

Garmonov S.Yu., Evgenev M.I., Zikova I.E. *Analiticheskie metodi issledovaniya geneticheskogo polimorfizma organizma cheloveka. Problemi analiticheskoi khimii. Khimicheskii analiz v medicinskoj diagnostike. 2010. T. 11. S. 21-65.*

3. Справочник РЛС: лекарственные средства и препараты. Инструкция, применение, описание [Электронный ресурс]. Электрон. дан. 2011. Режим доступа: <http://www.rlsnet.ru>

*Spravochnik RLS: lekarstvennye sredstva i preparaty. Instruktsiya, primeneniye, opisaniye [Elektronnyy resurs]. Elektron. dan. 2011. Rezhim dostupa: <http://www.rlsnet.ru>*

4. Al-Tamrah S., Al-Abbad S. Spectrophotometric determination of procainamide hydrochloride using sodium periodate. *Arabian Journal of Chemistry. 2015. № 8. P. 609-613.*

5. Lessard E., Fortin A., Coquet A., Belanger P., Hamelin B., Turgeo J. High-performance liquid chromatographic assay for the determination of procainamide and its N-acetylated metabolite in plasma: application to a single-dose

pharmacokinetic study. *Journal of Chromatographic Science. 1998. Vol. 36. P. 49-54.*

6. Sim E., Stanley L., Gill E. W., Jones A. Metabolites of procainamide and practolol inhibit complement components C3 and C4. *Biochem. J. 1988. Vol. 251. P. 323-326.*

7. Гармонов С.Ю., Шитова Н.С., Яковлева А.В., Юсупов Р.А. Метод косвенного определения активности N-ацетилтрансферазы при использовании в качестве реагента метаванадата аммония для оценки экскреции изониазида с мочой человека. *Химико-фармацевтический журнал. 2008. Т. 42. № 8. С. 49-53.*

*Garmonov S.Yu., Shitova N.S., Yakovleva A.V., Yusupov R.A. Metod kosvennogo opredeleniya aktivnosti N-asetiltransferazi pri ispolzovanii c kachestve reagenta metavanadata ammoniya dlya osenki ekskresii izoniazida s mochoi cheloveka. Khimiko-farmaceuticheskii jurnal. 2008. T. 42. № 8. S. 49-53.*



УДК: 615.014.2:615.282.03

Код специальности ВАК: 14.04.00, 14.03.10, 14.03.07

## АНАЛИЗ ВИДОВОГО СОСТАВА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ CANDIDA SPP. К СОВРЕМЕННЫМ АНТИМИКОТИКАМ

В.В. Новикова<sup>1</sup>, С.Г. Езов<sup>2</sup>, А.И. Селиванова<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»,

<sup>2</sup>ООО «Лабораторные технологии», г. Пермь

**Новикова Валентина Васильевна** – e-mail: [vvnperm@yandex.ru](mailto:vvnperm@yandex.ru)

Проанализированы основные тенденции в этиологической структуре инфекций, вызванных *Candida spp.* Оценено распределение видового состава выделенных штаммов представителей рода *Candida*. Подтверждено лидирующее положение представителей *C. albicans* в этиологии кандидозной инфекции, в том числе в структуре кандидозного поражения половых путей. Выявлена высокая резистентность изученных штаммов *Candida spp.* к азоловым антимикотикам. Установлено, что данные определения чувствительности клинических изолятов диско-диффузионным методом требуют сопоставления с референтными методиками.

**Ключевые слова:** *Candida spp.*, этиология, резистентность, антимикотики.

The main trends in the etiological structure of the infections caused by *Candida spp.* has been evaluated. The distribution of species composition of selected strains of the genus *Candida* has been estimated. The leading position of the representatives of *C. albicans* in the etiology of *Candida* infection, including in the structure of candidal lesions of the genital tract has been confirmed. The high resistance of the studied strains of *Candida spp.* to azolouye antifungals was detected. It was established that the data determine the sensitivity of clinical isolates, disk diffusion method require comparison with reference methods.

