

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ГРОМАДСЬКОГО ЗДОРОВ'Я
ІМ. О.М. МАРЗЄЄВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ
НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СОБКОВА ЖАННА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 614.4:614.71: 614-036.22:579.22:579.87

ДИСЕРТАЦІЯ

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ ЦИРКУЛЯЦІЇ КАНДИДОЗНОЇ
ІНФЕКЦІЇ У ХВОРИХ ТА У ВНУТРІШНЬОМУ СЕРЕДОВИЩІ
БАГАТОПРОФІЛЬНОГО СТАЦІОНАРУ

14.02.01 – гігієна та професійна патологія

091 – біологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Науковий керівник доктор медичних наук Сурмашева Олена Василівна

Київ – 2018

АНОТАЦІЯ

Собкова Ж.В. Гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.02.01. – «Гігієна та професійна патологія» (091 – біологія) – Державна установа «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», Київ, 2018.

У процесі виконання роботи вперше в Україні дано всебічну гігієнічну оцінку ризику розвитку внутрішньолікарняної інфекції (ВЛІ) кандидозної етіології. Визначена небезпека циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару на підставі комплексних санітарно-гігієнічних, епідеміологічних, мікробіологічних досліджень. Узагальнено та науково обґрунтовано доцільність мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару.

При дослідженні циркуляції кандидозної інфекції у хворих відділень багатопрофільного стаціонару встановлено, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* упродовж періоду спостереження виділялися в $6,4 \pm 0,3\%$ випадках дослідження різного клінічного матеріалу (мазки з ротоглотки, носа, вуха, жовч, сеча, виділення з ран, уrogenітальні виділення, біоптати та ін.) і являли собою серйозну клініко-мікробіологічну проблему. Причому в 2008 р. їх частота складала $5,9 \pm 0,5\%$, в 2009р. – $7,7 \pm 0,5\%$, в 2010 – $5,0 \pm 0,4\%$, в 2011 – $5,8 \pm 0,4\%$, в 2012 – $6,5 \pm 0,4\%$, в 2013 – $7,1 \pm 0,4\%$, в 2014 і 2015 – $6,5 \pm 0,7\%$ та $6,9 \pm 1,3\%$ відповідно.

Найбільший відсоток висівання грибів роду *Candida* був при дослідженні мазків із зіву – $17,2\% \pm 1,7\%$, жовчі – $15,6 \pm 2,3\%$, із вмісту гайморової пазухи в $12,7 \pm 3,0\%$. Оскільки дріжджоподібні гриби роду

Candida найбільш часто виділялися при дослідженні зіву, мигдаликів, саме цей матеріал становить найбільшу небезпеку ендogenous поширення кандидозної інфекції.

При дослідженні мокротиння, частота виділення грибів роду *Candida* склала 8,3% , при цьому із 601 випадків виділення лише в 154 (25,6%) в монокультурі. В інших випадках гриби виділяли в асоціації з бактеріальною флорою. Із крові гриби роду *Candida* були встановлені в 73 випадках, що склало 1,1% від загальної кількості гемокультур.

Проведено дослідження видового складу мікроорганізмів із клінічного матеріалу хворих відділення реанімації (ВРІТ) у період 2013-2015 рр. Встановлено, що роль грибів роду *Candida* у розвитку ВЛІ залишається незмінно високою, зумовлюючи 12,6% всіх інфікувань в структурі збудників ВЛІ. На частку грамнегативних бактерій припадало 47% всіх уражень, грампозитивних – 39%. Найбільш часто дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляли у крові, сечі і мокротинні, причому в монокультурі виділено тільки у 37,9% випадків. Отже, гриби *Candida* spp., поряд із іншими мікроорганізмами, є основними збудниками ВЛІ.

