

УДК 615.282.03-085

Мониторинг видового состава и чувствительности к антимикотикам дрожжеподобных грибов, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста

А.С. Анкирская, В.В. Муравьёва, С.А. Фурсова, Т.Г. Миронова, Т.Е. Королёва

Научный Центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Россия

Исследована динамика видового состава и чувствительности к антимикотикам дрожжеподобных грибов, выделенных из влагалища женщин с кандидозным вульвовагинитом, в период с 1997 по 2003 гг. Обследовано 2828 пациенток. Установлена тенденция к росту выявления грибов с 14 до 20%. Доминирующим видом был *Candida albicans* (83,7–86%). Не-*albicans* виды выделяли с частотой 14–16,3%. Среди них наиболее часто высевали *C. glabrata* (35,3%), *C. krusei* (19,0%) и *C. parapsilosis* (14,2%). С помощью тест-системы «Fungitest» показано, что доля грибов, чувствительных одновременно к 6 антимикотикам, заметно снизилась: у *C. albicans* с 71,6% в начале наблюдения до 48,2% – в конце его; у не-*albicans* видов – с 60 до 19,2% соответственно. Общее число нечувствительных штаммов (устойчивых и с дозозависимой чувствительностью) увеличилось. В то же время 80,4–92,9% штаммов *C. albicans* и 80–100% штаммов *C. parapsilosis* и *C. kefir* были чувствительны к имидазолам (миконазолу, кетоконазо-

лу) и триазолам (итраконазолу, флуконазолу). Что касается «проблемных» видов (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*), то число чувствительных к этим препаратам штаммов не превышало 50%. Сравнение резистентности «проблемных» видов грибов (*C. glabrata*, *C. krusei*) к триазолам показало преимущество итраконазола перед флуконазолом только в отношении *C. krusei*: к итраконазолу были чувствительны 31,3% штаммов и обладали дозозависимой чувствительностью (ДЗЧ) – 60%; для флуконазола эти показатели составили 37,0 и 15,6% соответственно. Напротив, к флуконазолу были чувствительны 76% штаммов *C. glabrata*, а к итраконазолу – только 24%. Таким образом, большинство штаммов «проблемных» видов грибов имели ДЗЧ к антимикотикам, которая может быть преодолена в клинике увеличением курсовой дозы.

Ключевые слова: кандидозный вульвовагинит, *Candida* spp., мониторинг, видовой состав, резистентность к антимикотикам.

Контактный адрес:

Алла Семеновна Анкирская

117997, г. Москва,

ул. Академика Опарина 4,

Научный центр акушерства, гинекологии

и перинатологии РАМН

Тел.: (495) 438 25 10

Monitoring of Species Structure and Susceptibility to Antimycotics of Yeast-like Fungi, Isolated from the Genital Tract of Childbearing Age Women

A.S. Ankirskaya, V.V. Muravieva, S.A. Fursova, T.G. Mironova, T.E. Koroleva

Research Centre for Obstetrics, Gynaecology and Perinatology, Moscow, Russia

The trends of species structure and susceptibility of yeast-like fungi to antimycotics, isolated from genital tract of women with vulvovaginal candidiasis (n=2828) in 1997–2003 were studied. There was found a tendency to increase in the rate of fungi isolation from 14 to 20%. The predominant species was *C. albicans* (83.7–86%). Non-*albicans* species were isolated in 14–16.3%. Among them, the most frequently isolated species were *C. glabrata* (35.3%), *C. krusei* (19.0%), *C. parapsilosis* (14.2%). Using the «Fungitest» system, it was shown that the number of fungi strains susceptible to 6 antimycotics was decreased in *C. albicans* from 71.6% at the beginning of monitoring period to 48.2% at the end of this one; in non-*albicans* species – from 60% to 19.2%, respectively. A total number of non-susceptible isolates (resistant and susceptible dose-dependent) was increased. At the same time, 80.4–92.9% strains of *C. albicans* and 80.0–100% strains of *C. parapsilosis* and *C. kefyr* were susceptible to imidazoles (miconazole and ketoconazole)

and triazoles (itraconazole, fluconazole). As to emerging species (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*), a number of susceptible strains to these drugs was less than 50%. A comparison of emerging species (*C. glabrata*, *C. krusei*) resistance to triazoles showed the advantage of itraconazole to fluconazole solely for *C. krusei*: 31.3% and 37.0% of strains were susceptible and 60% and 15.6% were dose-dependent to itraconazole and fluconazole, respectively. In contrast, 76% of *C. glabrata* strains were susceptible to fluconazole and only 24% of strains to itraconazole. Therefore, the majority of emerging species were susceptible dose-dependent to antimycotics and it can be overcome by the use of increased therapeutic dose.

Key words: vulvovaginal candidiasis, yeast-like fungi, monitoring, species structure, resistance to antimycotics.