**Key words:** *Candida spp.*, etiology, resistance, antifungals.

### Введение

Проблема резистентности микроорганизмов в настоящее время приобретает глобальный характер и касается любой категории микроорганизмов. Устойчивость грибов к антимикотикам имеет стабильную тенденцию к прогрессированию [1, 2]. Селекция резистентных штаммов грибов происходит вследствие необоснованного применения противогрибковых средств, длительного использования отдельных препаратов в схеме лечения микотической инфекции. Инфекции, вызванные резистентными штаммами, отличаются длительным течением со склонностью к хронизации и возникновению рецидивов, что приводит к дополнительным материальным затратам на медикаментозное лечение и снижению качества жизни пациентов, нарушению их психоэмоционального состояния.

**Цель исследования:** изучить этиологическую структуру инфекций, вызываемых представителями *Candida spp.*, проанализировать показатели чувствительности выделен-

ных штаммов к наиболее часто используемым антимикотикам.

### Материал и методы

Исследованы биосубстраты от 493 пациентов многопрофильных клиник (поликлиники и стационары) г. Перми. Культуральной диагностике подверглось отделяемое половых органов, конъюнктивы, уха, мокрота, моча, кал, мазки из зева и носа, раневое отделяемое. Положительные высевы зафиксированы в 181 случае. Для оценки чувствительности выделенных штаммов грибов использовался диско-диффузионный метод, являющийся унифицированным, доступным и легко воспроизводимым методом, при этом описана хорошая корреляция с референтными методиками (методом разведений) [3, 4]. Посевы осуществлялись на агар Сабуро. Использовались диски производства компании ЗАО «НИЦФ» ДИ-ПЛС-50-01, содержащие 80 ЕД нистатина, 10 мкг клотримазола, 20 мкг кетоконазола и 40 мкг флуконазола. Инокулированные

чашки с дисками инкубировались при температуре  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  от 40 до 48 ч. Согласно инструкции производителя, критериями для определения категории чувствительности к флуконазолу были: чувствительный – при диаметре зон подавления  $\geq 29$  мм, промежуточный–дозозависимый – при 20–28 мм и резистентный – при  $\geq 19$  мм. Интерпретационными критериями для кетоконазола были: чувствительный  $\leq 26$  мм, промежуточный–дозозависимый 20–25 мм, резистентный  $\leq 13$  мм (МПК  $\geq 4$  мг/л). Для клотримазола соответствующие критерии составили: чувствительный  $\geq 12$  мм, резистентный  $< 12$  мм; для нистатина  $\geq 18$  мм и  $< 18$  мм, соответственно.

### Результаты и их обсуждение

По результатам микологических исследований нами была проанализирована этиологическая структура кандидозной инфекции (таблица).

Среди изученных патогенов в исследуемом материале преобладали штаммы *C. albicans* (150 штаммов, что составило 83,8%). Также были выделены другие представители *Candida spp.*: *C. krusei* (16 штаммов – 8,9%), *C. glabrata* (13 штаммов – 7,3%) (рис. 1). Помимо этого в единичных случаях были выделены плесневые грибы (1 штамм).

При анализе чувствительности к антимикотикам получены следующие данные: из 150 выделенных штаммов *C. albicans* к нистатину были чувствительны 94 изолята (62,7%), к клотримазолу – 49 штаммов (32,9%), к кетоконазолу – 10 штаммов (6,7%), к флуконазолу – 9 штаммов (6%). Количество резистентных штаммов к данным антимикотикам составило 51 штамм (34%), 99 штаммов (66,4%), 139 штаммов (93,3%) и 141 (94%), соответственно. Остальные изоляты *C. albicans* проявили промежуточную чувствительность. Выделенные штаммы *C. krusei* – второго по частоте встречаемости патогена, также имели высокую резистентность к азоловым антимикотикам: к клотримазолу устойчивы 11 штаммов (68,8%), к кетоконазолу – 15 штаммов (93,8%), к флуконазолу – 16 (100%). Количество устойчивых штаммов к нистатину составило 7 (43,8%). Профиль чувствительности изученных изолятов *C. glabrata* близок к таковому у описанных представителей *C. albicans*: количество штаммов, чувствительных к нистатину, составило 11 (84,6), к клотримазолу – 8 (61,5%), к кетоконазолу – 3 (23,1%) к флуконазолу – 3 (23,1%). Количество резистентных штаммов составило 2 (15,4%), 5 (38,5%), 10 (76,9%) и 10 (76,9%), соответственно.

