

Е.А. Керимов

Азербайджанский медицинский университет, Баку

Исследование взаимосвязи количественной высеваемости грибов *Candida spp.* с факторами их патогенности у больных кандидозом пищеварительного канала

Ключевые слова

Грибы *Candida spp.*, кандидоз пищеварительного канала.

В последние десятилетия во всем мире прогрессирует возрастание количества заболеваний, обусловленных условно-патогенными грибами рода *Candida* [3, 5]. Эти микроорганизмы широко распространены в окружающей среде, обсеменяют многие продукты питания: сырое мясо, молочные продукты, фрукты с высоким содержанием сахаров, кондитерские изделия и др. В организм человека эти грибы преимущественно попадают перорально — в пищеварительный канал (ПК) и далее в другие органы и системы, хотя доказана возможность внутриутробного заражения, а также передача инфеканта от кандидоносителей и больных кандидозом. У практически здоровых лиц грибы *Candida spp.* высеваются из ПК в 25–80 % случаев (бессимптомное кандидоносительство) [4, 8]. Кандидоинфекция обычно развивается как эндогенное заболевание, возникающее на почве снижения резистентности организма и активизации факторов патогенности грибов, находящихся в организме хозяина. Одной из наиболее распространенных форм висцерального кандидоза является кандидоз кишечника [5]. Последний чаще всего вызывается *Candida albicans*, который в отличие от других грибов рода *Candida* имеет наиболее широкий спектр факторов патогенности [3, 5].

Кандидоз кишечника может протекать как просветочная форма заболевания без внедрения гриба в слизистую оболочку либо перейти в ин-

вазивную форму с прорастанием мицелия гриба в ткани кишечника. У ряда больных развивается кандидоз ПК с поражением грибами нескольких отделов [6, 7].

Инвазивный кандидоз ПК может быть источником гематогенной диссеминации *Candida spp.*, в связи с чем его рассматривают как состояние, угрожающее жизни. При этом основным источником диссеминации является ПК. В европейских странах от 8,4 до 20 % случаев кандидемии развиваются еще до поступления больных в стационар [6, 7]. Летальность пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии от кандидоинфекций достигает 40–50–88 % [6, 9].

Вопросы ранней эффективной диагностики, патогенеза, терапии и профилактики этой патологии во многом остаются нерешенными, дискуссионными, хотя их изучению посвящены многочисленные как клинические, так и экспериментальные работы [7–9].

Цель работы — изучение взаимосвязи показателей высеваемости гриба с факторами его патогенности, у больных кандидозом ПК и кандидоносителей.

Материалы и методы

В обследование было включено 30 практически здоровых лиц, 38 кандидоносителей и 89 больных различными формами кандидоза ПК: 36 — с просветочным кандидозом кишечника,

25 — с инвазивным кандидозом кишечника, 38 — с системным кандидозом ПК.

Обследование пациентов включало клинические, микологические, бактериологические, а также инструментальные исследования. Материалом для исследований служили кровь, буккальные эпителиоциты, культуры *C. albicans*, выделенные из фекалий. Бактериологическое и микологическое обследование материалов от больных и контрольных лиц проводили по общепринятым методикам [2, 7], определение факторов патогенности грибов — методами [2], модифицированными нами.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6. Вычисляли среднюю арифметическую величину и среднее квадратическое отклонение. Для оценки статистической значимости различий между соответствующими показателями вычисляли критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Обследовано 157 пациентов в возрасте от 20 до 57 лет. Характеристика обследованных групп пациентов представлена в таблице.

Обращает на себя внимание тот факт, что у больных с просветочной формой кандидоза, у которых высеваемость грибов рода *Candida* из кишечного содержимого составляла 10^4 КОЕ/мл и более, в биоптатном материале кишечника грибы не обнаруживались. У этой группы больных преобладающими факторами риска был прием антибиотиков (69,4 %) и хронические заболевания гепатобилиарной системы (27,8 %). У больных IV и V групп отмечены наиболее тяжелые фоновые состояния. Инвазивный кандидоз ки-

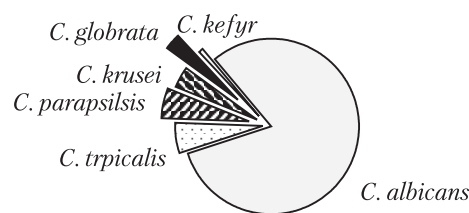


Рис. 1. Видовой состав грибов рода *Candida*, выделенных из кала пациентов

шечника чаще всего (56,0 %) развивался на фоне хронического язвенного колита, системный кандидоз ПК выявлялся преимущественно в случаях гемобластозов, химиотерапии злокачественных новообразований, лучевой терапии (53,6 %).