Введение

Лечение кандидозного вульвовагинита (КВВ) остается актуальной проблемой, несмотря на внедрение в клиническую практику новых эффективных и хорошо переносимых антимикотиков – имидазолов и триазолов. Широкое использование этих препаратов, высокоэффективных против *Candida albicans*, возможно, определило современную тенденцию к увеличению этиологической роли не-*albicans* видов и к росту числа рецидивирующих и хронических форм кандидозной инфекции. Кроме того, механизм действия новых препаратов, а именно нарушение синтеза ферментных систем гриба, значительно увеличивает риск развития резистентности к антимикотикам у клинических штаммов грибов. Проблема резистентности уже приобрела клиническое значение у ВИЧ-инфицированных пациентов и иммунокомпрометированных больных при системных кандидозах [1–3], однако пока не является актуальной в акушерско-гинекологической практике.

Изучение проблемы осложняется тем, что в настоящее время отсутствуют рутинные стандартные методики для определения *in vitro* резистентности грибов к антимикотикам. Более того, тестирование резистентности у грибов оказалось столь сложной задачей, что после 15-летних исследова-

ний по созданию стандартной, воспроизводимой и клинически значимой методики Национальный Комитет по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS) предложил интерпретационные критерии оценки чувствительности штаммов грибов только для трёх антимикотиков – флуконазола, итраконазола и флуцитозина [4].

Цель настоящего исследования – определить динамику видового состава и чувствительности к антимикотикам дрожжеподобных грибов, выделенных из вагинального отделяемого у ВИЧ-негативных женщин различных групп риска, наблюдавшихся в акушерско-гинекологической клинике за период с 1997 по 2003 гг.

Материал и методы исследования

За 7-летний период наблюдения обследовано 2828 пациенток. Вагинальное отделяемое высевали на агар Сабуро и хромогенную среду Candida ID (bioMerieux, Франция). Агар Сабуро использовали для выделения и оценки морфологических особенностей колоний гриба (гладкость, шероховатость, пигмент, консистенция). Хромогенный агар позволяет по пигментации колоний дифференцировать вид *C. albicans* от прочих видов. Белый цвет колоний характерен для не-*albicans* видов, а голубой

пигмент свидетельствует о принадлежности гриба в подавляющем большинстве случаев к *C. albicans*. Вместе с тем до 10% *C. tropicalis* также могут окрашиваться в голубой цвет. Поэтому при обнаружении колоний голубого цвета дополнительно оценивали способность гриба формировать ростковые трубки (истинный мицелий) и хламидоспоры, т. е. свойства, характерные для *C. albicans*. В случае выявления грибов с голубым пигментом колоний и отрицательными тестами на ростковые трубки и хламидоспоры, а также грибов с белой пигментацией колоний проводили дальнейшую идентификацию с помощью тест-системы «Mycotube» (BBL, США). Данная тест-система основана на принципе ферментативной активности грибов, а именно на их способности подвергать гидролизу углеводы (декстрозу, ксилозу, сахарозу, раффинозу, лактозу и трегалозу), а также цитрат и мочевины. Кроме того, оценивалась способность образовывать газ при ферментации декстрозы и сахарозы. По результатам тестов составлялся цифровой код, в соответствии с которым определяется вид гриба. Учитывая, что один и тот же биохимический профиль (цифровой код) может соответствовать нескольким видам, окончательная идентификация всегда требует учёта дополнительных тестов (способность формировать псевдомицелий, ростковые трубки и хламидоспоры, морфологические особенности колоний).

Чувствительность грибов к антимикотикам оценивали с помощью тест-системы «Fungi-test» (Bio-Rad, США), воспроизводящей стандарт M27-A2 NCCLS и включающей 6 препаратов: флуцитозин, амфотерицин, миконазол, кетоконазол, итраконазол и флуконазол. Тест-система, разработанная с учётом минимальной подавляющей концентрации (МПК) препаратов и пограничных концентраций, позволяет разграничить чувствительные и устойчивые штаммы, а также выделить промежу-

точный тип устойчивости, так называемую *дозозависимую чувствительность* (ДЗЧ).

Полученные данные анализировали в сравнительной оценке трех периодов исследования: I – 1997–1999 гг., II – 2000–2001 гг., III – 2002–2003 гг.

Результаты исследования

Дрожжеподобные грибы были выделены из отделяемого влагалища у 17,7% обследованных женщин со следующей динамикой этого показателя по годам (1997–2003 гг.): 14,2, 17,8, 16,8, 17,2, 20,9, 19 и 19,2% соответственно.

В течение всего периода наблюдения доминирующим видом был *C. albicans*. Частота его выделения составляла в разные годы от 83,7 до 86%. Не-*albicans* виды выделяли с частотой от 14 до 16,3%.