Встановлено видовий склад грибів роду *Candida*, які циркулюють у стаціонарі. Видовий склад грибів роду *Candida*, виділених із різного біологічного матеріалу (2010-2015 рр.) від хворих, що перебували у відділенні ВРІТ, був представлений 10 видами грибів роду *Candida*. Аналізуючи видовий склад грибів роду *Candida*, виділених із крові хворих, що перебувають у відділенні ВРІТ, виявлено 7 видів грибів роду *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. lusitaniae* і *C. krusei*. Причому частка *C. albicans* склала лише 52%, виділення *C. tropicalis* було в межах 17%. При вивченні видового складу грибів, виділених з мокротиння, увагу привертає значна частка *C. albicans* – 87%. Штами видів *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. sake* і *C. krusei* виділяли тільки із мокротиння хворих ВРІТ.

Отримані дані засвідчили: виділення грибів роду *Candida* є

діагностично значущим; основним контингентом ризику розвитку кандидозної інфекції є пацієнти ВРІТ, і встановлено, що зсув у структурі ВЛІ відбувається за рахунок *C. non-albicans*. Отже, своєчасне виявлення хворих – джерела кандидозної інфекції, – це перше вагоме попередження поширення такої хвороби.

Проведена гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару. У процесі дослідження контамінації дріжджоподібними грибами роду *Candida* лікарняного середовища ВРІТ встановлено, що рівень забруднення перебував на позначці $10,7 \pm 2,5\%$ для змивів з об'єктів навколишнього середовища та $16,7 \pm 4,7\%$ для повітря. Частка грибів роду *Candida* у змивах, отриманих з об'єктів внутрішньолікарняного середовища у відділенні реанімації, склала $10,7 \pm 2,5\%$. Висока питома частка припадала на епідемічно значущі об'єкти: руки медичного персоналу – $13,3 \pm 6,2\%$ та апарат штучної вентиляції легень – $5,0 \pm 4,6\%$.

Етіологічна структура збудників, які колонізували судинні катетери, представлена грамположитивними штамами бактерій у 50 (50,0%) випадках, грамнегативними бактеріями – у 40 (37,7%) випадках. У 13 (12,3%) – катетерасоційована інфекція була зумовлена грибами роду *Candida*. Частка *Candida* spp. при колонізації уретральних катетерів була вагомою – 11,5% та суттєво не відрізнялась від такої при колонізації внутрішньовенних катетерів.

Проведена оцінка патогенного потенціалу виділених штамів грибів роду *Candida* шляхом визначенням їх біологічних властивостей, зокрема: рівня чутливості до антімікотиків, здатності до адгезії та здатності формувати біоплівку – для прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Аналіз рівнів чутливості до антімікотиків показав, що резистентність усіх збудників ІК склала: 30% до флуконазолу, 18% до вориконазолу та 15% до амфотерицину, при цьому штами *C. albicans* виявляли майже однакову чутливість до флуконазолу, вориконазолу та амфотерицину – $84,2 \pm 5,9\%$, $92,1 \pm 4,4\%$ і $92,1 \pm 4,4\%$ відповідно ($t=1,08$, $p>0,05$). Порівняння чутливості

штамів видів *C. albicans* і *C. non-albicans* показало, що загалом штами *non-albicans* були менш чутливими до флуконазолу ($18,8 \pm 5,4\%$ чутливих штамів), ніж *C. albicans* ($t=8,3$, $p<0,001$). До вориконазолу було менше чутливих штамів *C. non-albicans* – $72,0 \pm 6,3\%$, ніж *C. albicans* ($t=2,6$, $p<0,01$). До амфотерицину було достовірно менше чутливих штамів *C. non-albicans* – $76,0 \pm 6,0\%$ ($t=2,2$, $p<0,05$).

Результати вивчення адгезивної активності виділених штамів *Candida* spp. свідчать, що домінували штами з більш вираженими патогенними (адгезивними) властивостями – на частку високоадгезивних штамів припадало $30,3\%$, середньоадгезивних – $33,3\%$ усіх проаналізованих штамів. При аналізі розподілу штамів із різними адгезивними властивостями, було добре помітно, що частка високоадгезивних штамів серед представників *C. non-albicans* достовірно перевищувала таку серед представників *C. albicans* (у 3 рази), а отже, представники *C. non-albicans* були значно агресивнішими, порівняно із *C. albicans*, що викликає особливе занепокоєння на фоні поступового підвищення значущості видів *non-albicans* у провокуванні нозокоміальних інфекцій. Характерно, що виключно високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виявлені в сечі та крові, тоді як у мазках із зіву та харкотинні виявляли і неадгезивні, і низькоадгезивні штами.

Досліджені штами грибів, виділені з різного біологічного матеріалу, розрізнялись за здатністю утворювати біоплівку. Найменшою здатністю утворювати біоплівку характеризувались штами, виділені із зіву, найбільшою – штами, виділені із сечі, але без достовірної різниці за цими показниками. Групи штамів з однотипного біологічного матеріалу за цим показником між собою не відрізнялись. При встановленні співвідношення між здатністю до адгезії та спроможністю формувати біоплівку можна визначити, що штами з високим ступенем адгезивності формували більш кількісну біоплівку, ніж штами з середньою та низькою адгезивністю.

Традиційне використання для первинного посіву середовища Сабуро,

що містить глюкозу і пептони, часто призводить до хибно-негативних результатів, що однозначно погіршує якість від терапевтичних процедур, призначених лікарем. Тому проведено удосконалення шляхів індикації кандидозної інфекції. Встановлено закономірності виділення ізолятів клінічно значущих дріжджів при первинних посівах на середовище Сабуро і модифіковане середовище Сабуро, доповнене дріжджовим екстрактом (ДЕ). На середовищі Сабуро з ДЕ було отримано на $10,8 \pm 0,8\%$ ізолятів дріжджів більше, ніж на класичному середовищі Сабуро та встановлено, що використання модифікованого середовища для первинної індикації грибів роду *Candida* є більш доцільним і може бути загальнорекомендованим.

Отже, внутрішньолікарняні інфекції, спричинені різного роду мікроорганізмами, стали «головним болем» сучасної медицини. При цьому роль грибів роду *Candida* у структурі ВЛІ у ВРІТ залишається маловивченим питанням, хоча моніторинг етіологічних факторів і частоти грибкової інфекції сьогодні не менш актуальним, ніж традиційний моніторинг бактеріальних інфекцій, особливо у ВРІТ.

Ідентифіковані основні джерела грибів роду *Candida* й розроблені протиепідемічні та профілактичні заходи щодо попередження їх розповсюдження, а саме: поряд із проведенням відповідної антимікозної терапії, є обробка ротової порожнини 2% розчином хлоргексидину, максимально швидке видалення катетерів, ретельне очищення шкіри рук медперсоналу, систематична обробка поверхонь тумбочок, апарату ШВЛ, ліжок, кранів дезінфекційними засобами та провітрювання лікарняних палат.

Таким чином, в результаті роботи встановлено видову структуру збудників ВЛІ, частоту індикації та роль грибів роду *Candida* в цій структурі в умовах багатопрофільного стаціонару і ВРІТ. Обґрунтовано роль мікробіологічного моніторингу для заходів профілактики внутрішньолікарняних інфекцій і розроблено конкретні заходи щодо попередження розповсюдження кандидозної інфекції. Встановлено біологічні особливості культивування різних штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*,

розкрито питання їх чутливості до найбільш поширених антимікотичних засобів, удосконалено методику лабораторної ідентифікації. Розкрито етіологічну роль дріжджоподібних грибів роду *Candida* в екзогенних шляхах контамінації та визначено, що зниження рівня контамінації в системі лікарня – пацієнт можливе тільки за умов всебічного і одночасного дотримання правил асептики, фунгітерапії і моніторингу ВЛІ із відповідним реагуванням на зміни в його структурі.

Результати роботи мають теоретичне значення, адже в межах лікувального закладу завдяки моніторингу кандидозної інфекції стали доступними адекватні розрахунки емпіричної фунгітерапії, стали відомими штамові особливості біоплівкоутворення та адгезії, чутливості до антимікотиків. Практична цінність роботи полягає в удосконаленні лабораторної діагностики, зокрема модифікації середовища для виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*, розробці профілактичних заходів протидії ВЛІ, викликаних грибами роду *Candida*.

Ключові слова: гігієнічна оцінка, кандидозна інфекція, внутрішньолікарняне середовище, профілактичні заходи.

SUMMARY

Sobkova Zhanna. Hygienic assessment of the risk of circulation of candidal infection in patients and in the internal environment of a multidisciplinary hospital. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Thesis for a candidate degree in biological sciences by specialty 14.02.01 – "Hygiene and Professional Pathology" (091 – biology) – State Institution "O.M. Marzeiev Institute for Public Health" National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, 2018.

In the process of performing the work for the first time in Ukraine a comprehensive hygienic assessment of the risk of development of intra-hospital infection (IUI) of candidal etiology was given. The risk of circulation of candidiasis infection in patients and in the internal environment of a multidisciplinary hospital is determined on the basis of complex sanitary-hygienic, epidemiological, microbiological research. The expediency of microbiological monitoring and preventive measures for intra-hospital candidiasis infection in a multidisciplinary hospital is generalized and scientifically substantiated.

In the study of the circulation of candidal infection in patients in the departments of a multidisciplinary hospital, it was found that yeast-like fungi of the genus *Candida* during the observation period were excreted in $6,4 \pm 0,3\%$ of cases of study of various clinical material (swabs, nose, ears, bile, urine, excretion from wounds, urogenital secretions, biopsies, etc.) and represent a serious clinical and microbiological problem. Moreover, in 2008 their frequency was $5,9 \pm 0,5\%$, in 2009 it was $7,7 \pm 0,5\%$, in 2010 – $5,0 \pm 0,4\%$, in 2011 – $5,8 \pm 0,4\%$, in 2012 – $6,5 \pm 0,4\%$, in 2013 – $7,1 \pm 0,4\%$, in 2014 and 2015 – $6,5 \pm 0,7\%$ and $6,9 \pm 1,3\%$ respectively.

The highest percentage of fungal sowing of the genus *Candida* was in the study of ointment smears – $17,2\% \pm 1,7\%$, bile – $15,6 \pm 2,3\%$, and the contents of the maxillary sinus – $12,7 \pm 3,0\%$. Since yeast-like fungi of the genus *Candida* were most often isolated in the study of pharynx, tonsils, so this particular material is the greatest danger of endogenous spread of candida infection.

In the study of sputum, the incidence of fungi of the genus *Candida* was 8.3%, with only 154 (25.6%) in monoculture in 601 cases of isolation. In other cases, mushrooms were isolated in association with bacterial flora. From the blood, the *Candida* species were found in 73 cases, which was 1.1% of the total number of hemocultures.

The study of the species composition of microorganisms from the clinical material of patients in the department of resuscitation department (RICD) was conducted in the period from 2013 till 2015. It was established that the role of fungi of the genus *Candida* in the development of IHI remains invariably high, causing 12.6% of all infections in the structure of the causative agents of inflammatory diseases. The share of gram-negative bacteria accounted for 47% of all lesions, gram-positive – 39%. Most often yeast-like fungi of the genus *Candida* were found in blood, urine and sputum, with monoculture isolated in only 37.9% of cases. So *Candida* spp. mushrooms, along with other microorganisms, are the main causative agents of IHI.

The species composition of the mushrooms of the genus *Candida*, which is circulating in the hospital, is established. The species composition of mushrooms of the genus *Candida*, isolated from different biological material (2010–2015 biennium), was presented by 10 species of fungi of the genus *Candida* from the patients who were in the department of RICD. 7 species of fungi of the genus *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. lusitaniae* and *C. krusei*. *C. albicans* were identified by analyzing the species composition of the mushrooms of the genus *Candida* isolated from the blood of patients in the department of RICD. And the proportion of *C. albicans* was only 52%, *C. tropicalis* isolation was within 17%. When studying the species composition of fungi isolated from sputum, attention is drawn to a significant proportion of *C. albicans* – 87%. Strains of kinds *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. sake* and *C. krusei* were isolated from sputum only in patients with RICD.

The obtained data testified: the isolation of the fungi of the genus *Candida* is diagnostically significant; the main contingent of the risk of developing a candidal

infection is patients RICD, and it is established that the shift in the structure of the inflammatory bowel disease occurs at the expense of *C. non-albicans*. Thus, the timely detection of patients – a source of candidiasis infection – is the first significant warning of the spread of such an illness.

Hygienic assessment of the risk of the circulation of candidiasis infection in the internal environment of the multidisciplinary hospital is carried out. In the process of studying the contamination of yeast fungi of the genus *Candida*, the hospital environment RICD found that the level of contamination was at the level of $10.7 \pm 2.5\%$ for washings from the objects of the environment and $16.7 \pm 4.7\%$ for the air. The proportion of fungi of the genus *Candida* in washings obtained from the objects of the intra-hospital environment in the resuscitation unit was $10.7 \pm 2.5\%$. The high specific share accounted for epidemically significant objects: the hands of medical personnel – $13.3 \pm 6.2\%$ and the device for artificial ventilation of lungs – $5.0 \pm 4.6\%$.

The etiological structure of pathogens colonized by vascular catheters is represented by gram-positive strains of bacteria in 50 (50.0%) cases, gram-negative bacteria – in 40 (37.7%) cases. In 13 (12.3%) catheter-associated infections were caused by fungi of the genus *Candida*. The share of *Candida* spp. during the colonization of urethral catheters was significant – 11.5% and did not differ significantly from that in colonization of intravenous catheters.

An estimation of the pathogenic potential of isolated strains of fungi of the genus *Candida* is made by identifying their biological properties, in particular: the level of sensitivity to antimycotics, the ability to adhesion, and the ability to form a biofilm – to predict the development of fungal infection. Antimycotic sensitivity analysis showed that resistance to all infectious agents was 30% to fluconazole, 18% to voriconazole and 15% to amphotericin, while *C. albicans* strains showed almost the same sensitivity to fluconazole, voriconazole and amphotericin – $84.2 \pm 5.9\%$, $92.1 \pm 4.4\%$ and $92.1 \pm 4.4\%$ respectively ($t = 1.08$, $p > 0.05$). A comparison of the susceptibility of strains of *C. albicans* and *C. non-albicans* showed that non-albicans strains were generally less susceptible to fluconazole ($18.8 \pm 5.4\%$ of

susceptible strains) than *C. albicans* ($t = 8.3, p < 0.001$). There were less susceptible strains of *C. non-albicans* to Voriconazole – $72 \pm 6.3\%$ than *C. albicans* ($t = 2.6, p < 0.01$). There were significantly less susceptible strains of *C. non-albicans* to Amphotericin – $76 \pm 6.0\%$ ($t = 2.2, p < 0.05$).

Results of study of adhesive activity of isolated strains of *Candida* spp. suggest that the strains with more pronounced pathogenic (adhesive) properties dominated – the share of high-adhesive strains accounted for 30.3%, medium-adhesive – 33.3% of all analyzed strains. In analyzing the distribution of strains with different adhesive properties, it was clearly seen that the proportion of highly adherent strains among *C. non-albicans* was significantly higher than that among *C. albicans*, and therefore *C. non-albicans* representatives were significantly more aggressive, compared with *C. albicans*, which is of particular concern in the context of the gradual increase in the significance of non-albicans in the provocation of nosocomial infections. Characteristically, only high-adhesion and intermediate adhesion strains were detected in urine and blood, while in serum smears and sputum there were both non-adhesive and low-adhesive strains.

Investigated strains of fungi, isolated from different biological material, differed in ability to form a biofilm. The smallest ability to form a biofilm was characterized by strains isolated from the ovum, the largest – strains isolated from the urine, but without a significant difference in these indicators. Groups of strains of the same type of biological material did not differ between them. When establishing the relationship between the adhesion ability and the ability to form a biofilm, it can be determined that strains with a high degree of adhesion have formed a more quantitative biofilm than medium and low adhesion strains.

Traditional using of the primary culture of Saburo containing glucose and peptones often results in false-negative results, which clearly worsens the quality of the therapeutic procedures prescribed by the physician. Therefore, the ways of indicating candidiasis infection have been improved. The regularities of the isolation of isolates of clinically significant yeasts at primary crops on Saburo and modified Saburo, supplemented with yeast extract (YE), were established. On

Saburo with YE, $10.8 \pm 0.8\%$ of the yeast isolates was obtained more than in the Saburo classical environment and it was found that the use of a modified medium for the primary indication of *Candida* genus fungi is more appropriate and can be recommended.

Consequently, intra-hospital infections, caused by various kinds of microorganisms, became the "headache" of modern medicine. At the same time, the role of fungi of the genus *Candida* in the structure of inflammatory diseases in RICD remains a little-studied issue, although the monitoring of etiological factors and the frequency of fungal infection today is no less relevant than the traditional monitoring of bacterial infections, especially in RICD.

Identify the main sources of fungi of the genus *Candida* and develop anti-epidemic and preventive measures to prevent their spread, namely: along with the appropriate antimycotic therapy, oral cavity is treated with a 2% solution of chlorhexidine, the fastest removal of catheters, thorough skin cleansing of the hands of the medical staff, systematic surface treatment bedside tables, mechanical appliances, beds, cranes with disinfectants and ventilation of hospital chambers.

Thus, as a result of the work, a specific structure of the infectious agents, the incidence and the role of the *Candida* genus fungi in this structure in the conditions of the multidisciplinary hospitalization and RICD was established. The role of microbiological monitoring for preventive measures of intradermal infections has been substantiated, and concrete measures have been developed to prevent the spread of candidiasis infection. The biological features of cultivation of different strains of yeast-like mushrooms of the genus *Candida* are established, the question of their sensitivity to the most common antimycotic agents is revealed, and the method of laboratory identification has been improved. The etiological role of yeast-like fungi of the genus *Candida* in the exogenous paths of contamination is revealed and it is determined that reduction of the level of contamination in the hospital-patient system is possible only under the conditions of full and simultaneous adherence to the rules of aseptic, fundi-therapy and monitoring of the IHI with the corresponding reaction to changes in its structure.

The results of the work have a theoretical value, because within the clinic, due to the monitoring of candida infection, adequate calculations of empirical fungiotherapy have become available, strain characteristics of biofilm formation and adhesion, and sensitivity to antimycotics have become known. The practical value of the work is to improve laboratory diagnostics, in particular, to modify the medium for the selection of yeast-like fungi of the genus *Candida*, to develop preventive measures for the prevention of infections caused by fungi of the genus *Candida*.

Key words: hygienic evaluation, candidiasis infection, intra-hospital environment, preventive measures.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Собкова Ж.В., Коломієць В.Б., Савицький О.Ф., Росада М.О., Сурмашева О.В. Циркуляція грибів роду *Candida* у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару // Вісник проблем біології та медицини. 2017. №2. С. 136-139.
2. Собкова Ж.В., Францішко А.А., Філоненко Г.В., Росада М.О., Міхієнкова А.І. Розробка та використання модифікованого середовища Сабуро для виділення штамів *Candida* з біологічного матеріалу від хворих // Вісник Вінницького національного медичного університету. 2017. №1. Ч 2, (Т.21). С. 323-326.
3. Собкова Ж.В., Сурмашева Е.В., Никонова Н.А. Кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре – современные проблемы // Довкілля та здоров'я. 2014. №3. С. 55-59.
4. Собкова Ж.В., Покас О.В. Видовой состав и чувствительность к антимикотикам *Candida* spp., выделенных у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии // Медицинские новости. 2014. № 8(239). С.79-82.
5. Собкова Ж.В., Філоненко Г. В., Сурмашева О. В., Росада М. О. Вивчення видового складу мікроорганізмів в біоплівках на судинах та сечових катетерах у багатопрофільному стаціонарі // Науковий журнал «ScienceRise: Biological Science». 2017. №2(5). С. 38-42.
6. Собкова Ж.В., Покас О.В., