поверхностей препаратом № 1 на всех чашках Петри с питательной средой Эндо по-прежнему отмечен сплошной рост БГКП. Количество энтерококков на питательной среде стафилококкагар уменьшилось и составило 265 880,0 КОЕ на вентиляционных решетках; 6 370,0 КОЕ – на дверных ручках. Количество выделенных дрожжевых грибов с дверных ручек составило

180,0 КОЕ, плесневых грибов – 2,5 КОЕ. Обеззараживание вентиляционных решеток привело к отсутствию дрожжевых грибов и снижению микромицетов в 50 раз (10,0 КОЕ) по сравнению с контрольными посевами. Сравнение с результатами, полученными в контрольных смывах, выявило отсутствие дезинфицирующего действия относительно БГКП, некоторое снижение роста бактерий рода энтерококков, значительное уменьшение количества микромицетов.

Микробиологические показатели после обработки поверхностей дезинфицирующим препаратом № 2 значительно улучшились. Визуальный осмотр чашек Петри со средой Эндо выявил уменьшение количества колоний БГКП более чем в 2 раза по сравнению с контролем и с препаратом № 1. Количество выделенных энтерококков составило 3 140,0 КОЕ на дверных ручках, что меньше, чем при использовании средства № 1 в 2 раза; в смывах, отобранных с вентиляционных решеток, энтерококки не выявлены. После обеззараживания препаратом № 2 вентиляционных решеток и дверных ручек колонии дрожжевых грибов не обнаружены, плесневые грибы выявлены в единичном количестве (4,0 КОЕ).

Таблица 37 - Сравнительная оценка эффективности исследуемых дезинфицирующих препаратов

Микроорганизмы		Количество микроорганизмов, выделенных до и после обработки					
		Смывы с дверных ручек (КОЕ)			Смывы с вентиляционных решеток (КОЕ)		
		Контроль	Препарат № 1	Препарат № 2	Контроль	Препарат № 1	Препарат № 2
Бактерии группы кишечной палочки	до	1365244,0	1365024,0	1341888,0	1393801,0	1393728,0	1325346,0
	после	1365049,0	1297889,0	783429,0	1393496,0	1330320,0	604690,0
Результаты дисперсионного анализа		$F=2,185*10^5, P=7,095*10^{-6}$			$F=2,801*10^4, P=8,789*10^{-6}$,		
Энтерококки	до	1307179,0	1307184,0	1242527,0	1318793,0	1318752,0	1127324,0
	после	1306942,0	6370,0	3140,0	1318495,0	265880,0	0
Результаты дисперсионного анализа		$F=1,182*10^6, P=6,485*10^{-6}$			$F=3,484*10^4, P=8,521*10^{-6}$		
Дрожжевые грибы	до	273,2	272,0	243,0	479,3	473,0	456,0
	после	269,8	180,0	0	424,2	0	0
Результаты дисперсионного анализа		$F=327,6, P=5,037*10^{-5}$			$F=1,367*10^4, P=9,923*10^{-6}$		
Плесневые грибы	до	17,5	18,0	21,0	503,8	505,0	519,0
	после	16,7	2,5	2,0	498,5	10,0	6,0
Результаты дисперсионного анализа		$F=377,1, P=4,49*10^{-5}$			$F=5200, P=1,243*10^{-5}$		
Примечание - F – Критерий Фишера; P – уровень значимости; при уровне значимости $\leq 0,05$ отвергается нулевая гипотеза об отсутствии влияния препаратов на количество микроорганизмов в смывах; серым цветом выделены варианты с недостоверной разницей (уровень значимости между вариантами $> 0,05$)							

Таким образом, дезинфицирующий препарат № 2 оказался более эффективным, чем препарат № 1, причем в отношении как грибковой, так и бактериальной микрофлоры. Кроме этого, он является менее токсичным, его применение в присутствии пациентов в помещениях стационара не оказывает побочных действий. Положительными характеристиками препарата являются удобство в применении (это готовая форма, не требующая разведения) и экономичность.

Таким образом, полученные данные приводят к необходимости регулярного мониторинга эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.

7.5. Профилактика инвазивного кандидоза в специализированном стационаре

Важнейшими направлениями профилактики ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов являются: выявление кандидозного носительства, диагностика и лечение пациентов с локализованными формами кандидоза как источников возбудителя ИК. Необходимо проводить обязательное регулярное бактериологическое исследование отделяемого стерильных и «нестерильных» локусов больных для выявления кандид, их видовой идентификации и изучения активности экзоферментов (фосфолипазы и протеазы).

Ранняя диагностика ИК на основе факторов риска и клинических проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов, своевременная и адекватная антимикотическая терапия с учетом вида выделенного возбудителя, способствует успешному лечению заболевания.

В стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов необходимо строгое соблюдение правил асептики, стандартов проведения инвазивных процедур, оптимальный уход за мочевыми и сосудистыми катетерами, рациональное применение антибактериальных препаратов.

Важным моментом профилактики ИК в стационаре является проведение эффективных дезинфицирующих мероприятий, которые позволяют исключить инфицирование через предметы и поверхности, окружающие больного.

Однако успешное решение проблемы внутрибольничного ИК не представляется возможным без совершенствования системы эпидемиологического надзора на основе регулярного микробиологического мониторинга пациентов, объектов больничной среды, эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.

Появление признаков «эпидемического неблагополучия» по ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных (увеличение показателей колонизации «открытых»- верхние дыхательные пути, ротоглотка и «условно закрытых» - кишечник, урогенитальный локусов; числа пациентов с массивной колонизацией двух и более локусов; уровня и интенсивности контаминации объектов больничной среды кандидами с высокой ферментативной активностью) требует безотлагательного проведения диагностических, лечебных и противоэпидемических мероприятий в очаге.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инвазивные микозы у ВИЧ-инфицированных пациентов являются важной проблемой здравоохранения, в связи с их ежегодным их ростом и высокой летальностью. К наиболее часто встречающимся нозологическим формам грибковых заболеваний у пациентов с ВИЧ-инфекцией относятся криптококкоз и кандидоз.

Криптококкоз в последние годы входит в тройку наиболее опасных для жизни оппортунистических инфекций у больных ВИЧ-инфекцией, от криптококкового менингоэнцефалита без лечения умирает 100% пациентов [20,72, 98]. В мире ежегодно регистрируется около 1 млн. больных, из них погибает 680 тыс. Распространенность заболевания колеблется от 0,3 до 0,5 на 100 тыс. населения [23,147].

В последние годы во всем мире также наблюдается рост числа больных ИК, заболеваемость составляет от 2,4 до 29,0 на 100000 населения в год [153]. Летальность среди отдельных групп больных достигает 73%.

Развитие инвазивных микозов наносит значительный экономический ущерб, в связи с увеличением сроков госпитализации и стоимости лечения [31,175,216,233,235].

В литературе имеется немало исследований, проводимых в РФ [17,58,83,93,113] и за рубежом [160,169,193,205,208,214,215,224,229,233,282], посвященных инвазивным грибковым инфекциям. Несмотря на это, многие вопросы, касающиеся различных аспектов этих заболеваний, до настоящего времени остаются мало изученными у такой категории пациентов, как ВИЧ-инфицированные.

Истинная заболеваемость среди ВИЧ-инфицированных больных не известна.

Факторы риска и механизмы развития эпидемического процесса внутрибольничных инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов исследованы не в полной мере.

Необходимо выявление клинических особенностей течения патологического процесса и проведение дальнейших патоморфологических исследований для уточнения патогенетических закономерностей инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных на поздних стадиях заболевания.

Все вышеизложенное послужило основанием для углубленного многолетнего комплексного клинико-эпидемиологического исследования инвазивных микозов (криптококкоза, кандидоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов за период 2007-2015 гг. на базе ПККИБ, КЦ СПИД, ПГНИИУ, Пермского института экологии и генетики УРО РАН и медицинских организаций г.Перми с применением эпидемиологических, клинических, микробиологических, молекулярно-генетических и статистических методов.

Нами впервые установлена распространенность криптококкоза среди ВИЧ-инфицированных специализированного стационара. По средним многолетним данным она составила 5,1 на 1000 госпитализированных больных, с ростом заболеваемости за последние 10 лет более чем в 20 раз (с 0,9 в 2007 г. до 22,5 в 2015 г.). Это значительно превышает заболеваемость среди всего населения, показатель которой по литературным данным колеблется от 0,3 до 0,5 на 100 тыс. населения [23,147].

Наличие ВИЧ-инфекции и степень выраженности иммунодефицита, как известно, считаются важнейшими факторами риска развития криптококкоза [57,117,190,257]. Однако другие факторы риска у ВИЧ-инфицированных лиц не описаны.

В результате нашей работы выявлены 2 группы факторов риска возникновения криптококкоза у ВИЧ-инфицированных людей. Среди «медицинских»: длительность ВИЧ-инфекции на момент развития заболевания в среднем 6,5 лет ($t > 2$; $p < 0,05$), тяжелое состояние пациентов (ОШ 10.833, ДИ=3.535-33.204), стационарное лечение в течение 30 дней, предшествующих

госпитализации (ОШ 2.677, ДИ=1.337-5.358), а также наличие туберкулеза (ОШ 3.711, ДИ=1.447-9.517) и ХОБЛ (ОШ 2.659, ДИ=1.335-5.298), снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови ($t > 2$; $p < 0,05$); среди «общественно-поведенческих» - неблагоприятные жилищные условия (ОШ 3.208, ДИ=1.165-8.830) и отсутствие трудоустройства (ОШ 2.348, ДИ=1.106-4.983). Сочетание двух признаков из шести дает одновременно высокие показатели чувствительности и специфичности. Наличие у ВИЧ-инфицированных пациентов вышеуказанных факторов, обнаруженных на начальном этапе диагностики - при сборе анамнеза и первичном осмотре, в комбинации с лабораторными показателями (количество $CD4^+$ Т-лимфоцитов менее 100 клеток/мкл, снижение лейкоцитов до $5,89 \cdot 10^9$ /л, лимфопения $0,97 \cdot 10^9$ /л) способствуют выявлению у них высокого риска развития криптококкоза. Таким образом, результаты нашего исследования согласуются с литературными данными о том, что криптококкоз возникает на фоне выраженной недостаточности клеточного иммунитета [57,63]. Однако нами выявлены и иные факторы риска, а именно – наличие у ВИЧ-инфицированных патологии дыхательной системы (ХОБЛ и туберкулеза) и проживание в неблагоприятных жилищных условиях.

До возникновения эпидемии ВИЧ-инфекции криптококкоз считался редким заболеванием. В РФ описание отдельных случаев болезни на фоне ВИЧ-инфекции появилось лишь с 90-х гг. 20 века [28,29,52,134], однако для получения полной картины этого явно недостаточно. Каждое новое исследование вносит свой вклад и углубляет научные представления об этом заболевании. Наши исследования показали, что типичным проявлением криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов является развитие острого генерализованного процесса с высокой лихорадкой, манифестной клинической картиной поражения ЦНС в виде менингоэнцефалита и легких в виде пневмонии. При этом признаки нарушения со стороны других внутренних органов и кожи отсутствуют. Заболевание характеризуется тяжелым течением и заканчивается смертельным исходом в $42,6 \pm 5,99\%$ случаев. Ранними симптомами являются лихорадка (у

97,0% больных), упорная головная боль, головокружение, тошнота и рвота. В исследованиях других ученых лихорадочная реакция у пациентов с криптококкозом была непостоянной и наблюдалась не чаще, чем в 40% случаев. Следует также заметить, что у большинства наблюдаемых нами больных (почти 65,0%) были обнаружены менингеальные симптомы, хотя по литературным данным, они имеют место лишь у 30% пациентов. Очаговая неврологическая симптоматика отмечается у трети обследованных. На наш взгляд, это объясняется тем, что низкий иммунный статус способствует присоединению нескольких оппортунистических инфекций. Особенности криптококкоза при ВИЧ-инфекции являются сочетание его с менингоэнцефалитами другой этиологии (туберкулезной, герпетической, токсоплазмозной) у четверти обследованных пациентов; сочетание криптококкового поражения легких с туберкулезом, пневмоцистной, бактериальной и кандидозной пневмонией - у половины больных.

Анализ аутопсийного материала показал, что, несмотря на отсутствие специфических клинических данных, выраженные патоморфологические изменения были обнаружены не только в головном мозге и легких, но и в печени, лимфатических узлах, почках, надпочечниках, селезенке, поджелудочной и щитовидной железах, кишечнике. Они представлены множественными фокусами некрозов со скоплениями криптококков при отсутствии значимой перифокальной воспалительной реакции со стороны окружающих тканей в виде продуктивного воспаления.

Полученные результаты позволяют дополнить некоторые патогенетические закономерности криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. После проникновения возбудителя в организм человека аэрогенным путем при проживании в неблагоустроенном жилье, криптококки находят в легких благоприятную среду для размножения и развития. Этому способствуют такие факторы риска, как патология дыхательной системы – туберкулез и ХОБЛ. На фоне угнетения клеточного иммунитета (снижения уровня $CD4^+$ Т-лимфоцитов, общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической

крови) происходит гематогенная диссеминация возбудителя и развитие генерализованного процесса.

Учитывая вышеизложенное, ранняя диагностика криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов должна основываться на выявлении факторов риска, клинических признаков поражения центральной нервной системы и легких, микологического исследования крови, ликвора, определения антигена криптококка в спинномозговой жидкости для последующего назначения адекватной антимикотической терапии. Кроме того, необходимым условием успешного лечения является проведение дальнейших лабораторных и инструментальных исследований с целью выявления сочетанного поражения головного мозга и легких бактериальной, вирусной и протозойной этиологии.

ИК относится к числу распространенных микозов, заболеваемость составляет от 2,4 до 29,0 случаев на 100000 населения в год [153]. В России распространенность ИК изучена недостаточно. В литературе опубликованы результаты единичных многоцентровых исследований, согласно которым показатель распространенности составил 0,3 на 1000 госпитализированных больных. В реанимационных отделениях он был равен 2,6 [132].

Оценка распространенности ИК у ВИЧ-инфицированных больных в специализированном отделении показала, что частота ИК составила 3,5 на 1000 госпитализированных больных. С 2007 по 2015 гг. наблюдался рост заболеваемости почти в 5 раз (с 1,8 до 8,8).

Установлены следующие факторы риска возникновения ИК: медицинские (нахождение в ОРИТ (ОШ 5,349; ДИ=1,978-14,465), оперативные вмешательства на органах брюшной полости ($t > 2$; $p < 0,05$), стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней (ОШ 2,545, ДИ=1,088-5,952), применение ИВЛ (ОШ 5,349, ДИ=1,978-14,465), тяжелое состояние пациентов (ОШ 6,189, ДИ=2,496-15,349), наличие у больных ОФК (ОШ 2,815, ДИ=1,229-6,449) и туберкулеза (ОШ 3,395; ДИ=1,478-7,798) и «общественно-поведенческие» (нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,924; ДИ=1,293-6,610), отсутствие постоянного места работы (ОШ 4,659; ДИ=1,256-17,278) и наличие

синдрома зависимости от ПАВ (ОШ 3,956; ДИ=1,678-9,330). Наиболее вероятно развитие ИК у ВИЧ-инфицированных больных при наличии не менее трех из перечисленных выше признаков, что позволяет уже при первичном осмотре ВИЧ-инфицированного пациента выявить высокий риск возникновения ИК без применения дорогостоящих и трудоемких методов обследования и выиграть время для проведения профилактических и лечебных мероприятий.