Из 162 биосубстратов отделяемого половых органов представители *Candida spp.* выявлены в 66 случаях, что составило 40,7% положительных высевов. Этиологическая структура кандидоза (ЭСК) половых органов аналогична описанному выше распределению видового состава изученных культур микромицетов, выделенных из общего состава биосубстратов (рис. 2): доля *C. albicans* составила 81,8% (54 штамма), *C. krusei* – 10,6% (7 штаммов), *C. glabrata* – 7,7% (5 штаммов).

При анализе чувствительности к антимикотикам установлено, что из 54 выделенных штаммов *C. albicans* к нистатину проявили чувствительность 61,1% изолятов; 33,3% были резистентны. К производным азолов чувствительность *C. albicans* была существенно ниже: к клотримазолу – 33,3% (18 штаммов), к кетоконазолу – 11,1% (6 штаммов), к флуконазолу – 9,3% (5 штаммов).

Количество резистентных штаммов к данным антимикотикам составило 35 штаммов (64,8%), 48 штаммов (88,9%), 49 штаммов (90,7%), соответственно (рис. 3). Остальные изоляты *C. albicans* проявили промежуточную чувствительность.

Большинство изолятов *C. krusei* проявили чувствительность к нистатину (85,7%), в то время как к другим антимикотикам установлена высокая частота резистентности: к клотримазолу были резистентны 71,4% выделенных штаммов, к кетоконазолу – 100%, к флуконазолу – 100% (рис. 4).

Выделенные штаммы *C. glabrata* также проявили высокую резистентность к азоловым антимикотикам (рис. 5): к кетоконазолу – 80% (4 штамма), к флуконазолу – 60% (3 штамма). Количество чувствительных к нистатину и клотримазолу штаммов составило 4 (80%).

Грибы рода *Candida* являются наиболее частой этиологической причиной как тяжелых инвазивных микозов, так и большого числа поверхностных форм грибковой инфекции [2, 3, 5, 6]. Особое значение имеют данные микроорганизмы в развитии вагинальных инфекций [6, 7]. При хроническом рецидивирующем кандидозе гениталий *Candida spp.* могут накапливаться и продуцировать факторы агрессии – эндотоксин, гликопротеиды, протеолитические и липолитические ферменты, вызывающие патологические изменения в тканях, в частности, в эпителии шейки матки [8].

О высокой частоте выделения из половых путей представителей *Candida spp.* свидетельствуют данные многих исследований. Доминирующим видом традиционно является *C. albicans* – 76,1–86% случаев, не-*albicans* виды *Candida spp.* – в 14–15,1% [5, 7, 9].

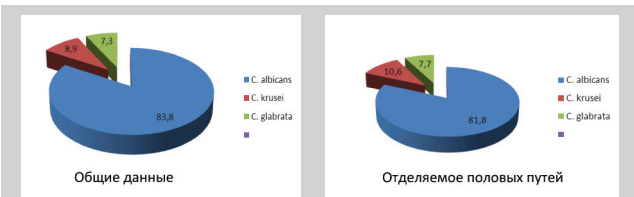
Данные по чувствительности к используемым антимикотикам весьма важны для эффективного лечения пациента ввиду широкого распространения резистентных штаммов [2, 3]. Большее значение в практической медицине имеет вторичная резистентность грибов к противогрибковым средствам. Производные азола являются препаратами выбора большинства клинических форм кандидоза. Описано несколько механизмов устойчивости к азолам. Один из них связан с активным эффлюксом препаратов вследствие активации транспортных систем выведения, ассоциирующейся с изменением в структуре мембраны, возникающей как результат мутаций генов *Cg CDR1*, *Cd CDR1*, *Cd MDR1* у *Candida spp.* [10, 11, 12]. Резистентность микромицетов может быть обусловлена нарушением связывания ферментов грибковой клетки с азолами в результате точечных генных мутаций или изменением структуры фермента, с которым связывается антимикотик, что приводит к снижению или нарушению связывания фермента с лекарственным препаратом [10, 11, 12].

В последние годы все чаще сообщают о снижении чувствительности *Candida spp.* к флуконазолу. Так, французские исследователи показали, что чувствительность к

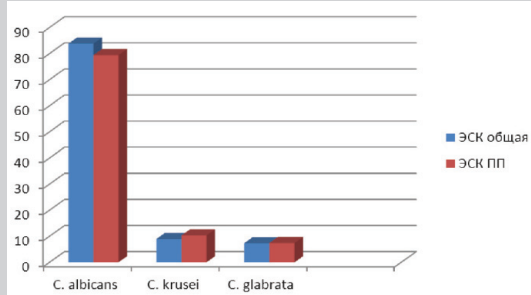
### ТАБЛИЦА.

Распределение видового состава изученных культур *Candida spp.*

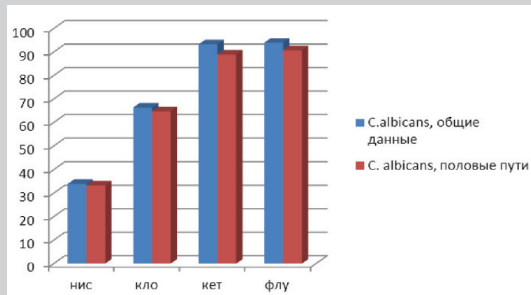
Локализация	Количество выделенных штаммов (%)		
	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. glabrata</i>
Общие данные	150 (83,8)	16 (8,9)	13 (7,3)
Половые пути	54 (81,8)	7 (10,6)	5 (7,7)



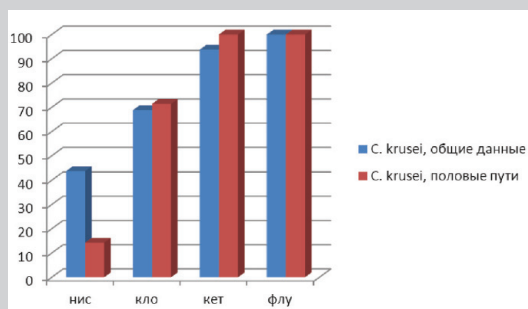
**РИС. 1.**  
Распределение видового состава изученных культур *Candida spp.*, %.



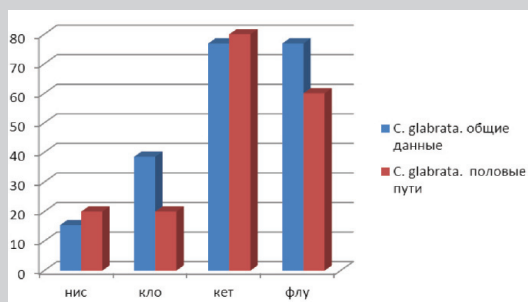
**РИС. 2.**  
Распределение видового состава культур *Candida spp.*, выделенных из половых путей, %.



**РИС. 3.**  
Показатели резистентности штаммов *C. albicans*, %.



**РИС. 4.**  
Показатели резистентности штаммов *C. krusei*, %.



**РИС. 5.**  
Показатели резистентности штаммов *C. glabrata*, %.

этому антимикотику снизилось на 17% [13]. В то время как результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS DISK [9] свидетельствуют о наличии высокой чувствительности клинических изолятов доминирующего вида *C. albicans* к флуконазолу (95,9% штаммов, вошедших в исследование, и 96,8% штаммов, выделенных из половых путей), у отдельных изолятов *Candida non-albicans* чувствительность к данному препарату была существенно ниже: наименьшая активность флуконазола отмечена для *C. krusei* (9,0% чувствительных штаммов) и *C. glabrata* (59,3% чувствительных штаммов), что согласуется с данными нашего исследования. Однако результаты проведенного нами анализа чувствительности выделенных штаммов *C. albicans* к флуконазолу существенно отличаются от результатов вышеприведенного многоцентрового исследования. Это может быть связано как с генетико-эпидемиологическими свойствами выделенных штаммов, так и с особенностями используемого диско-диффузионного метода. В связи с этим утверждение, что определение чувствительности выделяемых клинических штаммов грибов рода *Candida* характеризуется достаточно прогнозируемым уровнем чувствительности штаммов к существующим препаратам и не имеет достаточных оснований [14], является спорным. Также представляется необходимым сопоставление результатов рутинного диско-диффузионного метода с референтным методом микроразведений в жидкой питательной среде. В отношении определения чувствительности штаммов микромицетов к флуконазолу целесообразно осуществить выполнение методики по протоколу CLSI M44-A [15] с использованием стандартных дисков, содержащих 25 мкг флуконазола, 1 мкг вориконазола, и сравнить с результатами данных исследований.

### Выводы

Подтверждено лидирующее положение представителей *C. albicans* в этиологии кандидозной инфекции, в том числе в структуре кандидозного поражения половых путей. Выявлена высокая резистентность изученных штаммов *Candida spp* к азоловым антимикотикам. Данные определения чувствительности клинических изолятов диско-диффузионным методом требуют сопоставления с референтными методиками.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Решедько Г.К., Козлов Р.С. Состояние резистентности к антиинфекционным препаратам в России. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. М.: РЦ «Фармединфо», 2007.
2. Reshedko G.K., Kozlov R.S. *Sostoyanie rezistentnosti k antiinfekcionnim preparatam v Rossii. Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfekcionoi himioterapii / pod red. L.S. Strachunskogo, Yu.B. Belousova, S.N. Kozlova. M.: RC «Farmedinfo», 2007.*
3. Cardo D., Horan T., Andrus M. et al. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. A report from the NNIS System. *J. Infect. Control.* 2004. Vol. 32. P. 470-85.
4. Веселов А.В., Мултых И.Г., Клясова Г.А. и др. Эпидемиология возбудителей кандидозов и их чувствительность к азолам: результаты исследования ARTEMIS Disk в России. *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия.* 2005. Т. 7. № 1. С. 68-76.
5. Veselov A.V., Multih I.G., Klyasova G.A. *i dr. Epidemiologiya vozбудitelei kandidozov i ih chuvstvitel'nost k azolam - rezultati issledovaniya ARTEMIS Disk v Rossii. Klin. mikrobiol. i antimikrob. himioterapiya.* 2005. T. 7. № 1. S. 68-76.

4. Bary A.L., Brown D. Fluconazole disk diffusion procedure for determining susceptibility of *Candida* species. *J. Clin. Microbiol.* 1996. Vol. 34. P. 2154-2157.
5. Шагдилеева Е.В., Хостелиди С.Н., Васильева Н.В. и др. Инвазивный кандидоз на отделениях реанимации и интенсивной терапии Ленинградской областной клинической больницы. Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16. № 2. С. 147.
- Shagdileeva E.V., Hostelidi S.N., Vasileva N.V. i dr. Invazivnii kandidoz na otdeleniyah reanimacii i intensivnoi terapii Leningradskoi oblastnoi klinicheskoi bolnici. Problemi medicinskoj mikologii. 2014. T. 16. № 2. S. 147.*
6. Климко Н.Н., Козлова Я.И., Васильева Н.В. и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program. Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16. № 1. С. 3-8.
- Klimko N.N., Kozlova Ya.I., Vasileva N.V. i dr. Rasprostranennost tyazjelih i hronicheskikh mikoticheskikh zabolevanii v Rossijskoi Federacii po modeli LIFE program. Problemi medicinskoj mikologii. 2014. T. 16. № 1. S. 3-8.*
7. Жорж О.Н., Мирзабалаева А.К. Роль *Candida* spp. в формировании патологии шейки матки. Проблемы медицинской микологии. 2011. Т. 13. № 1. С. 35-38.
- Jorj O.N., Mirzabalaeva A.K. Rol Candida spp. v formirovanii patologii sheiki matki. Problemi medicinskoj mikologii. 2011. T. 13. № 1. S. 35-38.*
8. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Вульвовагинальный кандидоз. Клиника, диагностика, принципы терапии. М. 2010. 72 с.
- Prilepskaya V.N., Bairamova G.R. Vulvovaginalnii kandidoz. Klinika, diagnostika, principii terapii. M. 2010. 72 s.*
9. Веселов А.В., Климко Н.Н., Кречикова О.И. и др. In vitro активность флуконазола и вориконазола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS disk в России. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* 2008. Т. 10. № 4. С. 345-354.
- Veselov A.V., Klimko N.N., Krechikova O.I. i dr. In vitro aktivnost flukonazola i vorikonazola v otnoshenii bolee 10000 shtammov drozhej - rezultati 5-letnego prospektivnogo issledovaniya ARTEMIS disk v Rossii. Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter. 2008. T. 10. № 4. S. 345-354.*
10. Иванова Л.В., Баранцевич Е.П., Шляхт Е.В. Резистентность грибов-патогенов к антимикотикам (обзор). Проблемы медицинской микологии. 2011. Т. 13. № 1. С. 14-17.
- Ivanova L.V., Barancevich E.P., Shlyahht E.V. Rezistentnost gribov-patogenov k antimitikotikam (obzor). Problemi medicinskoj mikologii. 2011. T. 13. № 1. S. 14-17.*
11. Peman J., Canton E., Espinel-Ingroff A. Antifungal drug resistance mechanisms. 2009.
12. Perlin D.S. Antifungal drug resistance do molecular methods provide a way forward? *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2009. Vol. 22. P. 568-573.
13. Leroy O., Gangneux J.-P. et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). *Crit. Care Med.* 2009. Vol. 37. P. 1612-1618.
14. Rex J.H., Pfaller M.A., Walsh T.J. et al Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev.* 2001. № 14. P. 643-658.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. CLSI document M44-A. 2004. CLSI, Wayne, PA, USA.



УДК: 615.014.2:615.272.2:549

Код специальности ВАК: 14.00.01, 14.00.02

## СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова, Е.С. Березина, И.В. Алексева,  
ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»

Голованенко Анна Леонидовна – e-mail: annagolovanenko@yandex.ru

В результате комплекса проведенных научно-экспериментальных исследований разработаны составы и технология гелей и пленок лекарственных для активной реминерализации эмали. Выбор состава осуществлен с учетом основных требований реминерализующей терапии. Изучены кинетические закономерности высвобождения лекарственных средств из геля и пленок лекарственных с использованием кондуктометрического метода анализа. Проведена стандартизация лекарственных форм по показателям подлинности и количественного содержания основных действующих веществ, технологическим параметрам и микробиологической чистоте. Доклинические исследования разработанных лекарственных форм проведены путем оценки их специфической противовоспалительной и антимикробной активности, а также острой токсичности.

**Ключевые слова:** эмаль, реминерализующая терапия, кариес, гели, пленки лекарственные.

As a result of the scientific-experimental research composition and technology of gels and films of medicines for the active enamel remineralization were designed. The formula was chosen taking into account the basic requirements of the remineralizing therapy. The kinetic regularities of drugs release from gel and films drug-using conductometric were studied with the help of analysis method. Standardization of dosage forms in terms of authenticity and quantitative content of the main active ingredients, processing parameters and microbiological purity was made. Preclinical studies of the developed dosage forms were tested by estimating their specific anti-inflammatory and antimicrobial activity and acute toxicity.

**Key words:** enamel, remineralization therapy, caries, gels, films medicinal.