Была установлена видовая принадлежность 361 штамма: 129 – *C. albicans* и 232 – не-*albicans* виды. Идентифицировано 10 видов грибов, относящихся к 4 родам: *Candida*, *Saccharomyces*, *Geotrichum* и *Trichosporon*. Среди не-*albicans* видов (табл. 1) наиболее часто встречались *C. glabrata* (35,3%), *C. krusei* (19%), *C. parapsilosis* (14,2%) и *C. tropicalis* (12,9%). Другие виды выделяли значительно реже: *S. cerevisiae* (9,1%), *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *Geotrichum candidum* и *Trichosporon* spp. (от 0,4 до 5,6%).

Анализ биохимических профилей у разных видов грибов свидетельствует о их многовариантности, свойственной большинству изученных видов (см. табл. 1). Максимальное количество биовариантов отмечено у *C. albicans* и *C. glabrata* (по 7), 6 – у *C. parapsilosis*, по 4 у *C. tropicalis*, *C. krusei* и *S. cerevisiae*. У *C. albicans* чаще других выявляли два варианта биохимического профиля: 7300 и 7100 (разница в способности ферментировать сахарозу с образованием газа); у *C. glabrata* – 3040 и 3060 (различия в ферментации лактозы); у *C. parapsilo-*

Таблица 1. Состав грибов не-*albicans* видов (n=232), выделенных в 1997–2003 гг.

Виды грибов	Количество выделенных штаммов абс. (%)	Число биовариантов
<i>C. glabrata</i>	82 (35,3)	7
<i>C. krusei</i>	44 (19,0)	4
<i>C. parapsilosis</i>	33 (14,2)	6
<i>C. tropicalis</i>	30 (12,9)	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21 (9,1)	4
<i>C. kefyr</i>	13 (5,6)	2
<i>Geotrichum candidum</i>	6 (2,6)	1
<i>Trichosporon</i> spp.	1 (0,4)	1
<i>C. guilliermondii</i>	2 (0,9)	1

Таблица 2. Распределение 232 штаммов грибов не-*albicans* видов, выделенных в разные периоды наблюдения

Виды грибов	Количество штаммов, абс. (%)		
	1997–1999 гг. (n=60)	2000–2001 гг. (n=91)	2002–2003 гг. (n=81)
<i>C. glabrata</i>	25 (41,7)	31 (34,0)	26 (32,1)
<i>C. krusei</i>	18 (30,0)	13 (14,3)	13 (16,1)
<i>C. parapsilosis</i>	7 (11,7)	17 (18,7)	9 (11,1)
<i>C. tropicalis</i>	2 (3,3)	13 (14,3)	15 (18,5)
<i>C. kefyр</i>	2 (3,3)	4 (4,4)	7 (8,6)
<i>S. cerevisiae</i>	3 (5,0)	10 (11,0)	8 (9,9)
<i>C. guilliermondii</i>	–	–	2 (2,5)
<i>G. candidum</i>	3 (5,0)	2 (2,2)	1 (1,2)
<i>Trichosporon</i> spp.	–	1 (1,1)	–

sis – 5100, 3100, 7100 (отличаются способностью ферментировать трегалозу и образовывать газ при деструкции декстрозы); у *S. cerevisiae* – 7310 и 3310 (отличаются способностью разлагать ксилосу); у *C. tropicalis* – 7140, 7340 и 5140 (отличие в способности продуцировать газ при ферментации декстрозы и сахарозы). Частота встречаемости различных биовариантов за 7-летний период наблюдения практически не изменялась.

У некоторых видов грибов наблюдали одинаковые биохимические профили: у *C. albicans* и *C. parapsilosis* (5100, 3100, 7100), у *C. albicans* и *C. tropicalis* (7140 и 5140). Одинаковый биохимический профиль, соответствующий коду 3100, зафиксирован у трех видов: *C. albicans*, *C. parapsilosis* и *C. krusei*. Видовая идентификация таких штаммов невозможна без дополнительного тестирования.

Сравнение частоты выделения отдельных не-*albicans* видов в разные годы показало, что видо-

вой спектр их практически не изменился (табл. 2). Ведущими видами в течение всего периода наблюдения оставались *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. parapsilosis*. Некоторое снижение удельного веса *C. krusei* и возрастание видов *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* в последние годы, как мы полагаем, связано с совершенствованием идентификации грибов.

У 267 штаммов грибов, относящихся к 9 видам, определена чувствительность к 6 антимикотикам. В их числе 112 штаммов *C. albicans* и 155 штаммов не-*albicans* видов. Среди не-*albicans* видов в исследование включены: *C. glabrata* (n=50), *C. krusei* (n=32), *C. parapsilosis* (n=21), *C. tropicalis* (n=22), *S. cerevisiae* (n=13), *C. kefyр* (n=12), *C. guilliermondii* (n=2) и *Geotrichum candidum* (n=3).