От 127 пациентов (кандидоносителей и больных кандидозом) выделено 131 культуру грибов рода *Candida*. Среди кандидоносителей высеваемость грибов составляла не более 10^4 КОЕ/мл, при этом у 39,5 % обследованных их количество составляло до 10^4 КОЕ/мл, у 60,5 % — от 10^3 до 10^4 КОЕ/мл. Исследование видовой принадлежности выделенных от пациентов грибов показало, что в большинстве случаев (81,6 %) выделялся вид *C. albicans* (рис. 1).

В группе больных инвазивным кандидозом кишечника высеваемость гриба составляла 10^4 КОЕ/мл и более. У них диагноз устанавливали по наличию *Candida spp.* в мицелиальной форме в биопсийном материале из кишечника. У больных системным кандидозом, характеризовавшимся сочетанным микотическим поражением нескольких отделов ПК: кандидоз кишечника в сочетании с кандидозом пищевода (у 14 больных), орозофагеальным кандидозом (у 11), кандидозом желудка (у 3), диагноз также был уста-

Таблица. Характеристика обследованных больных

Группа	Средний возраст (M ± m), годы	Диагноз	Мужчины	Женщины	Частота высеваемости и количество <i>Candida spp.</i> в фекалиях
I	43,2 ± 3,92	Практически здоровые, без хронической соматической патологии	13	17	Отрицательный высев <i>Candida spp.</i> . На протяжении последних 3 мес антибиотиков, глюкокортикоидов, цитостатиков не получали
II	44,3 ± 4,62	Кандидоносители	17	21	С высеваемостью <i>Candida spp.</i> не более 10^4 КОЕ/мл
III	47,7 ± 5,16	Кандидоз кишечника просветочный	17	19	Высеваемость <i>Candida spp.</i> 10^4 КОЕ/мл и более. В биоптатном материале из кишки грибы не обнаружены
IV	48,4 ± 5,27	Кандидоз кишечника инвазивный	11	14	Наличие <i>Candida spp.</i> в биопсийном материале в мицелиальной форме
V	45,6 ± 4,92	Системный кандидоз ПК	16	12	Сочетанное микотическое поражение нескольких отделов ПК

новлен после обнаружения грибов *Candida spp.* в мицелиальной форме в биопатных материалах.

У двух больных IV группы и двух — V группы обнаружены ассоциации грибов. В группе IV у одного больного выделены ассоциации *C. albicans* и *C. krusei*, *C. albicans* и *C. parapsilosis*, у другого — *C. albicans* и *C. glabrata*.

Наибольшая частота выделения *C. albicans* от пациентов, по-видимому, обусловлена его высокой приспособляемостью к среде обитания. Среди *Candida spp.* этот вид является наиболее патогенным и имеет высокую степень изменчивости. Вместе с тем, хорошо известно, что этот вид гриба нередко можно обнаружить в различных биосубстратах у практически здоровых лиц, что существенно затрудняет диагностику и дифференциацию *Candida*-инфекций. Поэтому на втором этапе работы для выяснения некоторых этиопатогенетических аспектов данного заболевания мы провели сравнительную оценку биологических свойств *C. albicans*, выделенных от больных просветочным (III группа) и инвазивным кандидозом кишечника (IV группа), системным кандидозом ЖКТ (V группа) и кандидоносителей (II группа).

Определение биологических свойств гриба проводили путем изучения степени его адгезии к муцину, адгезии и коадгезии к донорским эпителиоцитам толстого кишечника с образованием микроколоний, а также количественной оценки blastospores, содержащихся в их составе и их гидрофобности. Микроколонирами считали конгломераты грибов, состоящие из 3 и более клеток *C. albicans*. Результаты выражали в виде индекса адгезии микроколоний (среднее количество

микроколонии, адгезированных на 1 эпителиоците) и величины микроколоний — средним количеством blastospores, содержащихся в адгезированных к эпителиоцитам микроколонирах.