В подавляющем большинстве случаев (86,9±4,97%) возбудителем ИК были микромицеты *C. albicans*, хотя по литературным данным у больных без ВИЧ-инфекции они зарегистрированы лишь в 15-60% случаев. Следует отметить, что у половины ВИЧ-инфицированных причиной заболевания являлась ассоциация грибов и бактерий. Сочетание ИК и туберкулеза наблюдалось в 54,3±7,34% случаев. ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов возникает на фоне выраженного иммунодефицита (количество CD4+ Т-лимфоцитов меньше 200 клеток/мкл) и протекает в виде тяжелого генерализованного процесса с высокой смертностью (45,6±7,34%) в результате инфекционно-токсического шока и ДВС-синдрома.

В процессе исследования нами выявлены особенности клинического течения ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях. Основными клиническими вариантами ИК при ВИЧ-инфекции являлись кандидемия и ОДК с поражением легких, эндокарда и мозговых оболочек. При этом пневмония с ОДН и эндокардит встречалась чаще, чем у лиц, неинфицированных ВИЧ. Напротив, поражение центральной нервной системы у ВИЧ-негативных пациентов встречалось в 2 раза чаще, чем у ВИЧ-инфицированных [8,107,185]. Не характерно для ВИЧ-инфицированных больных развитие хронического гепатолиенального кандидоза, отсутствует поражение почек, органов зрения, кожи, подкожной клетчатки и суставов, что имеет место у пациентов без ВИЧ-инфекции. На наш взгляд, это объясняется тем, что на фоне выраженного иммунодефицита, сочетанного воздействия других оппортунистических агентов (бактерий, микобактерий туберкулеза), заболевание имеет бурное течение, быстро приводящее к летальному исходу. У большинства пациентов (82,6±5,58%) ИК развивается после возникновения ОФК.

У наблюдаемых нами ВИЧ-инфицированных пациентов лихорадка выше 38,0⁰ отмечалась лишь в половине случаев, тогда как по литературным данным она регистрируется у 98% больных ИК [57,113,171,185]. В гемограмме у ВИЧ-инфицированных пациентов реже наблюдается лейкоцитоз, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции, но чаще – нейтропения.

Патоморфологические изменения, наблюдаемые в тканях при генерализованном кандидозе, разнообразны, что согласуется с литературными данными [126]. По мнению Хмельницкого О.К., Хмельницкой Н.М. (2005 г.), они зависят от длительности патологического процесса.

Результаты нашего исследования позволяют сделать вывод о том, что тканевые изменения при ИК на поздних стадиях ВИЧ-инфекции зависят не только от давности заболевания и остроты процесса, но и от характера выявленной микрофлоры. Анализ секционного материала умерших от ИК ВИЧ-инфицированных пациентов показывает, что преобладает смешанная грибково-бактериальная флора (72,2±9,77%). При развитии ИК на фоне бактериальной инфекции наблюдается преимущественно альтеративное (экссудативно-некротическое) воспаление с формированием гнойных очагов. В них среди некротических масс при гистологическом исследовании обнаруживались структуры нитчатого псевдомицелия микромицетов рода *Candida*. В дальнейшем это подтверждалось бактериологически. Очаги некроза в тканях, на наш взгляд, являются не проявлением «деятельности» микромицетов, а благоприятной средой для их размножения и развития.

В случаях сочетанного грибкового и туберкулезного поражения наблюдается отграничение очагов с образованием казеозного некроза в центре и продуктивного воспаления вокруг, формирование гранулем и наличием гигантских клеток типа инородных тел и Пирогова-Ланганса. Микромицеты рода *Candida* в их цитоплазме не выявлены.

Анализ аутопсийного материала показал отсутствие очагов кандидозного поражения печени и почек пациентов с ИК. При этом значительные изменения наблюдались в легких, центральной нервной и сердечно-сосудистой системах.

Патоморфологическое исследование небных миндалин при ОФК показало, что микромицеты пенетрируют все слои органа, глубоко проникая в паренхиму без выраженной ответной клеточной реакции на фоне фолликулярного лимфоидного истощения. Небные миндалины у ВИЧ-инфицированных пациентов с ИК становятся очагом хронической грибковой инфекции.

Полученные данные позволили уточнить патогенетические закономерности ИК. У ВИЧ-инфицированных больных первичным очагом и отправной точкой для дальнейшего распространения кандид в кровотоке являются прежде всего ротоглотка и верхние дыхательные пути. ИК протекает в виде кандидемии или ОДК. Органами-мишенями при этом становятся легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система. В этих случаях можно говорить о развитии вторично-септической формы заболевания. В других случаях, при попадании возбудителя непосредственно в кровь (при внутривенном использовании наркотиков, инвазивных медицинских манипуляциях и др.) возникает первично-септическая форма ИК.

С учетом установленных клинико-патогенетических особенностей ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов, мы предлагаем выделять у них следующие формы микоза как нозологической формы:

1. Кандидозное носительство.
2. Локализованные формы (орофарингеальный кандидоз, вульвовагинит, кандидоз кожи и ее придатков и др.).
3. Генерализованные формы:
 - первично-септическая;
 - вторично-септическая.

При изучении факторов риска возникновения инвазивных микозов (криптококкоза, кандидоза) выявлена прямая связь между их развитием и фактом стационарного лечения наблюдаемых ВИЧ-инфицированных пациентов в течение 30 дней, предшествующих госпитализации. Это обусловило проведение ретроспективной эпидемиологической оценки контаминации микромицетами

объектов внешней среды в организациях различного профиля (медицинских и немедицинских), включая муниципальные и частные.

Выявлено не только наличие, но и преобладание грибковой флоры над бактериальной во всех медицинских организациях г.Перми (реанимационного, хирургического, терапевтического, гинекологического, инфекционного, стоматологического профилей), удельный вес ее составил в среднем $69,7 \pm 1,43\%$. Это согласуется с данными ряда исследователей, получивших аналогичные результаты [30,106,6,45,112]. Доля микромицетов в общем количестве положительных проб была наиболее высока в отделениях реанимации и интенсивной терапии (100%). В организациях хирургического, гинекологического, терапевтического, стоматологического и инфекционного профилей доля положительных проб на грибы составила соответственно $79,6 \pm 2,87\%$, $76,0 \pm 8,54\%$, $73,3 \pm 2,33\%$, $62,7 \pm 3,20\%$ и $61,0 \pm 4,39\%$.

Интенсивность контаминации больничной среды этих организаций микромицетами колебалась от $68,0 \pm 3,62$ до $75,8 \pm 2,92$ КОЕ/м³ и существенных различий не имела ($t < 2$; $p > 0,05$). Значительно ниже был этот показатель в стоматологических отделениях ($61,1 \pm 2,85$ КОЕ/м³).

В инфекционном стационаре показатели интенсивности контаминации больничной среды микромицетами значительно превышали таковые во всех изучаемых организациях ($167,3 \pm 2,89$ КОЕ/м³) ($t > 2$, $p < 0,05$).

Интенсивность обсемененности микромицетами объектов внешней среды в немедицинских организациях была ниже, чем в медицинских – $58,2 \pm 2,50$ против $83,2 \pm 2,80$ КОЕ/м³ ($t > 2$, $p < 0,05$). Уровень и интенсивность обсемененности микромицетами в муниципальных медицинских структурах в 1,5 раза превышали таковые в частных медицинских организациях.

Учитывая выявленное неблагополучие состояния контаминации микромицетами больничной среды медицинских организаций, потенциальную опасность, представляющую для больных с иммуносупрессией, была проведена сравнительная оценка уровня и интенсивности обсемененности микромицетами внешней среды стационаров, где находились пациенты с ВИЧ-инфекцией,

онкологическими, гематологическими заболеваниями, в реанимационных отделениях хирургического и инфекционного профиля.

Выявлен высокий уровень грибковой контаминации всех изучаемых отделений. Удельный вес положительных проб колебался от $85,4 \pm 5,5\%$ в гематологическом отделении до 100% в инфекционном ОРИТ. В инфекционном, онкологическом стационаре и ОРИТ хирургического профиля он был более 90% (соответственно $97,3 \pm 1,8\%$, $90,5 \pm 3,6\%$ и $91,0 \pm 4,1\%$). В родильном отделении (организация сравнения) уровень контаминации микромицетами равнялся $20,0 \pm 1,15\%$, что в 4-5 раз ниже по сравнению с изучаемыми объектами.

При сравнительном анализе интенсивности контаминации микромицетами воздушной среды стационаров установлено, что самая высокая степень «грибковой нагрузки» имела место в инфекционном стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов ($582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³). Далее в порядке убывания расположились ОРИТ хирургического профиля ($100,0 \pm 29,6$ КОЕ/м³), ОРИТ инфекционного профиля ($66,0 \pm 7,9$ КОЕ/м³), онкологический ($19,4 \pm 7,2$ КОЕ/м³) и гематологический ($15,6 \pm 3,3$ КОЕ/м³) стационар. В родильном отделении этот показатель равнялся $22,3 \pm 5,4$ КОЕ/м³ ($t > 2$, $p < 0,05$).

Условно-допустимое количество клеток грибов в воздухе помещений не должно превышать 500 КОЕ/м³, согласно данным ряда авторов и ВОЗ [2,42,86,278]. В таких концентрациях споры микромицетов не приводят к развитию патологии у людей с интактной иммунной системой. Однако при более высоком уровне микотического загрязнения больничной среды вероятность развития грибковых заболеваний у людей с иммуносупрессией значительно увеличивается. Именно иммунный статус человека является ключевым фактором, определяющим развитие событий после контакта с грибами: будут ли они комменсалами на поверхности кожи и слизистых, произойдет ли заражение, и насколько тяжело будет протекать микотическая инфекция. Противогрибковая защита, как известно, обеспечивается преимущественно клеточным звеном иммунитета и фагоцитами. У больных с ВИЧ-инфекцией, нейтропенией и лиц, получающих иммуносупрессивные препараты отмечается уменьшение количества

CD4⁺ Т-лимфоцитов и нарушение способности к фагоцитозу. Именно эти пациенты подвергаются высокому риску заражения грибковыми инфекциями.

Микобиота воздушной среды всех изучаемых стационаров характеризуется присутствием в них плесневых грибов родов *Aspergillus spp.* и *Penicillium spp.*, что согласуется с данными других исследований [112]. Наряду с этим, выявлено наличие других микромицетов в зависимости от профиля: в инфекционном - плесневых грибов рода *Cladosporium spp.*, в хирургическом ОРИТ – *Trichoderma spp.*, в гематологическом отделении - *Rhizopus spp.* Споры их, при попадании в воздух из почвы, органического и растительного материала, древесины, ингаляционным путем могут проникать в дыхательные пути человека и вызывать заболевания. Факторами риска в гематологических и онкологических отделениях является прежде всего нейтропения, в хирургических – оперативные вмешательства, пребывание в палате интенсивной терапии, искусственная вентиляция легких во время операции и в послеоперационный период [17].

В связи с этим для своевременной и эффективной диагностики, лечения и профилактики грибковых инфекций, необходим микологический мониторинг больничной среды с оценкой не только общей контаминации микромицетами, но и расшифровкой их родовой и видовой принадлежности.

В смывах с объектов больничной среды установлено существенное доминирование дрожжевых грибов над плесневыми. Во всех медицинских организациях наиболее загрязненными дрожжевыми микромицетами являлись аппараты ИВЛ, дверные ручки, тумбочки пациентов и вентиляционные решетки. В отделении для ВИЧ-инфицированных пациентов обнаружено превышение интенсивности контаминации предметов больничной среды по сравнению с гематологическим, онкологическим и хирургическим отделениями: вентиляционных решеток – от 3,5 до 34 раз, дверных ручек – от 5 до 26 раз.

Оценка уровня обсемененности грибами различных помещений специализированного стационара показала, что максимальное количество положительных проб выявлено в палатах, где постоянно находятся ВИЧ-инфицированные пациенты - 57,8±5,59%, что значительно превышало уровень

контаминации в процедурном кабинете ($13,3 \pm 8,01\%$), столовой ($10,37 \pm 8,14\%$), сестринском кабинете ($9,6 \pm 8,17\%$) и приемном покое ($8,88 \pm 8,21\%$) ($t > 2$; $p < 0,05$).

Самая высокая грибковая загрязненность воздуха имела место в палатах ($1500,0 \pm 527,8$ КОЕ/м³) с круглосуточным пребыванием больных. В палате, где лечился пациент с тяжелым ИК, степень «грибковой нагрузки» была более чем в 40 раз выше, чем в палатах больных без ИК.

В тех помещениях стационара, где больные находились непродолжительное время, загрязненность воздуха была значительно ниже и варьировала от $18,6 \pm 6,4$ в столовой до $92,0 \pm 33,6$ КОЕ/м³ в приемном покое ($t > 2$, $p < 0,05$).

Интенсивность обсемененности дрожжевыми микромицетами предметов в палате пациента с ИК также превышала таковую в палатах, где находились пациенты без ИК (тумбочек – в 2,6 раза, дверных ручек – в 1,8 раза, вентиляционных решеток – 2,0 раза) ($t > 2$, $p < 0,05$).

При проведении сравнительной оценки загрязненности микромицетами рук пациентов и персонала медицинской организации выявлено значительно более интенсивное загрязнение грибами рук ВИЧ-инфицированных пациентов – в 11 раз. На наш взгляд, это обусловлено нормальным иммунным статусом медицинских работников, соблюдением санитарно-противоэпидемического режима и большей приверженностью персонала обработке рук.

Следовательно, больничная среда оказалась наиболее загрязненной микромицетами в специализированном отделении для ВИЧ-инфицированных больных. Это позволяет отнести его к числу наиболее потенциально опасных в отношении развития внутрибольничных грибковых инфекций.

Количество микромицетов в воздухе больничных помещений регламентируется санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами. В СанПиН 2.1.3.1375-03, введенных в действие 30 июня 2003 года, были определены допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений медицинских организаций в зависимости от их функционального назначения и класса чистоты. Согласно им, в помещениях класса чистоты А

(особо чистые), Б (чистые) и С (условно-чистые) наличие плесневых и дрожжевых микромицетов в воздухе не допускалось, а в «грязных» - не нормировалось [102].

В СанПин 2.1.3.2630-10, принятых 18 мая 2010 г., требования изменились. Регламентируется лишь общее количество микроорганизмов в помещениях классов чистоты А и Б до начала работы и во время работы. Следует обратить внимание, что в данном документе количество микромицетов в воздушной среде медицинских организаций не нормируется [103].

Между тем, микробиологический мониторинг воздушной среды необходим для решения проблемы профилактики ИСМП.

Учитывая ведущую этиологическую роль *C. albicans* в развитии ИК у ВИЧ-инфицированных и высокую патогенность данного вида, нами проведено изучение наличия взаимосвязи между уровнем и интенсивностью контаминации больничной среды и колонизации ВИЧ-инфицированных пациентов микромицетами *C. albicans* в разные периоды эпидемического благополучия с целью выяснения механизмов развития эпидемического процесса ИК.

На первом этапе исследования в эпидемически благополучный период (отсутствие в стационаре пациентов с ИК) у $83,9 \pm 1,6\%$ пациентов выделялись *C. albicans*. Самое большое число положительных проб обнаруживалось в образцах из «открытых» локусов, которые непосредственно связаны с внешней средой (секрете верхних дыхательных путей и ротовой жидкости). В материалах из «условно закрытых» локусов, имеющих отдаленный контакт с внешней средой на протяжении от входных ворот (моче, секрете цервикального канала и кале) *C. albicans* встречались достоверно реже ($p < 0,05$). Частота встречаемости *C. albicans* в различных локусах пациентов в среднем равнялась $40,1 \pm 1,75\%$.

Одновременно из нескольких локусов *C. albicans* выделялись в $19,1 \pm 1,96\%$ случаев. При исследовании рук ВИЧ-инфицированных пациентов *C. albicans* были обнаружены в $50,0\%$ случаев с интенсивностью контаминации $8,75 \pm 1,23$ КОЕ/дм².

Средний уровень контаминации *C. albicans* объектов больничной среды специализированного стационара ($36,8 \pm 3,53\%$) достоверно не отличался от

уровня колонизации локусов ВИЧ-инфицированных больных ($40,1 \pm 1,75\%$) ($t < 2$; $p > 0,05$).

На втором этапе, в эпидемических очагах ИК, обусловленного *C.albicans*, колонизация ими ВИЧ-инфицированных пациентов, контактировавших с больными, достигла 100%. Средний уровень колонизации различных локусов *C. albicans* существенно не изменился и составил $46,5 \pm 4,39\%$ ($t < 2$; $p > 0,05$). В эпидемических очагах ИК мы наблюдали увеличение уровня колонизации кандидами как «открытых», так и «условно закрытых» локусов ($t > 2$, $p < 0,05$) с темпом прироста от 11,6% до 76,5%. Заметно возрос (с $19,1 \pm 1,96\%$ до $57,1 \pm 10,8\%$) удельный вес пациентов, у которых *C. albicans* выделялись одновременно из двух и более локусов ($t = 3,4$, $p < 0,05$). Уровень контаминации предметов больничной среды *C.albicans* в эпидемических очагах ИК равнялся $47,3\% \pm 2,06$ и был выше аналогичного показателя в эпидемически благополучный период - $36,8 \pm 3,53\%$ ($t > 2$, $p < 0,05$). Наиболее загрязненными предметами оказались тумбы в палатах, дверные и прикроватные ручки - $53,3 \pm 8,23\%$, $60,0 \pm 7,14\%$ и $28,6 \pm 2,70\%$ соответственно. На руках ВИЧ-инфицированных пациентов в $64,5 \pm 8,6\%$ проб выявлялись *C.albicans*, это на 29% превысило показатель 1 этапа исследования.

Самой высокой была интенсивность контаминации тумб пациентов ($399,5 \pm 38,3$ КОЕ/дм²), дверных ($163,3 \pm 14,8$ КОЕ/дм²) и прикроватных ручек ($101,9 \pm 9,7$ КОЕ/дм²), что существенно выше соответствующих показателей на 1 этапе. Загрязненность рук ВИЧ-инфицированных пациентов в очагах ИК была в 4 раза выше таковой у пациентов в эпидемически благополучный период и равнялась $33,2 \pm 2,66$ КОЕ/дм² против $8,75 \pm 1,23$ КОЕ/дм². Таким образом, наибольшая обсемененность *C.albicans* была выявлена на тех объектах больничной среды, с которыми непосредственно контактируют ВИЧ-инфицированные пациенты. Полость рта и руки большинства из них колонизированы кандидами, которые были выявлены на тумбочках, дверных и прикроватных ручках.

При изучении активности экзоферментов кандид, ФЛА выявлена у 35 изолятов ($54,7 \pm 6,22\%$), из них $45,7 \pm 12,4\%$ выделено с объектов больничной среды, $54,3 \pm 11,4\%$ - от пациентов. Зона преципитации вокруг колоний, выделенных из внешней среды, в среднем составила $1,5 \pm 0,06$ мм (Кв $2,5 \pm 0,17$); у колоний, полученных от пациентов - $1,6 \pm 0,03$ (Кв $2,5 \pm 0,15$). В работах отечественных ученых опубликованы данные о ФЛА *C.albicans* при различных формах вагинального кандидоза у женщин без ВИЧ-инфекции, коэффициент вирулентности у них был не более 0,9 [53]. Результаты нашего исследования установили более высокую степень ФЛА *C.albicans*, изолированных в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов ($t > 10$, $p < 0,05$), что свидетельствует об их большей патогенности и роли в развитии ИК, как биологического фактора развития эпидемического процесса.

ПА обнаружена у 42 штаммов *C.albicans* ($65,6 \pm 5,93\%$). Из них $64,2 \pm 9,0\%$ выделено с объектов больничной среды, от пациентов – $35,8 \pm 12,3\%$. Зона разжижения питательного агара вокруг колоний и коэффициенты вирулентности составили, соответственно, $0,59 \pm 0,04$ мм (Кв $1,41 \pm 0,13$) и $0,58 \pm 0,04$ мм (Кв $1,40 \pm 0,10$) ($t < 2$; $p > 0,05$). Кроме того, обнаружено, что одна третья часть изучаемых штаммов *C.albicans* ($29,7 \pm 5,71\%$) обладала одновременно ФЛ и ПА, из них $57,9 \pm 11,32\%$ выделено с объектов больничной среды, а $42,1 \pm 11,33\%$ - от ВИЧ-инфицированных больных. Они являются наиболее агрессивными и представляют особую опасность в отношении развития внутрибольничного ИК.

Установлено, что ФЛА штаммов от пациентов с доказанным диагнозом ИК, значительно выше таковой у пациентов без ИК (Кв $2,73 \pm 0,19$ против $2,28 \pm 0,09$ соответственно; $t > 2$, $p < 0,05$).

Следовательно, микрофлора больничной среды медицинских организаций и «открытых» локусов пациентов и больничной среды образуют единую систему, в которой осуществляется обмен микромицетами. Установлена прямая связь между уровнем и интенсивностью колонизации ВИЧ-инфицированных больных и контаминацией больничной среды *C.albicans*. В эпидемических очагах ИК показатели контаминации внешней среды и колонизации больных *C.albicans*

выше, чем в эпидемически благополучный период. Источниками штаммов *C.albicans* с высокой ферментативной активностью являются ВИЧ-инфицированные пациенты с ИК.

Нами изучены и дана микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика культур *C. albicans*, выделенных в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов с оценкой их эпидемиологической значимости. Доказано, что у ВИЧ-инфицированных людей могут быть выделены *C. albicans* разных генотипов. При этом, в нескольких локусах одного пациента, как правило, персистирует единственный штамм, но, возможно одномоментное выделение и генотипически различных культур. Установлено значительное преобладание *C. albicans* генотипа А в различных транзиторных (кожные покровы) и комменсальных (зев) биотопах. Именно они чаще всего являлись причиной кандидозной инфекции, в том числе ИК. Представители именно этой группы, в отличие от других инфицировали предметы больничной среды (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки). *C. albicans* генотипа D были малочисленными, выявлялись только в экологических биотопах пациентов без признаков кандидозной инфекции. Они не контаминировали предметы больничной среды и обладали наименьшей активностью экзоферментов – фосфолипазы и протеазы.

Сравнительный анализ ДНК *C. albicans*, выделенных в разные сроки, показал, что штамм, изолированный из крови пациентки П. в 2013 г., и штамм, выделенный из крови пациента Г. в 2014 г., полностью идентичны и принадлежат к генотипу А на основе типирования 25S рРНК. Доказано, что ИК у двух больных, госпитализированных в разное время, вызван одним и тем же штаммом *C. albicans*. Более того, он сохранился и циркулировал во внешней среде инфекционного стационара более 1 года и стал причиной кандидозного поражения полости рта других пациентов, которые не были связаны между собой вне медицинской организации.

Таким образом, больничная среда становится резервуаром кандид, которые далее через различные предметы и объекты больничной среды контактно-

бытовым путем передаются другим пациентам и вызывают различные формы кандидозной инфекции. Следовательно, доказана возможность передачи ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных контактно-бытовым путем без применения инвазивных медицинских вмешательств.

Предвестниками осложнения эпидемической ситуации по ИК являются: высокий уровень колонизации *C.albicans* (преимущественно генотипа А) пациентов (100%) и контаминации больничной среды ($47,3\% \pm 2,06$), увеличение показателей колонизации как «открытых», так и «условно закрытых» локусов больных, рост числа пациентов с массивной колонизацией одновременно двух и более локусов (с $19,1 \pm 1,96\%$ до $57,1 \pm 10,8\%$), а также циркуляция госпитальных штаммов *C. albicans* с высокой ФЛА.

Важную роль в профилактике ИСМП в медицинских организациях играют дезинфекционные мероприятия, которые позволяют прервать пути передачи инфекций через предметы и поверхности, окружающие больного. Высокий уровень контаминации объектов больничной среды в стационаре для ВИЧ-инфицированных способствует увеличению риска развития ИК и требует проведения эффективных дезинфицирующих мероприятий.

Нами проведено исследование, нацеленное на сравнительную оценку дезинфицирующих свойств двух препаратов на основе разных действующих веществ. Установлено, что дезинфицирующий препарат, имеющий в своем составе в качестве действующего вещества бактерицид 2-метил-5-[ди(трифторметил)оксиметил] фуран-8% и этанол, оказался более эффективным, чем препарат, имеющий в качестве действующего вещества натриевую соль дихлоризоциануровой кислоты (80%), причем в отношении как грибковой, так и бактериальной микрофлоры. Кроме этого, он был менее токсичным, его применение в присутствии пациентов в помещениях стационара не оказывает побочных действий. Положительными характеристиками препарата являются удобство в применении (это готовая форма, не требующая разведения) и экономичность.

Успешное решение проблемы внутрибольничных инвазивных микозов зависит от четко выстроенной и реализуемой системы профилактики. Важнейшими направлениями профилактики ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов являются: выявление кандидозного носительства, своевременная диагностика и лечение больных с локализованными формами кандидоза как источников возбудителя ИК. Необходимо проводить обязательное регулярное микологическое исследование отделяемого стерильных и «нестерильных» локусов больных для выявления кандид, их видовой идентификации и изучения активности экзоферментов (фосфолипазы и протеазы).

Ранняя диагностика ИК на основе факторов риска и клинических проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов, способствует назначению своевременной и адекватной антимикотической терапии с учетом вида выделенного возбудителя и успешному лечению заболевания.

В стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов необходимо строгое соблюдение правил асептики, стандартов проведения инвазивных процедур, оптимальный уход за мочевыми и сосудистыми катетерами, рациональное применение антибактериальных препаратов.

Важным моментом профилактики ИК в стационаре является проведение эффективных дезинфицирующих мероприятий, которые позволяют исключить инфицирование через предметы и поверхности, окружающие больного.

Важной составляющей в системе профилактики является совершенствование системы эпидемиологического надзора на основе регулярного микробиологического мониторинга пациентов, объектов больничной среды, эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.

При обнаружении признаков «эпидемического неблагополучия» по ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных необходимо безотлагательное проведение диагностических, лечебных и противоэпидемических мероприятий в очаге.

ВЫВОДЫ

1. Називные микозы у пациентов с ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях заболевания в 2007-2015 гг. характеризуются высокой распространенностью с тенденцией к росту. Частота встречаемости криптококкоза составила 5,1 на 1000 госпитализированных больных со средним темпом прироста 203,0%, ИК - 3,5 на 1000 госпитализированных со средним темпом прироста 41,5%.
2. Факторами риска возникновения инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания являются:
 - при криптококкозе - продолжительность ВИЧ-инфекции более 6 лет, предшествующее стационарное лечение в течение 30 дней (ОШ 2.677, ДИ=1.337-5.358), наличие туберкулеза (ОШ 3.711, ДИ=1.447-9.517) и ХОБЛ (ОШ 2.659, ДИ=1.335-5.298), тяжелое состояние пациентов (ОШ 10.833, ДИ=3.535-33.204), неблагоприятные жилищные условия (ОШ 3.208, ДИ=1.165-8.830) и отсутствие трудоустройства (ОШ 2.348, ДИ=1.106-4.983);
 - при инвазивном кандидозе - нахождение в ОРИТ (ОШ 5,349, ДИ=1,978-14,465), оперативные вмешательства на органах брюшной полости, предшествующее стационарное лечение в течение 30 дней (ОШ 2,545, ДИ=1,088-5,952), применение ИВЛ (ОШ 5,349, ДИ=1,978-14,465), тяжелое состояние пациентов (ОШ 6,189, ДИ=2,496-15,349), наличие ОФК (ОШ 2,815, ДИ=1,229-6,449) и туберкулеза (ОШ 3,395, ДИ=1,478-7,798); нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,924, ДИ=1,293-6,610), отсутствие трудоустройства (ОШ 4,659, ДИ=1,256-17,278) и наличие синдрома зависимости от ПАВ (ОШ 3,956, ДИ=1,678-9,330).
3. Типичным проявлением криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов является развитие острого генерализованного процесса с манифестной клинической картиной поражения ЦНС (менингоэнцефалит у всех

больных) и легких ($38,2 \pm 5,89\%$ случаев), обусловленного проникновением возбудителя аэрогенным путем с последующей диссеминацией, в отсутствие признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи. Патоморфологические изменения характеризуются наличием множественных фокусов некрозов со скоплениями криптококков без значимой перифокальной воспалительной реакции со стороны окружающих тканей не только в головном мозге и легких, но и в печени, лимфатических узлах, почках, надпочечниках, селезенке, поджелудочной и щитовидной железах и кишечнике.

4. Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных больных возникает на фоне выраженного иммунодефицита ($CD4^+$ Т-лимфоцитов меньше 200 клеток/мкл), протекает в виде тяжелого генерализованного процесса, при отсутствии у половины больных высокой лихорадки. Первичными очагами для дальнейшей гематогенной диссеминации кандид являются ротоглотка и верхние дыхательные пути. Органами-мишенями становятся легкие, сердечно-сосудистая система и головной мозг. Основными клиническими вариантами являются кандидемия и острый диссеминированный кандидоз. Не характерно развитие хронического гепато-лиенального кандидоза, поражение почек, органов зрения, кожи, подкожной клетчатки и суставов. Патоморфологические изменения при ИК определяются характером сопутствующей микрофлоры: при сочетании с бактериальной инфекцией они выражаются в форме экссудативно-некротического воспаления с формированием гнойных очагов, при комбинации с туберкулезным поражением наблюдается отграничение очагов с образованием казеозного некроза и гранулем. В небных миндалинах кандиды пенетрируют в паренхиму без выраженной ответной клеточной реакции и становятся очагом хронической грибковой инфекции.
5. Установлен высокий уровень контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских организаций различного профиля (реанимационного, хирургического, терапевтического, гинекологического,

инфекционного, стоматологического), выявлено преобладание грибковой флоры ($69,9 \pm 1,24\%$) над бактериальной. Уровень и интенсивность обсемененности микромицетами больничной среды муниципальных медицинских организаций в 1,5 раза превышали таковые в учреждениях частных форм собственности. Наиболее контаминированными оказались отделения для пациентов групп риска возникновения инвазивных микозов: ОРИТ, гематологическое, онкологическое, где доля обсемененных объектов внешней среды достигала $92,8 \pm 3,75\%$ против $20,0 \pm 1,15\%$ в родильном отделении. В воздухе преобладали плесневые грибы, а в смывах – дрожжевые. Наиболее загрязненными объектами явились вентиляционные решетки, дверные ручки, тумбочки пациентов и аппараты ИВЛ.

6. Наиболее контаминированной микромицетами оказалась больничная среда специализированного отделения для ВИЧ-инфицированных больных. Интенсивность контаминации воздуха составила $582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³ и превысила таковую в гематологическом, онкологическом и хирургическом отделениях в 5-40 раз. Выявлены достоверные различия и в интенсивности контаминации предметов больничной среды. Степень грибковой нагрузки зависела от тяжести больных, наличия у них инвазивного кандидоза и длительности нахождения в отдельных помещениях стационара. В этиологической структуре микромицетов, выделенных из клинического материала пациентов ($44,5\%$) и объектов внешней среды стационара ($84,0\%$) преобладали *C. albicans* генотипа А, которые длительно циркулировали (более 1 года) в больничной среде.
7. Разработаны основы предэпидемической диагностики внутрибольничного ИК. Установлены предвестники возникновения случаев ИК: высокий уровень колонизации *C. albicans* (преимущественно генотипа А) пациентов (до 100%) и контаминации больничной среды ($47,3 \pm 2,06\%$), увеличение колонизации не только «открытых» (ротоглотка, верхние дыхательные пути), но и «условно закрытых» (урогенитальный тракт и кишечник) локусов ВИЧ-инфицированных пациентов, рост числа пациентов с

массивной колонизацией 2-х и более локусов одновременно (с $19,1 \pm 1,96\%$ до $57,1 \pm 10,8\%$), циркуляция штаммов *C. albicans* с высокой ФЛА.

8. Доказана возможность инфицирования пациентов *C. albicans* с последующим развитием ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных контактно-бытовым путем. Установлено, что выделенные из клинического материала пациентов и смывов с объектов внешней среды общего назначения немедицинского профиля *C. albicans* имеют единый генетический профиль, свидетельствующий о внутрибольничном инфицировании пациентов. Ведущими факторами передачи в реализации контактно-бытового пути заражения явились дверные и прикроватные ручки, тумбочки в палатах и руки больных.
9. Сформулирована концепция развития внутрибольничного инвазивного кандидоза. Даны рекомендации по совершенствованию его клинико-эпидемиологической диагностики и профилактики на основе выявленных клинико-патогенетических особенностей заболевания у ВИЧ-инфицированных, внедрения в систему эпидемиологического надзора за ИСМП микробиологического мониторинга пациентов и объектов больничной среды на микромицеты с использованием молекулярно-генетических методов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо включить в стандарты проведения микробиологического мониторинга в стационарах высокого риска развития инвазивных микозов контроль за содержанием микромицетов в воздушной среде медицинских организаций с нормированием показателей в зависимости от класса чистоты помещений.
2. Особое внимание следует уделить контролю за контаминацией микромицетами больничной среды медицинских организаций с пребыванием больных групп высокого риска возникновения инвазивных микозов, прежде всего специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных больных.
3. Ввести обязательную регистрацию инвазивных микозов.
4. Для врачей-эпидемиологов медицинских организаций – проведение регулярного микробиологического мониторинга пациентов, объектов больничной среды, эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.
5. Для врачей-клиницистов:
 - выявление кандидозного носительства, диагностика и лечение больных с локализованными формами кандидоза как источников возбудителя ИК;
 - проведение обязательного регулярного микологического исследования отделяемого стерильных и «нестерильных» локусов больных для выявления кандид, их видовой идентификации и изучения активности экзоферментов (фосфолипазы и протеазы);
 - проведение ранней диагностики ИК и криптококкоза на основе учета факторов риска и клинических проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов, своевременной и адекватной антимикотической терапии с учетом вида выделенного возбудителя;

- проведение санитарно-просветительной работы среди населения (прежде всего контингентов с иммуносупрессией) по профилактике инвазивных микозов.
6. Для ВУЗов – необходимо осуществлять подготовку студентов, профессиональную переподготовку и повышение квалификации специалистов различного профиля с учетом новых данных об инвазивных микозах.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМП – антимикотические препараты

АРТ – антиретровирусная терапия

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИК – инвазивный кандидоз

ПАВ – психоактивные вещества

ОДК – острый диссеминированный кандидоз

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОФК – орофарингеальный кандидоз

ПА – протеиназная активность

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ФЛА – фосфолипазная активность

ФСИН – федеральная служба исполнения наказаний

ХГС – хронический гепатит С

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ESCMID – European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимкин, В.Г. Актуальные направления научных исследований в области неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / В.Г. Акимкин, А.В. Тутьельян, Е.Б. Брусина // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2014. – №2. – С.40-44.
2. Антонов, В.Б. Где порог толерантности микотической контаминации помещений? / В.Б. Антонов // Материалы V Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – М., 2007. – Т.9. – С.32-34.
3. Аравийский, Р.А. Диагностика микозов / Р.А. Аравийский, Н.Н. Климко, Н.В. Васильева. – СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2004. – 186 с.
4. Атлас грибковых заболеваний / под ред. Кэррол А. Кауфман, Джеральда Л. Манделла ; пер. с англ. под ред. Ю.В.Сергеева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.
5. Баландина, С.Ю. Сравнительная оценка эффективности дезинфицирующих средств при проведении текущей дезинфекции в стационаре для ВИЧ-инфицированных / С.Ю. Баландина, И.П. Чарушина, Г.А. Александрова, Н.И. Маркович // Вестник Пермского университета. – 2017. – вып.1. – С.99-103.
6. Баранцевич, Е.П. Мониторинг контаминации воздуха больничных помещений плесневыми грибами / Е.П. Баранцевич, В.Г. Гонк, Н.Е. Баранцевич // Трансляционная медицина. – 2010. – №5. – С.5.
7. Баранцевич, Е.П. Фунгемия в многопрофильном стационаре / Е.П. Баранцевич, Л.В. Иванова, И.В. Чуркина, Н.Е. Баранцевич // Материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2014. – Т.13. – С. 234.

8. Баринаова, А.Н. Микозы у ВИЧ-инфицированных больных / А.Н. Баринаова, С.Л. Плавинский, Е.Е. Зайцева // Проблемы медицинской микологии. – 2012. – Т.14, №2. – С.34-38.
9. Бартлетт, Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2009-2010 / Дж. Бартлетт, Дж. Галлант, П. Фам. - М.: Р. Валент, 2010. – 490 с.
10. Беякова, А.М. Современные критерии выбора средств для дезинфекции поверхностей / А.М. Беякова // Поликлиника. – 2012. -№1. - С. 96-99.
11. Бессараб, Т.П. Кандидоз ЛОР-органов при ВИЧ-инфекции и СПИД / Т.П. Бессараб, Т.А. Мокина // Материалы Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2003. – Т.2,№2. – С. 213-214.
12. Бойко, А.Н. Криптококкоз кожи на фоне ВИЧ-инфекции / А.Н. Бойко, В.И. Прохоренков, Т.Н. Гузей // Клиническая дерматология и венерология. – 2013. – №1. – С.38-41.
13. Бондаренко, А.Л. Эффективность комбинации амфотерицина В с флюконазолом в лечении криптококкоза центральной нервной системы у пациентов с ВИЧ-инфекцией / А.Л. Бондаренко, А.В. Протасов, О.В. Любезнова // Инфекционные болезни. – 2009. – Т.7, №4. – С.50-53.
14. Босак, И.А. Выделение и характеристика изолятов *Cryptococcus neoformans* из окружающей среды г. Санкт-Петербурга / И.А. Босак // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т.11, №3. – С.43-46.
15. Босак, И.А. Сравнительная характеристика природных и клинических изолятов *Cryptococcus neoformans* : автореф. дисс. ... канд. мед.наук / И.А. Босак. – СПб., 2009. – 24 с.
16. Букетова, А.Б. Клинико-лабораторные особенности кандидоза гениталий у ВИЧ-инфицированных женщин / А.Б. Букетова, О.А. Шурпицкая, И.В. Выборнова и др. // Проблемы медицинской микологии. - 2007. - Т.9,№1. - С.12-15.

17. Бурова, С.А. Инвазивные микозы в отделениях интенсивной терапии: обзор литературы / С.А. Бурова // Инфекции в хирургии. - 2014. - Т.12, №2. - С.12-16.
18. Варецкая, Т.А.. Колонизация *Candida spp.* полости рта ВИЧ-инфицированных людей / Т.А. Варецкая, Д.А. Оборин, Л.П. Быкова, О.И. Мясникова, А.П. Годовалов // Проблемы медицинской микологии. – 2016. - Т.18, №2. – С.49.
19. Васильева, Н.В. Диагностика и лечение инвазивных микозов: современные рекомендации / Н.В. Васильева, Н.Н. Климко, В.А. Цинзерлинг // Вестник СПб медицинской академии последипломного образования. – 2010. – Т.2, №4. – С.5-18.
20. Васильева, Н.В. Криптококки и криптококкоз на современном этапе / Н.В. Васильева // Проблемы медицинской микологии. – 2002. – Т.4., №2. – С.45-46.
21. Васильева, Н.В. Микроорганизмы - контаминанты и патогены - индукторы процессов старения больничных зданий и помещений медицинского назначения, а также возбудители некоторых заболеваний людей : учебное пособие / Н.В. Васильева, Н.П. Елинов. – СПб: Коста, 2009. – 224 с.
22. Васильева, Н.В. Ультраструктура капсул зрелых клеток штаммов *Cryptococcus neoformans* in vitro и in vivo / Н.В. Васильева, А.А. Степанова, И.А. Сеницкая // Проблемы медицинской микологии. – 2006. – Т.8, №2. – С.25.
23. Васильева, Н.В. Факторы патогенности *Cryptococcus neoformans* и их роль в патогенезе криптококкоза : дис. ... д-ра. биол.наук / Н.В. Васильева. – СПб., 2005. – 340 с.
24. Веселов, А.В. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов (в вопросах и ответах) / А.В. Веселов, Р.С. Козлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия (Приложение). – 2016. – Т.18, №2. – С. 104.

25. Веселов, А.В. Эмпирическая терапия инвазивного кандидоза в отделениях реанимации и интенсивной терапии: современное состояние проблемы / А.В. Веселов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т.13, №1. – С.3-19.
26. Веселов, А.В. Эпидемиология возбудителей кандидозов и их чувствительность к азолам: результаты исследования ARTEMIS Disk в России / А.В. Веселов, И.Г. Мултых, Г.А. Клясова и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т.7, №1. – С.68-76.
27. ВИЧ-инфекция и СПИД. Национальное руководство. Краткое издание / под ред.В.В. Покровского. – М: ГЭОТАР – Медиа, 2014. – 528 с.
28. Волкова, О.Е. Клинико-патогенетические особенности криптококкового менингоэнцефалита у больных ВИЧ-инфекцией / О.Е. Волкова, Ю.Я. Венгеров, А.П. Сафонова, Т.С. Свистунова, О.А. Тишкевич // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – Т.19, №4. – С.25-29.
29. Волкова, О.Е. Криптококкоз центральной нервной системы / О.Е. Волкова, Ю.А. Венгеров / Лечащий врач. – 2013. – №10. – С.40-43.
30. Гладкова, Л.С. О нормировании плесневых грибов в воздухе лечебно-профилактических учреждений / Л.С. Гладкова, А.В. Мещерякова // Материалы 8-ой науч-практ. конф. «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений». – Москва, 2010. – С.25-26.
31. Горбич, Ю.Л. Проблемы диагностики инфекций, вызванных *Candida spp.* и современные возможности решения / Ю.Л. Горбич, И.А. Карпов // Клиническая инфектология и паразитология (приложение): научные материалы, посвященные 100-летию Минской городской клинической инфекционной больницы. – Минск, 2013. – С.11-24.
32. Гусева, Е.В. Гранулемогенез при экспериментальном кандидозном энцефалите и при применении композиции амфотерицина В с окисленным

- декстраном / Е.В. Гусева, А.П. Мазеев, О.В. Потапова, В.А. Шкурупий // Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т.12, №2. – С.81-82.
33. Гяургиева, О.Х. Кандидоз кожи при ВИЧ-инфекции / О.Х. Гяургиева // Успехи современной науки и образования. – 2016. – Т.1., №3. - С.20-22.
34. Дайняк, Л.Б. Микозы верхних дыхательных путей / Л.Б. Дайняк, В.Я. Кунельская. - М.: «Медицина», 1979. – 246 с.
35. Джафарова, К.А. Кандидозный менингит у детей / К.А. Джафарова // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т.9, №2. – С.22-23.
36. Диагностика и лечение микозов / под редакцией Д.Р.Хоспентала, М.Д.Риналди; пер. с англ. под ред. Ю.В. Сергеева. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 448 с.
37. Дрожжина, В.А. Кандидоз слизистой оболочки рта у больных ВИЧ-инфекцией на фоне проведения антиретровирусной терапии / В.А. Дрожжина, А.И. Каспина, Е.В. Степанова, А.Н. Виноградова // Институт Стоматологии. – 2008. – № 2. – С.74-76.
38. Елинов, Н.П. Медицинская микология – наука о болезнетворных для человека грибах; свершения и проблемы / Н.П. Елинов // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т.10, №2 – С. 8-10.
39. Елинов, Н.П. Прошлое и настоящее *Cryptococcus neoformans (Sanfelice) Vuillemin (1901)* как объекта изучения потенциально грозного патогена для человека / Н.П. Елинов, И.А. Босак // Проблемы медицинской микологии. – 2006. – Т.8, №2. – С.47-51.
40. Елинов, Н.П. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика / Н.П. Елинов, Н.В. Васильева, А.А. Степанова, Г.А. Чилина. - под ред. з.д.н. РФ проф. Н.П. Елинова. - СПб. : Коста, 2010. – 224 с.
41. Ермилов, В.В. Генерализованное течение криптококкоза у ВИЧ-инфицированных / В.В. Ермилов, А.В. Смирнов, Н.А. Редькина, Т.А. Шманёва, А.Я. Почепцов, Ю.И. Великородная, О.Ю. Евсюков // Вестник ВолгГМУ. – 2012. – № 1(41). – С.38-41.

42. Желтикова, Т.М. К вопросу о допустимом уровне микромицетов в воздухе помещений / Т.М. Желтикова // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т.11, №2. – С.41-43.
43. Захарова, Ю.А. Совершенствование эпидемиологического надзора за внутрибольничными гнойно-септическими инфекциями на основе оптимизации микробиологического мониторинга: метод. Рекомендации / Ю.А. Захарова, И.В. Фельдблюм. – Пермь, 2009. - 32 с.
44. Зеленова, Е.Г. Кандиды: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности / Е.Г. Зеленова, М.И. Заславская, Г.В. Махрова // Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – №1. – С.73-84.
45. Зиатдинов, В.Б. Характеристика микологической обсемененности воздуха в медицинских организациях / В.Б. Зиатдинов, Г.Г. Бадамшина, Г.Ш. Исаева // Пермский медицинский журнал. – 2016. – Т.XXXIII, №4. – С.107-112.
46. Информационный бюллетень №40 ВИЧ-инфекция / Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИД (В.В. Покровский, Н.Н. Ладная, О.И. Тушина, Е.В. Буравцова). – Москва. -2015. – 57с.
47. Казанская, З.М. Влияние нового противогрибкового средства OBR-99926061 на ультраструктуру клетки гриба *Candida albicans* в эксперименте / З.М. Казанская, Н.Э. Грамматикова Е.Е. Брагина, Т.В. Пушкина, О.Б. Рябова, В.А. Макаров, В.В. Суровцев // Успехи медицинской микологии. – 2015. – Т.14, №14. – С.339.
48. Калинина, И.И. Эпидемическая вспышка кандидемий, вызванных необычными видами *Candida non-albicans*: закономерности клинического течения и поиски источника / И.И. Калинина, Д.В. Литвинов, И.В. Веселова, Н.И. Пономарева и др. // Онкогематология. – 2011. – №1. – С.39-44.
49. Каминский, Ю.В. Инвазивные и генерализованные микозы / Ю.В. Каминский, В.С. Тимошенко, О.Г. Полушин, В.И. Колесников // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2007. – №4. – С.50-53.

50. Караев, З.О. Нозокомиальные микозы: состояние и перспективы решения проблемы / З.О. Караев // Журнал проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т.9, №3. – С.21-23.
51. Караев, З.О. Патогенез кандидоза и аллергии к грибам рода *Candida* / З.О. Караев, Т.Н. Лебедева. – Баку : Тебиб, 2007. – 215 с.
52. Карноухова, О.Г. Лабораторное подтверждение криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов в Иркутске / О.Г. Карноухова, Т.А. Платонова, С.А. Верещагина и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – №6. – С.91-93.
53. Карпунина, Т.И. Морфометрический анализ в оценке биологических свойств *C.albicans* при различных формах кандидозной инфекции влагалища / Т.И. Карпунина, Е.В. Трухина // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. – Т.ХII, №2. – С.16-18.
54. Карпунина, Т.И. Фосфолипазы оппортунистических грибов: их возможная роль в патогенезе и диагностике микозов / Т.И. Карпунина, А.А. Олина, М.Г. Машуров, Н.В. Чемурзиева, В.А. Драбкова // Проблемы медицинской микологии. – 2006. – Т.8, №4. – С.41-46.
55. Кафтырева, Л.А. Снижение микробной контаминации объектов хирургического отделения стационара при внедрении современных технологий уборки / Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, М.А. Макарова, Е.Н. Колосовская, В.Н. Ушакова // Медицинский алфавит. – 2014. – Т10. Эпидемиология и гигиена. – №2. – С.34-37.
56. Климко, Н.Н. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации / под ред. Н.Н. Климко. – М., 2010. – 87 с.
57. Климко, Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей / Н.Н. Климко – М.: Премьер МТ, 2007. – 336 с.
58. Клясова, Г.А. Инвазивные микозы в онкогематологии: современное состояние проблемы / Г.А. Клясова // Современная онкология. – 2001. – Т.3, №2. – С.61-65.

59. Клясова, Г.А. Кандидемия, вызванная *Candida albicans* и *Candida non-albicans*: характеристика, факторы риска и результаты лечения больных опухолями системы крови / Г.А. Клясова, Е.В. Блохина, А.Н. Грачева, Е.Н. Паровичникова, С.К. Кравченко, Г.М. Галстян // Материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2014. – Т.13. – С.256-258.
60. Клясова, Г.А. Профилактика, диагностика и лечение инвазивных микозов в многопрофильном стационаре у взрослых больных / Г.А. Клясова // Медицинский алфавит. – 2015. – Т.4, №20. – С.37-48.
61. Ковнер, А.В. Цитофизиологические особенности клеточного иммунитета при системном кандидозе / А.В. Ковнер, Ю.С. Бугримова, Т.В. Шаркова, О.В. Потапова // Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т.12, №2. – С.98-99.
62. Колосовская, Е.Н. Стратегия организации борьбы с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в современных условиях / Е.Н. Колосовская, З.П. Калинина, И.Г. Техова, Ю.С. Светличная // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2012. – Т.7, №2. – С.764-772.
63. Константинова, А.М. Криптококкоз при ВИЧ-инфекции (обзор литературы) / А.М. Константинова // Вестник С-Пб Университета. – 2010. – сер.11. – вып.3. – С.37-44.
64. Константинова, А.М. Патоморфологический и микологический анализ криптококкоза в эксперименте и на аутопсийном материале при ВИЧ-инфекции / А.М. Константинова // Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т.12, №4. – С.42-47.
65. Корнишева, В.Г. Микозы при ВИЧ-инфекции (Обзор литературы) / В.Г. Корнишева, Е.Ю. Могилева // Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т.15, №4. – С. 10-19.

66. Короткова, Т.Н. Диагностика и лечение локального и генерализованного кандидоза : автореф. дис. ... канд. мед.наук / Т.Н. Короткова. - Чебоксары, 2006. - 17 с.
67. Кузин, А.А. Систематизация и дифференциация госпитальных инфекций по эпидемиологическим и клиническим признакам / А.А. Кузин, П.И. Огарков, И.М. Самохвалов // Журнал инфектологии. - 2012. - Т.4, №1. - С.13-18.
68. Ларионова, В.Б. Кандидоз при гемобластозах / В.Б. Ларионова, Д.А. Быков // Онкогематология. – 2007. - №1. - С.62-71.
69. Лебедева, Т.Н., Иммунитет при кандидозе (обзор) / Т.Н. Лебедева // Проблемы медицинской микологии. - 2004. – Т.6, №4. – С.8-16.
70. Лендина, И.Ю. Клинико-морфологические особенности инвазивных микозов с поражением нижних дыхательных путей у пациентов с онкогематологической патологией / И.Ю. Лендина, В.В. Макарецова, Л.А. Мартемьянова // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – №1 (35). – С.95-99.
71. Лесняк, Е.В. Особенности цитоморфологической диагностики кандидоза гениталий у женщин / Е.В. Лесняк, А.К. Мирзабалаева, О.К. Хмельницкий // Проблемы медицинской микологии. – 2004. - Т.6, №3. - С.25-29.
72. Лесовой, В.С. Микозы центральной нервной системы (Обзор) / В.С. Лесовой, А.В. Липницкий // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т.10, №1. – С.3-7.
73. Лившиц, М.Л. Госпитальные инфекции: проблемы и пути решения / М.Л. Лившиц, Е.Б. Брусина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1992. - №1. - С.22.
74. Липницкий, А.Н. К терминологии некоторых микозов / А.Н. Липницкий, Н.В. Вяжкова Н.В. // Материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2014. – Т.13. – С. 432.

75. Лопатин, А.С. Орофарингеальный кандидоз в практике врача-оториноларинголога / А.С. Лопатин, А.Ю. Овчинников // Вестник оториноларингологии. – 2010. - №6. – С. 26-29.
76. Любимова, А.В. Эпидемиология госпитального кандидоза в детском стационаре для новорожденных : дис. ... канд. мед.наук / А.В. Любимова. – СПб, 1995. - 147 с.
77. Макарова, Н.Ю. Эпидемиология микозов в стационаре у ВИЧ-инфицированных / Н.Ю. Макарова, В.В. Покровский // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. - №6. - С.47-49.
78. Мамедова, Л.Р. Этиологическая характеристика нозокомиальных инфекций мочевыводящих путей / Л.Р. Мамедова, З.О. Караев // Проблемы медицинской микологии. – 2010. - Т.12, №3. - С.13-15.
79. Медицинская микология : руководство / В.А. Андреев, А.В. Зачиняева, А.В. Москалев, В.Б. Сбойчаков ; под ред. В.Б. Сбойчакова. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 208 с.
80. Михед, Т.М. Кандидоз ротовой полости у ВИЧ-инфицированных / Т.М. Михед, Е.Л. Красавцев, Д.Д. Редько // Проблемы здоровья и экологии. - 2010. - №1(23). - С.43-47.
81. Наголкин, А.В. Обеззараживание воздуха в медицинских организациях: тенденции развития / А.В. Наголкин, Е.В. Володина, В.Г. Акимкин, А.П. Борисоглебская, А.С. Сафатов // Медицинский алфавит. – 2015. - Т.1 Эпидемиология и гигиена. - №6. - С.44-49.
82. Национальные рекомендации «Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии» – Москва, 2010. – 92 с.
83. Нехаев, И.В. Диагностика и лечение системных микозов в онкохирургии / И.В. Нехаев, А.О. Приходченко, С.В. Ломидзе, А.В. Сытов // Инфекции в хирургии. - 2014. - Т.12, №2. - С.17-21.
84. Николенко, М.В. Суточная динамика фосфолипазной активности *Candida albicans* / М.В. Николенко // Проблемы медицинской микологии. – 2010. - Т.12, №2. - С.49-52.

85. Новоселова, И.К. Об участии частного сектора здравоохранения в реализации территориальной программы обязательного медицинского страхования Пермского края / И.К. Новоселова // Итоги и перспективы развития системы обязательного медицинского страхования на территории Пермского края: материалы научно-практической конференции. – Пермь, 2013. - С.21-34.
86. Павлова, И.Э. Биоповреждения в больничных зданиях Санкт-Петербурга / И.Э. Павлова // Проблемы медицинской микологии. - 2005. - Т.7, №4. - С.3-12.
87. Пархоменко, Ю.Г. Патология легких при ВИЧ-ассоциированных инфекциях / Ю.Г. Пархоменко, Ю.Р. Зюзя, О.А. Тишкевич // Архив патологии. – 2008. – Т.70, №6. – С.44-48.
88. Поддубная, А.И. Грибковые поражения у ВИЧ-позитивных лиц в северо-восточном регионе Украины / А.И. Поддубная, Н.Д. Чемич // Проблемы медицинской микологии. - 2011. - Т.13, №2. - С.102.
89. Покровский, В.И. Внутрибольничные инфекции: новые горизонты профилактики / В.И. Покровский, В.Г. Акимкин, Н.И. Брико, Е.Б. Брусина и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2011. - №1. -С.4-7.
90. Покровский, В.В. Инфекция, вызываемая вирусом иммунодефицита человека в России / В.В. Покровский // Тер. архив. – 2016. - №88(11). – С. 4-11.
91. Покровский, В.В. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция и СПИД / В.В. Покровский. – М: ГЭОТАР – Медиа, 2010. - 192 с.
92. Покровский, В.И. Основы современной классификации инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / В.И. Покровский, Е.Б. Брико, Е.Б. Брусина, А.С. Благоданова, Л.П. Зуева, О.В. Ковалишена и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. -2011. - №3. - С.4-10.

93. Попов, Д.А. Послеоперационные кандидемии / Д.А. Попов, Н.В. Белобородова, А.Р. Седрадян // Клиническая анестезиология и реаниматология. - 2009. - Т.6. №6. - С.4-13.
94. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Смоленск: МАКМАХ, 2007 - 464 с.
95. Проценко, О.А. ВИЧ-ассоциированные поражения кожи и слизистых оболочек / О.А. Проценко // Международный медицинский журнал. - 2009. - №3. - С.106-110.
96. Пятакова, А.В. Первый случай успешного лечения кандидозного эндокардита (возбудитель *Candida Parapsilosis*) у больной комбинированным ревматическим пороком сердца / А.В. Пятакова, Е.В. Шагдилеева, А.Л. Арутюнян, Д.Г. Грамматиков и др. // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т.17, №4. – С.29-33.
97. Рауш, Е.Р. Определение видов возбудителей инвазивного кандидоза: в поиске быстрых решений / Е.Р. Рауш, Н.В. Васильева, А.Г. Полищук, Е.В. Шагдилеева, Д.М. Лавникевич, М.В. Руднева, Ю.В. Михайлова, Н.Н. Климко // Проблемы медицинской микологии. – 2013. - Т.15, №4. - С.87-91.
98. Рахманова, А.Г. Удельный вес микозов в структуре вторичных заболеваний у больных ВИЧ/СПИДом / А.Г. Рахманова, Ю.В. Лобзин и др. // Проблемы медицинской микологии. -2004. - Т.6, №1. - С.9-12.
99. Редько, Д.Д. Орофарингеальный кандидоз при ВИЧ-инфекции / Д.Д. Редько, И.Д. Шляга, В.А. Осипов, С.В. Жаворонок // Материалы науч-практ. конф. по медицинской микологии «XI Кашкинские чтения». – СПб., 2008. - Т.10, №2. - С.73-75.
100. Садвикас, А.С. Патогенный потенциал антибиотиков в развитии кандидозов / А.С. Садвикас // Успехи медицинской микологии. – 2013. – Т.11. – С.111-113.

101. Садилова, В.А. ВИЧ-ассоциированные заболевания пародонта: особенности клинических проявлений, совершенствование методов диагностики и лечения у пациентов с высоким уровнем приверженности к АРВТ : дис. ... канд.мед.наук / В.А. Садилова. – Пермь, 2014. – 199 с.
102. СанПиН 2.1.3.1375-03. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. М.: Минздрав России, 2003.
103. СанПиН 2.1.3.2630-10. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. М.: Минздрав России, 2010.
104. Свистушкин, В.М. Орофарингеальный кандидоз: диагностика и лечение / В.М. Свистушкин // Клиническая фармакология и терапия. – 2010. – №19(4). – С. 67-72.
105. Семериков, В.В. Организация работы по профилактике внутрибольничных инфекций в акушерском стационаре: микологический контроль и выбор дезсредств / В.В. Семериков, И.О. Крылова, Г.А. Александрова, М.В. Злыгостева, И.Н. Кирьянова // Главная медицинская сестра. – 2010. - №7. – С.107-114.
106. Сергевнин, В.И. Широта циркуляции плесневых грибов среди пациентов и в больничной среде детского стационара / В.И. Сергевнин, Л.Г. Кудрявцева, Л.В. Шыцина и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – №5. – С.15-19.
107. Сергеев, А.Ю. Грибковые инфекции. Руководство для врачей 2 изд. / А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев. - М.: Издательство БИНОМ, 2008. - 480 с.
108. Сергеев, А.Ю. Иммуниет при кандидозе / А.Ю. Сергеев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 1999. – №1. – С.91-99.
109. Сергеев, А.Ю. Факторы резистентности и иммуниет при глубоких микозах / А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – №1. – С.15-20.

110. Степанова, А.А. Изучение слизистых оболочек при кандидозе у ВИЧ-инфицированного больного / А.А. Степанова, М.А. Шевяков, Ю.Л. Авдеенко, И.А. Сеницкая, Г.А. Чилина // Проблемы медицинской микологии. – 2011. - Т.13, №1. - С.54-61.
111. Соболев, А.В. Клиника, диагностика и лечение микогенной аллергии / А.В. Соболев, О.В. Аак // Проблемы медицинской микологии. - 2012. - Т.14, №1. - С. 37-39.
112. Суханова, Ю.А. Микромицеты – контаминанты больничных помещений : дис. ... канд. мед.наук / Ю.А. Суханова. - СПб, 2009. - 140 с.
113. Таха, Т.В. Кандидоз как суперинфекция у онкологических больных: клиника и лечение / Т.В. Таха // Рус. мед. журнал. - 2003. - №26. - С.1473-1475.
114. Тертышникова, В.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика некоторых микозов у ВИЧ-инфицированных женщин, находящихся в условиях пенитенциарной системы / В.В. Тертышникова // Фундаментальные исследования. - 2009. - №5. - С.113-117.
115. Фельдблюм, И.В. Внутрибольничные инфекции: вопросы терминологии и современной классификации / И.В. Фельдблюм, Ю.А. Захарова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2009. - №1(44). - С.19-24.
116. Филиппова, Л.В. Особенности иммунного ответа на штаммы *Cryptococcus neoformans* разной вирулентности : дис. ... канд. мед.наук / Л.В. Филиппова. – СПб., 2014. – 142 с.
117. Филиппова, Л.В. *Cryptococcus neoformans* и врожденный иммунитет / Л.В. Филиппова, Е.В. Фролова // Проблемы медицинской микологии. – 2011. - Т.13 (2). - С.10-12.
118. Харазова, Л.В. Гепатолиенальный и ренальный кандидоз в детской гематологии / Л.В. Харазова, Г.О. Бронин, А.М. Тимаков и др. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2003. – Т.2, № 4. – С.40–45.

119. Харахордин, О.Е. Особенности течения кандидозов у пациентов с иммунодефицитом / О.Е. Харахордин // Военно-медицинский журнал. – 2009. - №8. - С.46-53.
120. Хмельницкий, О.К. Гистологическая диагностика поверхностных и глубоких микозов / О. К. Хмельницкий. – Ленинград.: 1973. - 239 с.
121. Хмельницкий, О.К. Кандиданосительство, просветочная кандидопатия, инвазивный кандидоз / О.К. Хмельницкий // Проблемы медицинской микологии. – 1999. - Т.1,№1. - С.12-17.
122. Хмельницкий, О.К. Кандидоз (Патологическая анатомия, химиотерапия, лечебный патоморфоз) / О.К. Хмельницкий, Р.А. Аравийский, О.Н. Экземпляров. – Ленинград : Медицина, 1984. - 200 с.
123. Хмельницкий, О.К. Особенности поражения головного мозга при криптококковой инфекции / О.К. Хмельницкий, Р.А. Насыров, Н.В. Васильева // Проблемы медицинской микологии. – 2000. - Т.2,№2. - С.35-36.
124. Хмельницкий, О.К. Патоморфологическая диагностика микозов, вызываемых условно-патогенными грибами: пособие для врачей / О.К. Хмельницкий, В.Л. Быков, Н.М. Хмельницкая. – СПб.: 1999. - 36 с.
125. Хмельницкий, О.К. Патоморфология криптококкоза головного мозга при иммунодефицитных состояниях различного генеза / О.К. Хмельницкий, Р.А. Насыров, Н.В. Васильева и др. // Архив патологии. -2005. - №2. - С.10-13.
126. Хмельницкий, О.К. Патоморфология микозов человека / О.К. Хмельницкий, Н.М. Хмельницкая. – СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2005. - 432 с.
127. Ходунова, Е.Е. Криптококкоз в гематологической практике / Е.Е. Ходунова, И.Н. Фролова, Е.Н. Паровичникова, С.К. Кравченко, Г.М. Галстян, И.Э. Костина, Е.А. Михайлова, А.Н. Грачева, Г.А. Клясова // Тер.архив. – 2013. - №11. - С.41-46.

128. Хостелиди, С.Н. Случай успешного лечения криптококкового менингоэнцефалита у пациента с хроническим лимфоцитарным лейкозом / С.Н. Хостелиди, В.Г. Потапенко, Э.Н. Шейдаева, И.А. Самородова и др. // Проблемы медицинской микологии. – 2013. - Т.15, №4. - С.31-36.
129. Цинзерлинг, А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. Руководство / А.В. Цинзерлинг, В.А. Цинзерлинг. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб. : СОТИС, 2002. - 352 с.
130. Чарушина, И.П. Клинико-микробиологическая характеристика орофарингеального кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания / И.П. Чарушина, А.О. Чарушин, А.М. Еловигов, Н.Н. Воробьева, Г.Г. Котрецкая // Вестник оториноларингологии. – 2017. - №82(6). – С.7-10.
131. Черновецкий, М.А. Частота выявления возбудителей сопутствующих инвазивных микозов у детей с онкологическими и гематологическими заболеваниями / М.А. Черновецкий, Т.Т. Кульбицкая // Материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2014. - Т.13. – С. 243.
132. Шагдилеева, Е.В. Клинико-лабораторные особенности внутрибольничного инвазивного кандидоза : дис. ... канд. мед.наук / Е.В. Шагдилеева. - СПб., 2014. - 121 с.
133. Шагдилеева, Е.В. Случай успешного лечения рецидивирующего диссеминированного кандидоза с поражением ободочной кишки и легких у пациентки, получающий хронический гемодиализ / Е.В. Шагдилеева, Е.Р. Рауш, Ю.Э. Мелехина, Р.М. Чернопятова, Ю.В. Борзова, С.Н. Хостелиди, С.М. Игнатьева, Т.С. Богомоллова, Н.Н. Климко // Материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии «Успехи медицинской микологии». – Москва, 2014. - Т.13. – С.280-281.
134. Шахбазова, Е.Н. Первые случаи криптококкоза в Республике Татарстан / Е.Н. Шахбазова, Е.Н. Жадько, Е.Ю. Котляр и др. // Практическая медицина. – 2014. - №7 (83). - С.43-46.

135. Шахгильдян, В.И. Спектр, особенности клинического течения, диагностика оппортунистических заболеваний у ВИЧ-инфицированных больных инфекционного стационара Москвы / В.И. Шахгильдян, Т.Е. Васильева, А.Б. Перегудова и др. // Тер.архив. - 2008. - Т.80,№11. - С.10-17.
136. Шевяков, М.А. *Candida species* в кишечнике: клинические аспекты / М.А. Шевяков, Е.Б. Авалуева, Н.В. Барышникова // Проблемы медицинской микологии. – 2007. - Т.9, №4. - С.4-11.
137. Шестопалов, Н.В. Дезинфектология и дезинфекционное дело – основа неспецифической профилактики инфекционных болезней / Н.В. Шестопалов // Микробиология. - 2013. - №1. - С.105-108.
138. Шестопалов, Н.В. Дезинфектология как молекулярно-эпидемиологическое направление борьбы с инфекциями / Н.В. Шестопалов, М.Г. Шандала // Микробиология. - 2014. - №1. - С.66-70.
139. Эсайоглу, С. Определение оппортунистических инвазивных грибковых инфекций у иммунокомпрометированных пациентов с опухолевым заболеванием и трансплантатами гемопоэтических стволовых клеток: международное соглашение / С. Эсайоглу, Дж.Х. Рекс, Б.де Поу, Дж.Е. Беннет, Дж. Билл, Ф. Крокирт и др. // Проблемы медицинской микологии. - 2003. - Т.5, №1. -С.10-14.
140. Ahmad, S. PCR-enzyme immunoassay of rDNA in the diagnosis of candidemia and comparison with amplicon detection by agarose gel electrophoresis / S. Ahmad, A. Mustafa, Z. Khan et al. // Int. J. Med. Microbiol. – 2004. - №294(1). – P. 45-51.
141. Almirante, B. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. / B. Almirante, D. Rodriguez, B. J. Park, M. Cuenca–Estrella, A. M. Planes, M. Almela, J. Mensa, F. Sanchez, J. Ayats, M. Gimenez, P. Sabolls, S. K. Fridkin, J. Morgan, J. L. Rodriguez–Tudela, D. W.

- Warnock, A. Pahissa, and the Barcelona Candidemia Project Study Group // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43. – P.1829–1835.
142. Antinori, S. *Cryptococcus neoformans* infection in a cohort of Italian AIDS patients: natural history, early prognostic parameters, and autopsy findings / S. Antinori, L. Galimberti, C. Magni et al. // *Eur.J.Clin.Microbiol. Infect.Dis.* - 2001. -Vol.20. - P. 711-717.
143. Arendrup, M.C. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009) / M.C. Arendrup, B. Bruun, J.J. Christensen et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2011. – Vol. 49. – Suppl. 1. – P. 325–334.
144. Baddley, J. Pulmonary cryptococcosis in patients without HIV infection: factors associated with disseminated disease / J. Baddley, J. Perfect, R. Oster // *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* - 2008. - Vol.27, № 10. - P. 937-943.
145. Barnes, R.A. Early diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients / R.A. Barnes // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2008. - Vol. 61. – Suppl. 1. – P. 3–6.
146. Bianic, T. Cryptococcal meningitis / T. Bianic, T. Harrison // *British Medical Bulletin*. - 2005. - Vol.72, № 1. - P. 99-118.
147. Bianic, T. Special report on 7 International Conferense on *Cryptococcus* and *Cryptococcosis* / T. Bianic, T. Boehhout, M. Del Poeta et al. // *Mycology newsletter*. - 2008. - P. 10-24.
148. Blot, S. Effects of nosocomial candidemia on outcomes of critically ill patients. / S. Blot, K. Vandewoude, E. Hoste, F. Colardyn // *The American Journal of Medicine*. – 2002. – Vol. 113. – P. 480–485.
149. Boland, J.M. Fungal prosthetic valve endocarditis: Mayo Clinic experience with a clinicopathological analysis / J. Boland, H. Chung, F. Robberts et al. // *Mycoses*. - 2011. - Vol.54. - P. 354-360.
150. Bone, R. Let's agree on terminology: definitions of sepsis / R. Bone // *Journal Critical Care Medicine*. – 1991. - №19. – P. 973-976.

151. Bose, I. A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans* / I. Bose, A.J. Reese, J.J. Cry et al. // Eukaryotic Cell. – 2003. – Vol. 2. – N 4. – P. 655-663.
152. Bouza, E. Epidemiology of candidemia in intensive care units / E. Bouza, P. Muñoz // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2008. - №32(2). – P. 87–91.
153. Brown, G. Hidden Killers: Human Fungal Infections / G. Brown, D. Denning, N. Gow et al. // Science Translational Medicine. – 2012. – Vol. 4. – P. 165.
154. Cassone, A. *Candida* and candidiasis in HIV-infected patients: where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders / A. Cassone, R. Cauda // AIDS. – 2012. – Vol. 26, №12. – P. 457-1472.
155. Chalmers, C. Epidemiology and management of candidaemia- a retrospective multicentre study in five hospitals in the UK. / C. Chalmers, S. Gaur, J. Chew, et al. // Journal of Mycoses. – 2011. – Vol. 54. – Suppl. 6. – P. 795–800.
156. Chen, S. Australian Candidemia Study Active surveillance for candidemia, Australia / S. Chen, M. Slavin, Q. Nguyen et al. // Journal Abbreviation: Emerging Infectious Diseases. – 2006. – Vol. 12. – Suppl. 10. – P. 1508–1516.
157. Chen, K. Comparison of four molecular typing methods to assess genetic relatedness of *Candida albicans* clinical isolates in Taiwan / K. Chen, H. Lo, Y. Lin, S. Li // Journal of Medical Microbiology. – 2005. - №54. – P. 249–258.
158. Chretien, F. Pathogenesis of cerebral *Cryptococcus neoformans* infection after fungemia / F. Chretien, O. Lortholary, I. Kansau et al. // J.Infect. Dis.- 2002. - Vol.186 - P. 522-530.
159. Cisterna, R. Spanish Candidemia Surveillance Group Nationwide sentinel surveillance of bloodstream *Candida* infections in 40 tertiary care hospital in Spain / R. Cisterna, G. Ezpeleta, O. Tellaria et al. // Journal of Clinical Microbiology. – 2010. – Vol. 48. – Suppl. 11. – P. 4200–4206.

160. Cleveland, A.A. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: Results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011 / A.A. Cleveland, M.M. Farley, L.H. Harrison et al. // *World Journal of Clinical Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 55. – Suppl. 10. – P. 1352–1361.
161. Colombo, A.L. Brazilian Network Candidemia Study Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers / A.L. Colombo, M. Nucci, B.J. Park et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2006. – Vol. 44. – Suppl. 8. – P.2816–2823.
162. Costa, F. Genotypic analysis of *Candida albicans* isolates obtained from removable prosthesis wearers / F. Costa, C. Manaia, M. Figueira, E. Pinto // *Lett Appl Microbiol*. – 2008. - №46(4). – P. 445-449.
163. Cross, C.E. Ingestion of acapsular *Cryptococcus neoformans* occurs via mannose and β -glucan receptors, resulting in cytokine production and increased phagocytosis of the encapsulated form / C.E. Cross, G.J. Bancroft // *Infect. Immun*. – 1995. – Vol. 63, № 7. – P. 2604-2611.
164. Da Matta, D. Multilocus sequence typing of sequential *Candida albicans* isolates from patients with persistent or recurrent fungemia / D. Da Matta, A. Melo, T. Guimarães et al. // *Med. Mycol*. - 2010. - №48(5). - P. 757-762.
165. Dark, P. Bench-to-bedside review: the promise of rapid infection diagnosis during sepsis using polymerase chain reaction-based pathogen detection / P. Dark, P. Dean, G. Warhurst // *Journal of Critical Care*. – 2009. – Vol. 13. – P. 217.
166. Del Poeta M. Role of phagocytosis in the virulence of *Cryptococcus neoformans* / M. Del Poeta // *Eukaryot. Cell*. – 2004. - №3(5). – P. 1067-75.
167. Demertzis, J. State of the art: imaging of renal infections. / J. Demertzis, C. O. Menias // *Journal Emergency Radiology*. – 2007. – Vol. 14. – P. 13–22.
168. Diekema, D. Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. / D. Diekema., M. Pfaller. // *Journal Infection Control and Hospital Epidemiology*. – 2004. – Vol. 25. – P. 624–626.

169. Diekema, D. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades / D. Diekema, S. Arbefeville, L. Boyken, J. Kroeger, M. Pfaller // *Diagn Microbiol Infect Dis.* – 2012. – Vol. 73. – Suppl. 1. – P. 45–48.
170. Dignani M.C., Solomkin J.S., Anaisse E. Candida. In: Anaisse E., Mcginnis M.R., Pfaller M.A. Eds. *Medical Mycology*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2003. - P. 95-239.
171. Dimitrios, P. Invasive mycoses: Strategies for Effective Management / P. Dimitrios // *The American Journal of Medicine.* – 2012. - Vol.125. - Issue 1. - P. 25-38.
172. Dimopoulos, G. A 10–year survey of antifungal susceptibility of candidemia isolates from intensive care unit patients in Greece / G. Dimopoulos, A. Velegraki, M. E. Falagas // *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2009. – Vol. 53. – P. 1242–1244.
173. Dimopoulos, G. Candida albicans versus non-albicans intensive care unit-acquired bloodstream infections: differences in risk factors and outcome / G. Dimopoulos, F. Ntziora, G. Rachiotis et al. // *Journal Anesthesia and Analgesia.* – 2008. - Vol. 106. – P.523-529.
174. Dupont, B. Fungal infections in AIDS patients / B. Dupont, J. Graybill, D. Armstrong et al. // *J.Med.Vet.Mycol.* – 1992. – Vol. 30. - Suppl.1. – P. 19-28.
175. Eggimann, Ph. Preventing invasive candida infection. Where could we do better? / Ph. Eggimann, Q. Yok-Ai, J. Revelly, J. Pagani // *J.of Hospital infection.* – 2015. - Vol.89. - Issue 4. - P. 302-308.
176. Enoch, D. Invasive fungal infection: a review of epidemiology and management options / D. Enoch, H. Ludman, N. Broun // *J.Med.Microbiol.* – 2006. - Vol.55. - P. 809-818.
177. Erami, M. Recurrent arthritis by Candida glabrata, a diagnostic and therapeutic challenge / M. Erami, H. Afzali, M. M. Heravi, A. Rezaei–Matehkolaei, M. J. Najafzadeh, M. Moazeni, S. Dolatabadi, L. Hosseinpour // *Mycopathologia.* – 2014. – Vol. 177. – Suppl. 5–6. – P. 291–298.

178. Farrokh, R. The Relationship between skin manifestations and CD4 counts among HIV positive patients/ R. Farrokh, G. Ebrahim et al. // Pak.J.Med.Sci.-2008 – Vol.24. - P. 114-117.
179. Feldmesser, M. Antibody interactions with the capsule of *Cryptococcus neoformans* / M. Feldmesser, J. Rivera, Y. Kress et al. // Infect. Immun. – 2000. – Vol. 68, № 6. – P. 3642-3650.
180. Fonseca, A. *Cryptococcus Vuillemin (1901). The yeasts: a taxonomic study* / A. Fonseca, T. Boekhout, J. Fell et al. // Elsevier Science & Technology, Amsterdam, 2011. – P. 1665-1741.
181. Galan, A. Rapid PCR-based test for indentifying *Candida albicans* by using primers derived from the pH-regulated *KER1* gene / A. Galan, V. Veses, A. Murgui et al. // FEMS Yeast Res. – 2006. - №6(7), - P. 1094-100.
182. Ganesan, V. *Candida Endocarditis: The Insidious Killer* / V. Ganesan, G. Kumar, S. Ponnusamy // J.Glob.Infect.Dis. - 2015. - Vol.7, № 1. - P. 48-50.
183. Garrouste–Orgeas, M. Excess risk of death from intensive care unit-acquired nosocomial bloodstream infections: a reappraisal. / M. Garrouste–Orgeas, J. Timsit, M. Tafflet et al. // Journal Clinical Infection Diseases. – 2006. – Vol. 42. – P. 1118–1126.
184. Garzoni, C. *Candida parapsilosis endocarditis: a comparative review of the literature* / C. Garzoni, V. A. Nobre, J. Garbino // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 26. – Suppl. 12. – P. 915–926.
185. George, J. *Infection Nosocomail Fungal Infections* / George J.Alangaden, Suleyman G. // Disease Clinics of North America. - 2016. - Vol.30. - Issue4. - P. 1023-1052.
186. Gileva, O.S. Spectrum of oral manifestayions of HIV/AIDS in the Perm region (Russia) and indefication of self-induced ulceronecrotic lingual lesions / O.S. Gileva, M.V. Sazhina, E.S. Gileva et al. // Med.Oral. - 2004. - Vol.9.- P. 212-215.

187. Gow, N.A. Fungal morphogenesis and host invasion / N.A. Gow, A.J. Brown, F.C. Odds // *Curr.Opin.Microbiol.* - 2002. - Vol.5. - P. 366-371.
188. Guo, F. China-SCAN Team Invasive candidiasis in intensive care units in China: a multicentre prospective observational study / F. Guo, Y. Yang, Y. Kang, et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* – 2013. – Vol. 68. – Suppl. 7. – P. 1660–1668.
189. Hadley, S. Candidemia as a cause of septic shock and multiple organ failure in nonimmuno-compromised patients / S. Hadley, W.W. Lee, R. Ruthazer, S. A. Nasraway // *Journal of Critical Care Medicine.* – 2002. – Vol. 30. – P. 1808–1814.
190. Hajjeh, R. Cryptococcosis: population-based multistate active surveillance and risk factors in human immunodeficiency virus-infected persons. Cryptococcal Active Surveillance Group / R. Hajjeh, L. Conn, D. Stephens et al. // *J.Infect. Dis.* – 1999. - №179. - P. 449-454.
191. Hattori, H. Genotype analysis of *Candida albicans* isolates obtained from different body locations of patients with superficial candidiasis using PCRs targeting 25S rDNA and ALT repeat sequences of the RPS / H. Hattori, T. Iwata, Y. Nakagawa et al. // *Journal of Dermatological Science.* – 2006. - №42. – P. 31-46.
192. Hernandez-Torres, A. *Candida spp.* endocarditis. Experience in a third-level hospital and review of literature / A. Hernandez-Torres, E. Garsia-Vazquez, A. Laso-Ortiz et al. // *Rev.Esp.Quimioter.* – 2013. - Vol.26, №1. - P. 51-55.
193. Holley, A. Temporal trends, risk factors and outcomes in *albicans* and non-*albicans* candidaemia: an international epidemiological study in four multidisciplinary intensive care units / A. Holley, J. Dulhunty, S. Blot et al. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2009. – Vol. 33. – P. 554–557.
194. Horn, D.L. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry / D. L. Horn, D. Neofytos, E. J. Anaissie et al. // *World Journal of Clinical Infectious Diseases.* – 2009. – Vol. 48. – P. 1695–1703.

195. Ibrahim, A. Evidence implicating phospholipases as a virulence factor of *Candida albicans* / A. Ibrahim, F. Mirbord, S. Filler et al. // *Infect. Immun.* – 1995. - №63. – P. 1993-1998.
196. Idnurm, A. Deciphering the model pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* / A. Idnurm, Y. Bahn, K. Nielsen et al. // *Nat Rev Microbiol.* – 2005. – Vol. 3, № 10. – P.753-764.
197. Invasive Candidiasis Statistics (webpage on the Internet) Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. – 2012. (Accessed. October 24, –2013).
198. Iwata, T. Genotyping of *Candida albicans* on the basis of polymorphisms of ALT repeats in the repetitive sequence (RPS) / T. Iwata, H. Hattori, H. Chibana et al. // *Journal of Dermatological Science.* -2006. - №41. – P. 43-54.
199. Junqueira, J.C. Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in Brazil / J.C. Junqueira, S.F. Vilela, R.D. Rossoni et al. // *Rev.Inst.Med.Trop.San Paulo.* - 2012. - Vol.54. - P.17-24.
200. Kentoyiannis, D. Cryptococcosis in patients with cancer / D. Kentoyiannis, W. Peitsch, B. Reddy et al. // *Clin.Infect. Dis.* - 2001. - №32(11). – P. 145-150.
201. Kett, D. Anidulafungin compared with fluconazole in severely ill patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: support for the 2009 IDSA treatment guidelines for candidiasis / D. Kett, A. Shorr, A. Reboli et al. // *Journal Critical Care Medicine.* – 2011. – Vol. 15. – P. 253.
202. Kohli, R. Fungal arthritis and osteomyelitis / R. Kohli, S. Hadley // *World Journal of Clinical Infectious Diseases.* – 2005. – Vol. 19. – P. 831–851.
203. LaFleur, M.D. Novel high-throughput screen against *Candida albicans* identifies antifungal potentiators and agents effective against biofilms / M.D. LaFleur, E. Lucumi, A.D. Napper, S.L. Diamond, K. Lewis // *J Antimicrob Chemother.* – 2011. – Vol. 66. – Suppl. 4. – P. 820–826.
204. Larsen, R. Persistens *Cryptococcus neoformans* infection of the prostate after successful treatment of meningitis. California Collaborative Treatment Group / R. Larsen, S. Bozzette, J. McCutchan et al. // *Ann.Intern.Med.* - 1989. - №111. - P. 125-128.

205. Leon, C. Usefulness of the "Candida score" for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study / C. Leon, S. Ruiz-Santana, P. Saavedra et al. // *Critical Care Medicine*. – 2009. – Vol. 37. – P. 1624–1633.
206. Leroy, O. Amar Cand Study Group Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive Candida infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006) / O. Leroy, J. P. Gangneux, P. Montravers et al. // *Journal Critical Care Medicine*. – 2009. – Vol. 37. – Suppl. 5. – P. 1612–1618.
207. Lingappan, A. Endogenous fungal endophthalmitis: causative organisms, management strategies, and visual acuity outcomes / A. Lingappan, C.C. Wykoff, T.A. Albini, D. Miller, A. Pathengay, J.L. Davis, et al. // *American Journal of Ophthalmology*. – Vol. 153. – Suppl. 1. – 2012. – P. 162–166.
208. Lockhart, S.R. Species identification and antifungal susceptibility testing of Candida bloodstream isolates from population-based surveillance studies in two US cities from 2008 to 2011 / S.R. Lockhart, N. Iqbal, A.A. Cleveland et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2012. – Vol. 50. – Suppl. 11. – P. 3435–3442.
209. Lopez-Ribot, J. Comparison of DNA-based typing methods to assess genetic diversity and relatedness among *Candida albicans* clinical isolates / J. Lopez-Ribot, R. McAtee, W. Kirkpatrick et al. // *Rev Iberoam Micol.* - 2000. - №17. – P. 49–54.
210. Lupo, P. Gene expression analysis shows a role for the capsule of *Cryptococcus neoformans* in preventing dendritic cell activation / P. Lupo, Y. Chang, B. Kelsall et al. // *Abstr. 6th International Conference on Cryptococcus & Cryptococcosis, June 24-28, 2005, Boston, USA*. – P. 142.
211. Macphail, G.L. Epidemiology, treatment and outcome of candidemia: a five-year review at three Canadian hospitals. / G.L. Macphail, G.D. Taylor, M. Buchanan-Chell, C. Ross, S. Wilson, A. Kureishi // *Journal of Mycoses*. – 2002. – Vol. 45. – Suppl. 5–6. – P.141–145.

212. Manns, J.M. Production of a hemolytic factors by *Candida albicans* / J.M. Manns, D.M. Mosser, H.R. Buckley // *Infect Immun.* – 1994. – № 62. – P. 5154-5156.
213. McCullough, M. Molecular and phenotypic characterization of genotypic *Candida albicans* subgroups and comparison with *Candida dubliniensis* and *Candida stellatoidea* / M. McCullough, K. Clemons, D. Stevens // *J Clin Microbiol.* – 1997. -№37. – P. 417-421.
214. McKinnon, P.S. Temporal assessment of Candida risk factors in the surgical intensive care unit / P.S. McKinnon, D.A. Goff, J.W. Kern et al. // *Arch. Surg.* – 2001. – Vol. 136. – P. 1401–1408.
215. McMullan, R. A prospective clinical trial of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults / R. McMullan, L. Metwally, P. V. Coyle et al. // *World Journal of Clinical Infectious Diseases.* – 2008. – Vol. 46. – P. 890–896.
216. Meyer, E. No increase in primary nosocomial candidemia in 682 German intensive care units during 2006 to 2011 / E. Meyer et al. // *Eurosurveillance.* – 2013. - Vol.18. – P. 24.
217. Mikulska, M. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia / M. Mikulska, T. Calandra, M. Sanguinetti et al. // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 14. – P. 222.
218. Millar, B. Frequency and distribution of group I intron genotypes of *Candida albicans* colonizing critically ill patients / B. Millar, J. Xu, R. McMullan et al. // *Br J Biomed Sci.* – 2005. - №62. – P. 24-27.
219. Mitchell, T.G. Cryptococcosis in the era of AIDS: 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans* / T.G. Mitchell, J.R. Perfect // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1995. – Vol. 8. – P. 515-548.
220. Mitrovic, S. In vitro proteinase and phospholipase activity and pathogenicity of *Candida species* / S. Mitrovic, I. Kranjcic, V. Arsic, A. Dramic // *J. Chemother.* – 1995. – Vol.7, №4. – P. 43-45.

221. Molecular detection of human fungal pathogens / Edited by Dongyou Liu. - CRC Press Taylor & Francis Group, 2011.
222. Montagna, M.T. Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: Results of a multicenter Italian survey (AURORA Project) *Infection*. / M. T. Montagna, G. Caggiano, G. Lovero, et al. / *Journal of Infectious*. – 2013. – Vol. 41. – Suppl. 3. – P. 645–653.
223. Moore, D. The 21st Century Guidebook to Fungi / D. Moore, G. Robson, T. Trinci. - New York, 2011. - 628 p.
224. Muskett, H. Risk factors for invasive fungal disease in critically ill adult patients: a systematic review / H. Muskett, J. Shahin, G. Eyres et al. // *Critical Care Medicine*. – 2011. – Vol. 15. – P. 287–287.
225. Nguyen, M. Outcomes of central nervous system cryptococcosis vary with host immune function: result from a multi-center, prospective study / M. Nguyen, S. Husain, C. Clancy et al. // *J. Infect.*- 2010. - Vol.61, № 5. - P. 419-426.
226. Nilgün, K. Fungemia and Renal Fungus Ball Formation with *Candida norvegensis* in a Child with Acute Lymphoblastic Leukemia / K. Nilgün, K. Sibel, T. İlknur, E. Erol, K. İftihar // *The Turkish Journal of Pediatrics*. – 2011. – Vol. 53. – P. 448–451.
227. Njambi, S. Fungal neuroinfections: rare disease but unacceptably high mortality. / S. Njambi, M. Huttova, M. Kovac et al. // *Journal Neuroendocrinology Letters*. – 2007. – Vol. 28. – P. 25–26.
228. Nucci, M. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America / M. Nucci, F. Queiroz–Telles, A. M. Tobón, A. Restrepo, A. L. Colombo // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 51. – Suppl. 5. – P. 561–570.
229. Oeser, C. The epidemiology of neonatal and pediatric candidemia in England and Wales, 2000–2009 / C. Oeser, T. Lamagni, P.T. Heath, M. Sharland, S. Ladhani // *Pediatr Infect Dis J*. – 2013. – Vol. 32. – Suppl. 1. – P. 23–26.
230. Olszewski, M. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system

- invasion / M. Olszewski, M. Noverr, G. Chen et al. // Am. J. Pathol. – 2004. – Vol. 164. – P. 1761-1771.
231. Owotade, F. Virulence of oral *Candida* isolated from HIV-positive women with oral candidiasis and asymptomatic carriers / F. Owotade, M. Patel // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. - 2014. - Vol.118. -Issue 4. - P. 455–460.
232. Pagano, L. Cryptococcosis in patients with hematologic malignancies. A report from GIMEMA- infection / L. Pagano, L. Fianchi, C. Caramatti et al. // Haematologica. – 2004. - №89(7). – P. 852-856.
233. Pappas, P. Clinical Practice Guidelines for the management of candidiasis: 2009 Update by the Infectious Society of America / P. Pappas, C. Kauffman, D. Andes et al. // Clin. Infect Dis. – 2009. - Vol.48. - P. 503-535.
234. Pappas, P. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients in the era of effective azole therapy / P. Pappas, J. Perfect, G. Cloud et al. // Clin.Infect. Dis. - 2001. - №33(5). – P. 690-699.
235. Pappas, P. Invasive candidiasis. / P. Pappas // Infect Dis Clin North Am. – 2006. – Vol. 120. – Suppl. 3. – P. 485–506.
236. Park, B. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS / B. Park, K. Wannemuehler, B. Marston et al. // AIDS. – 2009. – Vol. 23. – P. 525-530.
237. Pelemis, M. A rare case of *Candida Parapsilosis* endocarditis in a young healthy woman – case report / M. Pelemis, G. Stevanovic, L. Lavadinovic et al. // J.Cardiothorac.Surg. - 2013. - Vol.8. - P. 29.
238. Perfect, J. Cryptococcosis / J. Perfect, A. Casadevall // Infect. Dis.Clin.North Am. - 2002. - №16. - P. 837-874.
239. Perfect, J. *Cryptococcus neoformans* / J. Perfect // Mandell, Douglas, and Bennetts Principles and Practice of Infectious Diseases: 6th ed. Eds G.L. Mandell, J.E. Bennetts, R.Dolin. - Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone. - 2005. - P. 2997-3012.

240. Perlroth, J. Nosocomial Fungal infections: epidemiology, diagnosis and treatment / J. Perlroth, B. Choif, B. Spellberg // *Medical Mycology*. – 2007. - №45. – P. 321-346.
241. Pfaller, M.A. Epidemiology of invasive mycoses in North America / M. Pfaller, D. Diekema // *Critical reviews in microbiology*. – 2010. - Vol.36. - Issue 1. - P. 1-53.
242. Playford, E. Candidemia in nonneutropenic critically ill patients: risk factors for non-albicans *Candida* spp. / E. Playford, D. Marriott, Q. Nguyen et al. // *Journal Critical Care Medicine*. – 2008. – Vol. 36. – P. 2034–2039.
243. Poikonen, E. Secular trend in candidemia and the use of fluconazole in Finland, 2004–2007. / E. Poikonen, O. Lyytikäinen, V. J. Anttila et al. // *BMC Infect Dis*. – 2010. – P.312.
244. Reboli, A. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis / A. Reboli, C. Rotstein, P. Pappas et al. // *The New England Journal Medicine*. – 2007. – Vol. 35. – P. 2472–2482.
245. Rex, J. Catastrophic visual loss due to *Cryptococcus neoformans* meningitis / J. Rex, R. Larsen, W. Dismukes et al. // *Medicine (Baltimore)*. - 1993. - №72. - P. 207-224.
246. Ribeiro, A. Oral carriage of *Candida* species in HIV-infected patients during highly active antiretroviral therapy (HAART) in Belém, Brazil / A. Ribeiro, T. de Alencar Menezes, S. de Melo Alves-Junior, S. de Menezes // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. - 2015. - №120(1). – P. 29-33.
247. Romanii, L. Immunity to fungal infections / L. Romanii // *Nat Rev Immunol*. – 2011. - №11. - P. 275-288.
248. Salamon, S.A. *Candida albicans* tricuspid and pulmonic valve endocarditis: Challenge of relapsing risk and role of combined medical treatment and surgery / S. Salamon, K. Fursted, H. Egeblad et al. // *Scand.J. of Infect. Dis*. - 2007. -Vol.39, №6-7. – P. 641-644.
249. Sallam, A. Factors determining visual outcome in endogenous *Candida* endophthalmitis / A. Sallam, S.R. Taylor, A. Khan, P. McCluskey, W.A. Lynn,

- K. Manku et al. // *The Journal of Retinal and Vitreous Diseases*. – 2012. – Vol. 32. – Suppl. 6. – P. 1129–1134.
250. Sánchez-Portocarrero, J. The central nervous system and infection by *Candida* species. / J. Sánchez-Portocarrero, E. Pérez–Cecilia, O. Corral et al. // *Diagn Microbiol Infect Dis*. – 2000. – Vol. 37. – P. 169–179.
251. Sangeorzan, J. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance / J. Sangeorzan, S. Bradley, X. He et al. // *Am. J. Medicine*. - 1994. – Vol.97. - P. 339-346.
252. Sanya, E. O. *Candida* meningitis in a suspected immunosuppressive patient—a case report. / E. O. Sanya, N. B. Ameen, B. A. Onile // *West Afr J Med*. – 2006. – Vol. 25. – P. 79–81.
253. Schaller, M. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans* / M. Schaller, C. Borelli, H. Korting, B. Hube // *Mycoses*. - 2005. - Vol. 48. - P. 365-377.
254. Schelenz, S. Management of candidiasis in the intensive care unit / S. Schelenz // *J. Antimicrob. Chemother*. - 2008. - Vol.61. - P. 131-134.
255. Sendid, B. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species / B. Sendid, J.L. Poirot, M. Tabouret et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 51. – P. 433–442.
256. Sendid, B. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis / B. Sendid, M. Tabouret, J. Poirot et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1999. – Vol. 37. – P. 1510–1517.
257. Senior, K. Do we need to pay more attention to cryptococci? / K. Senior // *The Lancet Infectious Diseases*. Russian edition. – 2010. - Vol.1. - Is.5. - P. 286-288.
258. Shibuya, K. Granuloma and Cryptococcosis / K. Shibuya, A. Hirata, J. Omuta et al. // *J.Infect.Chem*. - 2005. - Vol.11. - P. 115-122.

259. Shimizu, K. Microsatellite-based genotyping of *Candida albicans* isolated from patients with superficial candidiasis / K. Shimizu, H. Hattori, H. Adachi et al. // *Med Mycol J.* – 2011. -№52. – P. 129–38.
260. Shorr, A.F. Do clinical features allow for accurate prediction of fungal pathogenesis in bloodstream infections? Potential implications of the increasing prevalence of non-albicans candidemia / A.F. Shorr, D.R. Lazarus, J.H. Sherner et al. // *Journal of Critical Care Medicine.* – 2007. – Vol. 35. – P. 1077– 083.
261. Sidrim, J.J. *Candida parapsilosis* meningitis as the first manifestation of AIDS: case report / J.J. Sidrim, L.V. Perdigão–Neto, R.A. Cordeiro et al. // *Journal of Clinical Microbiology.* – 2011. – Vol. 60. – Suppl. 10. – P. 1530–1533.
262. Silva-Pinto, A. *Candida Parapsilosus* prosthetic valve endocarditis / A. Silva-Pinto, R. Fezzar, J. Casanova et al. // *Med.Mycol.Case Rep.* - 2015. -Vol.9. - P. 37-38.
263. Smolenski, G. Analysis of secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*: purification and characterization of individual Sap 1, Sap 2 and Sap 3 isoenzymes / G. Smolenski, P. Sullivan, S. Gutfield // *Microbiology.* - 1997. - Vol.143. - P. 349-356.
264. Sudhakar, Devathi. Isolated pulmonary valve infective endocarditis in a middle aged man caused by *Candida albicans*: a case report / Devathi Sudhakar, Curry Bryan, Dosh Saumil // *BMC Infect Dis.* – 2014. – Vol. 14. - Suppl. 1. – P. 557.
265. Surveillance report. Antimicrobial resistans surveillance in Europe 2012. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistans-surveillance-europe-2012.pdf>.
266. Takagi, Y. Genotypes of *Candida albicans* isolated from healthy individuals and their distribution in patients with oral candidiasis / Y.Takagi, H. Fukano, K. Shimosato et al. // *J. Infect. Chemother.* - 2013. - №19. – P. 1072–1079.

267. Tan, T.Y. The increased role of non-*albicans* species in candidaemia: Results from a 3-year surveillance study / T.Y. Tan, A.L. Tan, N.W.S. Tee et al. // *Mycoses*. – 2010. – Vol. 53. – Suppl. 6. – P. 515–521.
268. Tortorano, A.M. A 1-year prospective survey of candidemia in Italy and changing epidemiology over one decade / A.M. Tortorano, A. Prigitano, C. Lazzarini et al. // *Journal Infection*. – 2013. – Vol. 41. Suppl. 3. – P. 655–662.
269. Tortorano, A.M. ECMM Working Group on Candidaemia Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study / A.M. Tortorano, J. Peman, H. Bernhardt et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. 23. – Suppl. 4. – P. 317–322.
270. Toyoda, S. Early surgical intervention and optimal medical treatment for *Candida Parapsilosis* endocarditis / S. Toyoda, E. Tajima, R. Fukuda et al. // *Intern.Med.* - 2015. – Vol.54, №4. - P.411-413.
271. Trofa, D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. / D. Trofa, A. Gácsér, J. D. Nosanchuk // *Journal of Clinical Microbiology Reviews*. – 2008. – Vol. 21. – P. 606–625.
272. Utsunomia, T. Effect of glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on *Candida albicans* infection in thermally injured mice / T. Utsunomia, M. Kobayashi, D. Herndon et al. // *Clin.Exp.Immunol.* - 1999. - Vol.116, №2. - P. 291-298.
273. Vermund, S. The HIV epidemic: high-income countries / S. Vermund, A. Leigh-Brown // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* - 2012. - Vol.2, № 5. - P. 1-24.
274. Voelz, K. Cryptococcal interactions with the host immune system / K. Voelz, R.C. May // *Eukaryotic cell*. –2010. – Vol. 9, № 6 – P. 835-846.
275. Voelz, K. Macrophage-Cryptococcus interactions during cryptococcosis / K. Voelz // *PhD Thesis*. – 2010. – 220 p.

276. Wang, Y. *Cryptococcus neoformans* melanin and virulence: mechanism of action / Y. Wang, P. Aisen, A. Casadevall // *Infect. Immun.* – 1995. – Vol. 63. – P. 3131-3136.
277. White, P.L. Comparison of non-culture-based methods for detection of systemic fungal infections, with an emphasis on invasive *Candida* infections / P.L. White, A. E. Archer, R.A. Barnes // *Journal of Clinical Microbiology.* – 2005. – Vol. 43. – P. 2181–2187.
278. WHO. Indoor air quality: biological contaminants. Report on a WHO meeting. Copenhagen: WHO Regional publications. - 1990. - №31. - P. 1-67.
279. Wickes, B.L. The role of mating type and morphology in *Cryptococcus neoformans* pathogenesis / B.L. Wickes // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2002. – № 292. – P. 313- 329.
280. Williamson, P.R. Laccase and melanin in the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* / P.R. Williamson // *Front. Biosci.* – 1997. – Vol. 2. – P. 99-107.
281. Wisplinghoff, H. Inflammatory response and clinical course of adult patients with nosocomial bloodstream infections caused by *Candida* spp. / H. Wisplinghoff, H. Seifert, R. P. Wenzel et al. // *Clin Microbiol Infect.* – 2006. – Vol. 12. – P. 170–177.
282. Yapar, N. Risk factors and the incidence of candidemia in the intensive care unit: A 5-year cross-sectional study / N. Yapar, M. Akan, V. Avkan–Oguz et al. // *Proceedings of Twentieth European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID).* – 2010.
283. Zaragoza, O. The capsule of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* / O. Zaragoza, M. Rodrigues, M. De Jesus et al. // *Adv. Appl. Microbiol.* – 2009. – Vol. 68. – P. 133-216.
284. Zilberberg, M. Secular trends in candidemia-related hospitalization in the United States, 2000-2005 / M. Zilberberg, A. Shorr, M. Kollef // *Infect Control Hosp Epidemiol.* – 2008. - №29(10). – P. 978-80.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера

Минздрава России)

ИНН5902290120/КПП 590201001

ОГРН 1025900528873

ОКПО 01963404 ОКТ МО 57701000

614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

Тел. (342) 217-20-20, факс (342) 217-20-21

Телефон для справок: (342) 212-04-04

E-mail: rector@psma.ru

№

На № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник управления

по образовательной деятельности

ФГБОУ ВО ПГМУ им.

академика Е.А. Вагнера Минздрава России,

доктор медицинских наук, профессор

 М.Ф. Заривчацкий

« 26 » 03 2018 года

Акт внедрения

в учебный процесс результатов диссертационной работы

И.П. Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя заведующего кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО ПГМУ д.м.н., доцента А.М. Еловикова, членов комиссии: к.м.н., учебного доцента кафедры оториноларингологии Н.В. Ворончихиной, ассистента кафедры оториноларингологии О.А. Кубариковой, удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П. Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются в учебном процессе кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава РФ.

Председатель комиссии:

Д.м.н., доцент



А.М. Еловиков

Члены комиссии:

К.м.н., доцент, учебный доцент кафедры

оториноларингологии



Н.В. Ворончихина

Ассистент кафедры

оториноларингологии

О.А. Кубарикова



«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач ГБУЗ ЦК
МСЧ №9 им. М.А.Тверь
Утемова Е.Д.



2018 г.

Акт внедрения

в практическую деятельность результатов диссертационной работы Чарушиной И.П.
«Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя - заместителя главного врача по хирургии, к.м.н., врача высшей категории Мальгинова К.Е., членов комиссии: заведующего операционным блоком, к.м.н., врача высшей категории Гребнева А.Г., к.м.н. врача высшей категории Пискунова А.С., удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П.Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются для диагностики инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных больных в условиях МСЧ №9 им. М.А.Тверь.

Председатель комиссии:

Мальгинов К.Е.

Члены комиссии:

Гребнев А.Г.

Пискунов А.С.

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач ПКЦ СПИД и ИЗ

Сармометов Е.В.

2018 г.

**Акт внедрения**

в практическую деятельность результатов диссертационной работы Чарушиной И.П.
«Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя - заместителя главного врача по медицинской работе Миковой О.Е., членов комиссии: зав.бактериологической лабораторией, врача высшей категории Варецкой Т.А., врача эпидемиолога Гибадуллина Р.Г., удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П.Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются для диагностики, лечения и профилактики инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных больных в условиях Краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями.

Председатель комиссии:

Микова О.Е.

Члены комиссии:

Варецкая Т.А.

Гибадуллин Р.Г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник управления
по образовательной деятельности
ФГБОУ ВО ПГМУ им.

Академика Е.А.Вагнера Минздрава
России, д.м.н., профессор
М.Ф.Заривчацкий

20.04

2018 г.



Акт внедрения

в учебный процесс результатов диссертационной работы Чарушиной И.П.
«Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе:

председателя – к.м.н., учебного доцента кафедры эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России Меньшиковой М.Г.,

членов комиссии: к.м.н., доцента кафедры эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России Бикмеевой А.В., доцента кафедры эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России, к.м.н. Субботиной К.А. удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П.Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются в учебном процессе кафедры эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России.

Председатель комиссии:

Меньшикова М.Г.

Члены комиссии:

Бикмеева А.В.

Субботина К.А.



«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник управления
по образовательной деятельности
ФГБОУ ВО ПГМУ им.
Академика Е.А.Вагнера Минздрава
России, д.м.н., профессор
М.Ф.Заривчацкий



17.04 2018 г.

Акт внедрения

в учебный процесс результатов диссертационной работы Чарушиной И.П.
«Эпидемиологическая и клиничко-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе:

председателя – зав. кафедрой инфекционных болезней, д.м.н., профессора
Н.Н.Воробьевой,

членов комиссии: д.м.н., учебного доцента кафедры инфекционных болезней
В.В.Николенко, к.м.н., доцента кафедры инфекционных болезней О.Н.Сумливой,
удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П.Чарушиной
«Эпидемиологическая и клиничко-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются в учебном
процессе кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО ПГМУ им. ак. Е.А.Вагнера
Минздрава РФ.

Председатель комиссии:

Д.м.н., зав.кафедрой
инфекционных болезней,
профессор

Н.Н.Воробьева

Члены комиссии:

Д.м.н., учебный доцент кафедры
инфекционных болезней

В.В.Николенко

К.м.н., доцент кафедры
инфекционных болезней

О.Н.Сумливая



Минздрав России
подпись 
начальник отдела
17.04 2018 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач ГБУЗ ПК «ПККИБ»

Наумова Л.М.



2018 г.

Акт внедрения

в практическую деятельность результатов диссертационной работы Чарушиной И.П.
«Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов
(криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов»

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя - заведующего отделением №7 ГБУЗ ПК «ПККИБ», врача высшей категории Земскова А.Г., членов комиссии: заведующей отделением №2, врача высшей категории Ларионовой Г.Г., заведующей клинико-диагностической лабораторией, врача высшей категории Главатских В.Р., удостоверяем, что результаты диссертационной работы И.П.Чарушиной «Эпидемиологическая и клинико-патогенетическая характеристика инвазивных микозов (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов» используются для диагностики инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных больных в условиях ГБУЗ ПК «ПККИБ».

Председатель комиссии:

Handwritten signature of Zemskov A.G.

Земсков А.Г.

Члены комиссии:

Handwritten signature of Larionova G.G.

Ларионова Г.Г.

Главатских В.Р.