Чувствительность грибов к антимикотикам на протяжении трех периодов представлена в табл. 3. Установлено, что за время наблюдения уменьшилось число штаммов, *in vitro* чувствительных ко

Таблица 3. Частота выделения дрожжеподобных грибов, чувствительных к 6 антимикотикам

Виды грибов	Количество штаммов, чувствительных ко всем антимикотикам, абс. (%)		
	1997–1999 гг. (n=93)	2000–2001 гг. (n=95)	2002–2003 гг. (n=79)
<i>C. albicans</i>	51/53 (96,2%)	23/32(71,9%)	13/27(48,2%)
<i>C. glabrata</i>	2/8	8/22 (36,4%)	0/20 (0%)
<i>C. krusei</i>	2/10 (20%)	3/12 (25%)	0/10 (0%)
<i>C. parapsilosis</i>	7/7	6/10 (60%)	3/4
<i>C. tropicalis</i>	9/9	2/8	0/5
<i>C. kefyр</i>	1/1	1/4	6/7
<i>C. guilliermondii</i>	1/1	–	0/1
<i>S. cerevisiae</i>	2/4	2/5	1/4
<i>G. candidum</i>	–	0/2	0/1
Всего среди не- <i>albicans</i>	24/40 (60%)	22/63 (34,9%)	10/52 (19,2%)

Примечание: в числителе – число чувствительных, в знаменателе – общее число изученных штаммов данного вида грибов.

всем 6 препаратам. У *C. albicans* их доля с 96,2% в I период снизилась до 71,9% во II период и до 48,2% – в III период наблюдения. Аналогичная тенденция отмечена и для не-*albicans* видов и составила 60, 34,9 и 19,2% соответственно. Максимальное снижение числа чувствительных ко всем антимикотикам штаммов среди не-*albicans* видов выявлено у *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. tropicalis*. Подавляющее большинство этих видов (63,6–80%) имели 1–4 маркера устойчивости в I и II периоды наблюдения, а в III период не было выявлено штаммов, чувствительных ко всем исследованным препаратам.

Анализ сравнительной чувствительности грибов к 6 антимикотикам (табл. 4) показал, что амфотерицин В был единственным препаратом, к которому все грибы на протяжении 7-летнего наблюдения сохраняли чувствительность.

К флуцитозину *in vitro* были чувствительны 97,3% штаммов *C. albicans*, 98,8% *C. glabrata*, 90,5% *C. parapsilosis*, 95,5% *C. tropicalis*. Несколько ниже этот показатель был для *S. cerevisiae* и *C. kefir* (76,9 и 75% соответственно). Среди *C. krusei* только 31,3% штаммов были чувствительны к флуцитозину.

Что касается миконазола и кетоконазола, то к ним были чувствительны соответственно 92,4 и 80,4% штаммов *C. albicans*, по 90,5% штаммов *C. parapsilosis*, по 91,7% – *C. kefir*, 76,9 и 84,6% – *S. cerevisiae*, 70 и 74% – *C. glabrata*. Значительно ниже этот показатель был у *C. krusei* (28,1 и 53,1%) и *C. tropicalis* (50 и 68,2%). Обращает на себя внимание, что для большинства видов грибов имела место перекрёстная чувствительность/устойчивость к обоим препаратам группы имидазолов. В то же время среди *C. tropicalis* и *C. krusei* значительно чаще встречались штаммы, чувствительные к кетоконазолу, чем к миконазолу.

Для препаратов триазолов (итраконазол, флуконазол) перекрёстная устойчивость/чувствительность была менее характерна. Так, относительно высокая частота чувствительных к итраконазолу штаммов отмечена у *C. albicans* (84,8%), *C. parapsilosis* (81%), *C. kefir* (83,3%). У остальных видов (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *S. cerevisiae*) этот показатель почти всегда был ниже 50% (24, 31,3, 54,6 и 46,2% соответственно). Напротив, к флуконазолу чувствительные штаммы грибов регистрировали заметно чаще (см. табл. 4). Исключение составил вид *C. krusei*, среди штаммов которого чувствительными к флуконазолу были только 15,6% штаммов.

Особое внимание было обращено на частоту выделения грибов, устойчивых и имеющих ДЗЧ к перечисленным антимикотикам. В табл. 5 показано, что устойчивые к антимикотикам штаммы *C. albi-*

cans появились только в последний период наблюдения, за исключением итраконазола, к которому уже во II периоде 9,4% штаммов *C. albicans* были устойчивы. Начиная с 2002 г, доля резистентных к итраконазолу штаммов *C. albicans* достигла 33,3%, а к флуконазолу – 22,2%. В то же время к имидазолам устойчивых штаммов *C. albicans* было почти вдвое меньше.

ДЗЧ к итраконазолу и кетоконазолу у *C. albicans* была выявлена у 3,8% штаммов уже в I период наблюдения. Во II периоде количество их выросло до 3,1–12,5%, при этом выше этот показатель был для итраконазола и кетоконазола (9,4 и 12,5% соответственно) и минимальным – для миконазола (6,3%) и флуконазола (3,1%). В III периоде доля штаммов *C. albicans* с ДЗЧ увеличилось до 7,4–25,9%, при этом более высокие показатели отмечены для имидазолов (к кетоконазолу и миконазолу по 25,9% штаммов с ДЗЧ), по сравнению с триазолами: итраконазолом (18,5%) и флуконазолом (7,4%).

Что касается не-*albicans* видов, то в I периоде сравнения частота выделения устойчивых штаммов не превышала 2,5%. Во II периоде отмечен рост числа резистентных штаммов: незначительный для флуконазола и миконазола (4,8 и 1,6% соответственно) и более высокий для итраконазола и кетоконазола (14,3 и 11,1% соответственно). В последний период эта тенденция сохранилась, и доля устойчивых к триазолам штаммов составила к флуконазолу 11,5%, к итраконазолу – 15,4%. Для имидазолов частота резистентных штаммов не превышала 3,8%.

ДЗЧ для не-*albicans* видов уже в начале исследования составляла 35% для итраконазола, 22,5% – для флуконазола и 17,5% – для миконазола. Только в отношении кетоконазола доля штаммов с ДЗЧ была сравнительно низкой, не превышая 5%. Во II периоде наблюдения число таких штаммов продолжало нарастать, особенно для имидазолов: в 2 раза выросло их число для миконазола и в 3 раза для кетоконазола. В отношении триазолов число штаммов с ДЗЧ оставалось на прежнем уровне. В последние 2 года наблюдения тенденция сохранилась, и их удельный вес вырос до 53,8, 38,5, 59,6 и 36,5% соответственно в отношении миконазола, кетоконазола, итраконазола и флуконазола.

Обсуждение результатов исследования

Заболевания, вызванные грибами, занимают одно из ведущих мест среди оппортунистических инфекций, сопутствующих развитию человеческой цивилизации. Кроме роста числа таких инфекций, в современных условиях чётко определяются две

Таблица 4. Сравнительная частота выделения штаммов, чувствительных к изученным антимикотикам, за период с 1997 по 2003 гг.

Виды грибов	Период наблюдений	количество чувствительных штаммов, абс. (%)					
		Флуцитозин	Амфотерицин В	Миконазол	Кетоконазол	Итраконазол	Флуконазол
<i>C. albicans</i> (n=112):							
n=53	I	53 (100,0)	53 (100,0)	53 (100,0)	51 (96,2)	51 (96,2)	53(100,0)
n=32	II	30 (93,8)	32 (100,0)	29 (90,6)	28 (87,5)	26 (81,3)	31(96,9)
n=27	III	26 (96,3)	27 (100,0)	17 (63,0)	16 (59,3)	13 (48,2)	19(70,4)
Всего:		109 (97,3)	112 (100)	104 (92,9)	90 (80,4)	95 (84,8)	103(92,0)
<i>C. glabrata</i> (n=50):							
n=8	I	8 (100,0)	8 (100,0)	7	7	3	5
n=22	II	21 (95,5)	22 (100,0)	17 (77,3)	19 (86,4)	9 (40,9)	21(95,5)
n=20	III	20 (100,0)	20 (100,0)	11 (55,0)	11 (55,0)	0	12(60,0)
Всего:		49 (98,0)	50 (100)	35 (70,0)	37 (74,0)	12 (24,0)	38(76,0)
<i>C. krusei</i> (n=32):							
n=10	I	6 (60,0)	10 (100,0)	5 (50,0)	9 (90,0)	2 (20,0)	3(30,0)
n=12	II	4 (33,3)	12 (100,0)	4 (33,3)	8 (66,6)	7 (58,3)	2(16,7)
n=10	III	10 (31,3)	10 (100,0)	0	0	1 (3,1)	0
Всего:		0	32 (100)	9 (28,1)	17 (53,1)	10 (31,3)	5(15,6)
<i>C. parapsilosis</i> (n=21):							
n=7	I	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)	7(100,0)
n=10	II	8 (80,0)	10 (100,0)	9 (90,0)	8 (80,0)	7 (70,0)	10(100,0)
n=4	III	4 (100,0)	4 (100,0)	3	4	3	4(100,0)
Всего:		19 (90,5)	21 (100,0)	19 (90,5)	19 (90,5)	17 (81,0)	21(100,0)
<i>C. tropicalis</i> (n=22):							
n=9	I	9 (100,0)	9 (100,0)	9 (100,0)	9 (100,0)	9 (100,0)	9(100,0)
n=8	II	8 (100)	8 (100,0)	2	2	2	3
n=5	III	4	5 (100,0)	0	4	1	2
Всего:		21 (95,5)	22 (100,0)	11 (50,0)	15 (68,2)	12 (54,6)	14(63,6)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (n=13):							
n=4	I	3	4 (100,0)	3	4 (100,0)	2	4(100,0)
n=5	II	3	5 (100,0)	5 (100,0)	5 (100,0)	3	5(100,0)
n=4	III	4 (100,0)	4 (100,0)	2	2	1	2
Всего:		10 (76,9)	13 (100,0)	10 (76,9)	11 (84,6)	6 (46,2)	11(84,6)
<i>C. kefyr</i> (n=12):							
n=1	I	1	1	1	1	1	1
n=4	II	2	4	3	3	2	3
n=7	III	6	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)	7 (100,0)
Всего:		9 (75,0)	12 (100,0)	11 (91,7)	11 (91,7)	10 (83,3)	11(91,7)

тенденции – изменение видового спектра грибов в этиологической структуре микозов и появление проблемы лекарственной устойчивости. Данные тенденции определяют повышенное внимание исследователей к проблеме диагностики и лечения

грибковых инфекций и, в частности, к кандидозному вульвовагиниту.

Проблема КВВ приобрела в настоящее время эпидемиологическое значение из-за высокого уровня заболеваемости, широкого распространения

Таблица 5. Частота выделения устойчивых (У) штаммов и штаммов с ДЗЧ к имидазолам и триазолам

Антимикотики	Виды грибов	1997–1999 гг.		2000–2001 гг.		2002–2003 гг.	
		<i>C. albicans</i> (n=53) не- <i>albicans</i> (n=40)		<i>C. albicans</i> (n=32) не- <i>albicans</i> (n=63)		<i>C. albicans</i> (n=27) не- <i>albicans</i> (n=52)	
		У	ДЗЧ	У	ДЗЧ	У	ДЗЧ
Флуконазол	<i>C. albicans</i>	0	0	0	1(3,1)	6(22,2)	2(7,4)
	не- <i>albicans</i>	1 (2,5)	9 (22,5)	3 (4,8)	17 (26,9)	6 (11,5)	11 (36,5)
Итраконазол	<i>C. albicans</i>	0	2 (3,8)	3 (9,4)	3 (9,4)	9 (33,3)	5 (18,5)
	не- <i>albicans</i>	1 (2,5)	14 (35,0)	9 (14,3)	23 (36,5)	8 (15,4)	31 (59,6)
Кетоконазол	<i>C. albicans</i>	0	2 (3,8)	0	4 (12,5)	4 (14,8)	7 (25,9)
	не- <i>albicans</i>	0	2 (5,0)	7 (11,1)	11 (17,5)	2 (3,8)	20 (38,5)
Миконазол	<i>C. albicans</i>	0	0	0	2 (6,3)	3 (11,1)	7 (25,9)
	не- <i>albicans</i>	0	7 (17,5)	1 (1,6)	22 (34,9)	1 (1,9)	28 (53,8)

Примечание. В скобках – количество штаммов в % от числа штаммов в пределах исследуемой группы (периода наблюдения и вида грибов).

вагинального носительства грибов, роста числа хронических рецидивирующих форм КВВ, а также реальной угрозы развития резистентности грибов на фоне широкого применения новых антимикотиков. Меняющиеся эпидемиологические показатели заболеваемости КВВ определяют необходимость постоянного слежения за их динамикой, а также усовершенствование методов лабораторной диагностики и тестирования *in vitro* чувствительности грибов к антимикотикам.

Данное исследование посвящено исследованию динамики видового состава и устойчивых форм грибов, выделенных из влагалища женщин групп различной степени риска в акушерско-гинекологической клинике (с клиническими проявлениями вагинита и без них). Исследование выполняли в течение 7 лет по унифицированной методике.

Была обнаружена стойкая тенденция к росту выявления грибов в вагинальном отделяемом обследованных женщин, уровень которого с 14% приблизился к 20%. При этом вид *C. albicans* составил 83,7–86%. Частота выделения других видов была в пределах 14–16,3%. Выделено 10 видов грибов, относящихся к 4 родам: *Candida*, *Saccharomyces*, *Geotrichum* и *Trichosporon*. Среди не-*albicans* видов ведущими были *C. glabrata* (35,3%), *C. krusei* (19%), *C. parapsilosis* (14,2%) и *C. tropicalis* (12,9%). Таким образом, наше исследование подтвердило тенденцию к росту не-*albicans* видов в этиологии грибковых инфекций влагалища. Это определяет необходимость особого внимания к этиотропному лечению таких случаев из-за частой природной устойчивости не-*albicans* видов к традиционным антимикотикам.

Появление имидазолов и триазолов с расширенным спектром действия и низкой токсичностью

позволило заметно снизить летальность от системных инфекций, вызванных не-*albicans* видами грибов рода *Candida* [5]. Однако своеобразие механизма действия этих препаратов (подавление синтеза ферментных систем гриба) ведёт к значительному увеличению вероятности мутаций и, следовательно, к риску селекции резистентных к препаратам клонов грибов. Учитывая значительное распространение вагинального носительства грибов как в клинически выраженной форме, так и бессимптомного, можно полагать, что проблема лекарственной устойчивости грибов будет приобретать клиническое значение в акушерско-гинекологической практике. Поэтому особое внимание в нашем исследовании было уделено мониторингу за спектром чувствительности к антимикотикам у выделенных штаммов грибов.

Известно, что тестирование чувствительности/устойчивости грибов к антимикотикам до настоящего времени не разработано в такой степени, чтобы его можно было использовать в рутинной клинической практике. Низкая воспроизводимость результатов такого тестирования в разных лабораториях даже при использовании единого протокола исследования показала, что эта задача для грибов (эукариотов) оказалась намного сложнее, чем для бактерий (прокариотов). До сих пор тестирование резистентности грибов находится в стадии разработки, и критерии его не являются окончательными [4]. На протяжении данного исследования мы использовали унифицированную тест-систему, разработанную на основе критериев NCCLS. Это позволяло сравнивать собственные данные в разные периоды исследования, а также сопоставлять их с данными других авторов, использовавших ту же тест-систему.

Проведенное исследование показало, что развитие устойчивости дрожжеподобных грибов к антимикотикам может стать реальной проблемой в акушерско-гинекологической клинике. За время наблюдения число изолятов, чувствительных ко всем 6 антимикотикам, среди *C. albicans* с 96,2% в начале наблюдения снизилось до 71,6% во втором периоде и до 48,2% в конце исследования. Аналогичная тенденция была и среди не-*albicans* видов: 60, 34,9 и 19,2% соответственно. При этом среди «проблемных» видов (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*) в конце наблюдения уже не было штаммов, чувствительных ко всем антимикотикам, большинство имели 2–4 маркера устойчивости.

Общее число нечувствительных штаммов (устойчивые и штаммы с ДЗЧ) на протяжении 7-летнего срока наблюдения увеличилось как среди изолятов *C. albicans*, так и среди не-*albicans* видов. Однако скачкообразный рост нечувствительности произошел в последние два года наблюдения (2002–2003 гг.). Возможно, это связано с контингентом обследованных нами женщин, так как в этот период значительно увеличился процент пациенток с хронической формой КВВ. Тем не менее, 80,4–92,9% штаммов *C. albicans* и 80–100% *C. parapsilosis* и *C. kefyr* были чувствительны к препаратам имидазольного ряда (миконазол, кетоконазол) и триазолам (итраконазол, флуконазол).

Что касается «проблемных» видов (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*), то число чувствительных штаммов к этим препаратам не превышало 50%, а уровень резистентности к различным препаратам отличался заметным разнообразием. Наше исследование не подтвердило мнение А.Ю. Сергеева и соавт. [6] об универсальной чувствительности к итраконазолу не-*albicans* видов. Наше исследование показало преимущество итраконазола только в отношении вида *C. krusei*, среди штаммов которого были чувствительны к итраконазолу 31,3% и обладали ДЗЧ – 60%, в то время как по отношению к флуконазолу эти показатели составили 37 и 15,6% соответственно. Что касается другого «проблемного» вида – *C. glabrata*, то, напротив, чувствительными к флуконазолу были 76% штаммов этого вида и только 24% – к итраконазолу. Подобные данные об отсутствии преимущества итраконазола в сравнении с флуконазолом приводят Н.С. Багирова и Н.В. Дмитриева [7], P.G. Pappas и соавт. [8], T.D. Chugh и соавт. [9], E. Swoboda-Korpec и соавт. [10]. Следует отметить отсутствие перекрестной чувствительности/устойчивости среди препаратов триазольного ряда и в отношении других видов грибов. В то же время для имидазолов часто имели место аналогичные спектры резистентности к

миконазолу и кетоконазолу. Исключение составил вид *C. krusei*, штаммы которого чаще были чувствительны к кетоконазолу (53,1%), чем к миконазолу (28,1%).

Необходимо также обратить внимание на то, что большинство нечувствительных штаммов грибов, в том числе не-*albicans* видов, имеют ДЗЧ и, по-видимому, она может быть преодолена увеличением курсовой дозы препаратов.

Однако клиническая интерпретация полученных нами данных не может быть выполнена из-за отсутствия в данном исследовании анализа результатов лечения пациенток. Первое подобное исследование в отношении кандидозного вагинита было опубликовано J.D. Sobel и соавт. [11], в котором сопоставлены данные по клинической эффективности флуконазола с результатами определения чувствительности грибов-возбудителей *in vitro*. Авторы не обнаружили прямой корреляции между этими показателями и сделали вывод о нецелесообразности в настоящее время определять чувствительность грибов *in vitro*, так как в этом нет клинического смысла. Напротив, M. Costa и соавт. [12] отметили корреляцию между чувствительностью *in vitro* и клинической эффективностью лечения КВВ. Мы полагаем, что анализ клинико-лабораторных сопоставлений должен быть продолжен и, возможно, это приведёт к изменению критериев оценки МПК антимикотиков при конкретной патологии урогенитального тракта. Мы планируем проведение такого исследования.

Тем не менее, проведенное нами исследование показало стабильность тенденции к росту лекарственной резистентности среди грибов, колонизирующих влагалище женщин репродуктивного возраста, и рост до 20% высеваемости не-*albicans* видов, относящихся к 9 видам 4 родов. И хотя интерпретация результатов тестирования *in vitro* устойчивости грибов еще не имеет прямого клинического выхода, можно считать клинически оправданным и необходимым проведение территориального мониторинга видового спектра грибов-возбудителей и их чувствительности к антимикотикам, что позволит рекомендовать региональные стандарты эмпирической терапии КВВ.

В настоящее время очевидна необходимость микробиологической диагностики КВВ с определением вида гриба, что позволяет выделять группу пациентов с «проблемными» возбудителями и назначать целенаправленную терапию, определив препарат выбора и его курсовую дозу. Проведенное исследование показало, что в настоящее время подавляющее большинство штаммов *C. albicans* и *C. parapsilosis* чувствительны к имидазолам и три-

азолам. Среди грибов «проблемных» не-*albicans* видов большинство имеют ДЗЧ, которая может быть преодолена в клинике увеличением курсовой дозы препарата. При этом в случаях выделения *C. glabrata* целесообразен как препарат выбора

флуконазол, а в случаях *C. krusei* – итраконазол. Определение чувствительности грибов в широкой акушерско-гинекологической практике в настоящее время не оправдано.

Литература

1. Martinos M.D., Lozano-Chiu M., Rex J.H. Declining rates of symptomatic oropharyngeal candidiasis, carriage of *Candida albicans* and fluconazole resistans in HIV patients. Proceedings of the 35th IDSA Annual Meeting; 1997, Sept. 13-16: Abstract 143.
2. Rex J.H., Rinald M.G., Pfaller M.A. Resistance of *Candida* species to fluconazole. Antimicrob Agents Chemother 1995, 39:1-8.
3. Wingard J.R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treatment prophylactically with fluconazole. N Engl J Med 1991; 325:1274-7.
4. Rex J.H., Pfaller M.A., Galgiani J.N., et al. Development interpretative breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of *in vitro-in vivo* correlation date for fluconazole, itraconazole and *Candida* infections. Clin Infect Dis 1997; 24:235-47.
5. Kontoyiannis D.P., Mantadakis E., Samonis G. Systemic mycoses in the immunocompromised host: an update in antifungal therapy. J Hosp Infect 2003; 53:243-58.
6. Сергеев А.Ю., Маликов В.Е., Жариков Н.Е. Этиология вагинального кандидоза и проблема устойчивости к антимикотикам. Национальная академия микологии 2001; 4:1-4.
7. Багирова Н.С., Дмитриева Н.В. Дрожжевые грибы: идентификация и резистентность к противогрибковым препаратам в онкогематологическом стационаре. Инфекции и антимикробная терапия 2001; 3:178-82.
8. Pappas P.G., Rex J.H., Sobel J.D., et al. Guidelines for treatment of candidiasis. Clin Infect Dis 2004; 38:161-89.
9. Chrg T.D., Khau Z. U., Mokaddas E., Al-Sweih W., Chandy R. Antifungal susceptibility of bloodstream isolates of *Candida* spp. from Kuwait. J Clin Microbiol Infect 2003; 9:365.
10. Svoboda-Kopec E., Krajewska M., Sulik-Tyszka B., Krawezyk E., Zuczak M. Susceptibility of clinical isolates of *Candida glabrata* to new triazoles. Int J Antimicrob Agents 2001; 17:S145.
11. Sobel J.D., Zervos M., Reed B.D., et al. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated *Candida* vaginitis: clinical implications. J Antimicrob Agents Chemother 2003; 47:34-8.
12. Costa M., Passos X.S., Miranda A.T.B., et al. Correlation *in vitro* itraconazole and fluconazole susceptibility with clinical outcome for patients with vulvovaginal candidiasis. J Mycopathol 2004; 157:43-7.