Исследования показали значительно более выраженные адгезивные свойства культур гриба, выделенных от больных, по сравнению с таковыми кандидоносителей (рис. 2).

При этом штаммы *C. albicans* от больных инвазивным и системным кандидозом (IV и V группы) обладали существенно более высокой адгезивной активностью, чем штаммы, полученные от больных с просветочным кандидозом (III группа).

Выяснилось, что у культур *C. albicans* от кандидоносителей индекс коадгезии составлял всего ($0,37 \pm 0,02$) усл. ед., при этом количество blastospores гриба в составе микроколоний было минимальным ($3,5 \pm 0,16$) усл. ед.). У больных III группы как индекс коадгезии ($3,2 \pm 0,25$) усл. ед.), так и величина микроколоний ($7,4 \pm 0,82$) усл. ед.) достоверно превышали значения этих показателей у кандидоносителей. Максимальные значения обоих показателей выявлены у больных системным кандидозом ЖКТ: индекс ко-адгезии составил ($4,3 \pm 0,41$) усл. ед., а величина микроколоний — ($14,2 \pm 1,82$) усл. ед.

Как указывалось выше, у культур клеток гриба *C. albicans*, выделенных от пациентов, мы исследовали также адгезивную активность в отношении муцина и их муцинолитические свойства (рис. 3).

Культуры *C. albicans*, полученные от кандидоносителей, обладали меньшими адгезивными свойствами ($57,9 \pm 4,95$ %) к муцину по сравне-

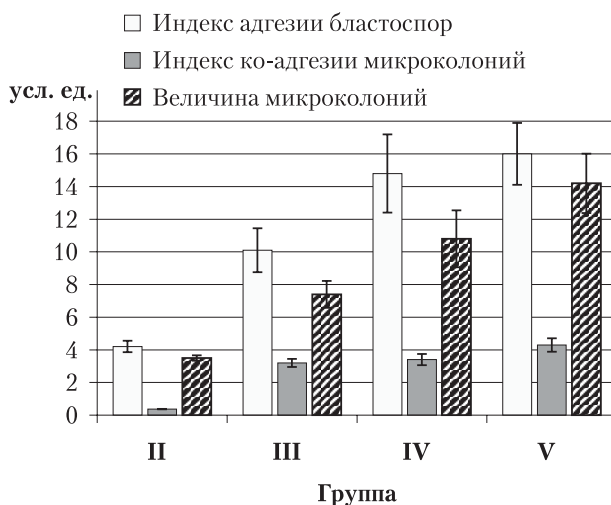


Рис. 2. Адгезия, коадгезия blastospores на эпителиоцитах и количественная характеристика микроколоний аутоштаммов *C. albicans*

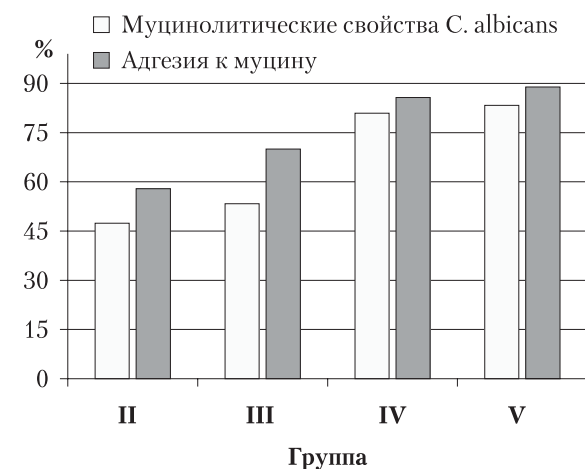


Рис. 3. Адгезия к муцину и муцинолитические свойства *C. albicans*

нию с таковыми культур, выделенных от больных кандидозом. У больных IV и V групп выделенные культуры обладали высокой адгезивной активностью — $(85 \pm 7,16) \%$ и $(88,9 \pm 8,3) \%$ соответственно. Похожая картина получена при определении муцинолитических свойств *C. albicans* у кандидоносителей и больных с различными формами кандидоза ПК.

Гидрофобные свойства штаммов гриба, выделенных от кандидоносителей, были значительно менее выражены, чем у культур *C. albicans*, полученных от больных кандидозом: у последних средние значения были выше в 2–3 раза ($p < 0,05$). Хотя между штаммами гриба, выделенными от отдельных групп больных кандидозом, не обнаружено достоверных различий в гидрофобности, выявлена явная тенденция к возрастанию этого показателя с утяжелением диагноза заболевания. Так, если при просветочной форме кандидоинфекции (III группа) показатель гидрофобности составлял $(56,9 \pm 5,24) \%$, то при инвазивном кандидозе кишечника (IV группа) — $(1,4 \pm 6,12) \%$. Максимальное значение этого показателя ($(85,1 \pm 8,91) \%$) обнаружено у штаммов *C. albicans*, выделенных от больных системным кандидозом ПК (V группа).

Следовательно, штаммы гриба *C. albicans*, полученные от больных, отличались более выраженными факторами патогенности по сравнению с культурами гриба, полученными от кандидоносителей. Первые обладали значительной способностью к коадгезии и образованию крупных микроколоний, адгезией к эпителиоцитам и муцину, чаще проявляли выраженную муцинолитическую активность, что, несомненно, могло способствовать развитию кандидоинфекции.

Следует подчеркнуть, что при анализе корреляции между количественной высеваемостью *Candida spp.* и изученными показателями выявлены как прямые, так и обратные связи. В связи

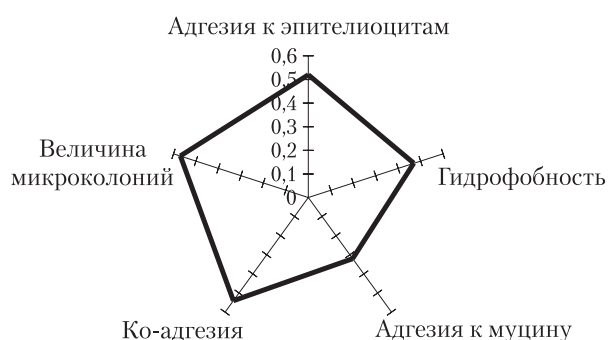


Рис. 4. Корреляционные связи между факторами патогенности и высеваемостью *C. albicans*

с этим на рисунке коэффициенты корреляции нами представлены по модулю (r), а направленность взаимосвязи показана в виде знака «+», отражающего прямую корреляцию, и «-», означающего обратную взаимозависимость (рис. 4).

Выявлено наличие прямой корреляции между высеваемостью гриба и наличием факторов агрессии. Адгезия к муцину имела прямую слабую корреляцию с высеваемостью гриба ($r = 0,32$). Частота выявления выраженной муцинолитической активности коррелировала с количеством выделенных грибов в большей степени, чем предыдущий показатель: $r = 0,50$. Количественная обсемененность грибов возрастала с увеличением адгезивной активности патогена к эпителиоцитам: уровень корреляции с высеваемостью гриба ($r = 0,56$) и величина микроколоний ($r = 0,54$).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют заключить, что уровень высеваемости гриба связан в наибольшей степени ($r = 0,50$) со свойствами адгезии к муцину, адгезии и коадгезии бластоспор к эпителиоцитам с образованием микроколоний, с количественной характеристикой бластоспор в их составе, а также с их гидрофобностью.

Список литературы

1. Белобородов В.Б., Митрохин А.А. Инфекции, вызванные грибами, у пациентов отделений интенсивной терапии // Хирургия.— 2004.— Т. 6.— С. 17–19.
2. Караев З.О. Нозокомиальные микозы: состояния и перспективы решения проблемы // Проблемы медицинской микологии.— 2007.— № 3.— С. 21–23.
3. Караев З.О., Лебедева Т.Н. Патогенез кандидоза и аллергии к грибам рода *Candida*.— Баку: Тэбид, 2007.— 215 с.
4. Кубась В.Г. Этиология, патогенез и лабораторная диагностика кандидоза (д/п. 2002) // Метод. рекоменд.— 2006.
5. Рьжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Рябичева Т.Г. и др. Продукция цитокинов клетками крови как показатель напряженности поствакцинального иммунитета // Новости Вектор-Бест.— 2008.— Т. 48, № 2.— http://vector-best.ru/nvb/n48/st48_3.htm
6. Хмельницкий О.К. Кандидоносительство. Просветочная кандидопатия. Инвазивный кандидоз // Проблемы медицинской микологии.— 1999.— Т. 1, № 1.— С. 12–17.
7. Шевяков М.А. Диагностика и лечение кандидоза пищевода // Ревматология, гастроэнтерология.— 2005.— № 7.— С. 14–16.
8. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и некоторые вопросы микробиологической токсикологии // Антибиотики и медицинская биотехнология.— 1987.— Т. 32, № 3.— С. 11–13.
9. Clemons K.V., Gonzalez G.M., Singh G. et al. Development of an orogastrointestinal mucosal model of Candidiasis with dissemination to visceral organs // Antimicrob. Agents Chemother.— 2006.— Vol. 50.— P. 2650–2657.

Є.А. Керімов

Дослідження взаємозв'язку кількісного висіювання грибів *Candida spp.* з чинниками їхньої патогенності у хворих на кандидоз травного каналу

Проведено вивчення питань етіопатогенезу, зокрема взаємозв'язку висіювання грибів *Candida spp.* з чинниками їхньої патогенності, у 157 осіб, серед них 30 практично здорових осіб, 38 — кандидоносіїв і 89 хворих на різні клінічні форми кандидозу травного каналу (ТК): 36 — з просвітним кандидозом кишечника, 25 — з інвазивним кандидозом кишечника, 38 — із системною кандидоінфекцією ТК. Середній вік пацієнтів — $(45,4 \pm 7,45)$ року. Обстеження хворих і контрольних осіб проведено із застосуванням комплексно-клінічних, мікологічних та інструментальних методів дослідження.

Установлено, що висіювання грибів *Candida spp.* з кишкового вмісту у кандидоносіїв становить не більше ніж 10^4 КУО/мл, у хворих з просвітним кандидозом кишечника — 10^4 КУО/мл та більше, хоча у біоптатах з їхнього кишечника грибів не виявлено. У хворих на інвазивний кандидоз кишечника, а також у пацієнтів із системним кандидозом величина висіювання становила 10^5 КУО/мл і більше, у біоптатах з різних відділів кишечника і стравоходу виявлено гриби *Candida spp.* у міцеліальній формі. Культури грибів, особливо *Candida albicans*, виділені від хворих з інвазивними формами кандидозу, мали вищу ($p < 0,05$) активність адгезії і коадгезії бластоспор до епітеліоцитів, адгезії до муцину і муцинолітичну та гідрофобну активність порівняно з такими у кандидоносіїв та у хворих з просвітним кандидозом кишечника.

Результати досліджень свідчать про наявність прямої кореляції між висіюванням гриба з кишечника у хворих на інвазивні форми кандидозу та чинниками їхньої патогенності.

E.A. Kerimov

The study of relationship of the qualitative *Candida spp.* isolation and factors of their pathogenicity in patients with gastro-intestinal tract candidiasis

The investigation has been held for the etiopathogenesis questions, especially those concerning the relationship of the *Candida spp.* isolation and factors of their pathogenicity. This study involved 157 subjects, from them 30 practically healthy persons, 38 were *Candida* carriers and 89 patients with different clinical forms of gastro-intestinal tract (GIT) candidiasis: 36 – with intestinal luminal candidiasis, 25 – with invasive intestinal candidiasis, and 38 with systemic GIT candidiasis. The patients' mean age was 45.4 ± 7.45 years. The study of patients and controls included complex clinical, mycological and instrumental methods of examination.

It has been established that the isolation of *Candida spp.* from intestinal contents in *Candida* carriers was not more than 10^4 CFU/ml, in patients with luminal candidiasis this figure was 10^4 CFU/ml and more, no *Candida spp.* was revealed in the biopsy materials from of their intestine. In patients with invasive intestinal candidiasis, and in patients with systemic candidiasis, which were characterized combined mycotic lesions some regions of GIT, isolation of *Candida spp.* was defined 10^5 CFU/ml and more, simultaneously in biopsy from different sections of GIT were revealed *Candida spp.* in mycelial form.

It was established, that the cultures of *Candida spp.*, especially *C. albicans*, isolated in patients with invasive forms of candidiasis have possessed more high ($p < 0.05$) activity of adhesion and co-adhesion of blastospores to epitheliocytes, adhesion to mucin and mucinolytic activity, and hydrophobic activity in compare with the same in *Candida* carriers and in patients with candidiasis of intestinal cavity.

The results of this investigation testifies about the presence of direct correlation between isolation of *Candida spp.* from intestinal tract in patients, with invasive forms of candidiasis and factors of their pathogenicity.

Стаття надійшла до редакції 23 грудня 2010 р.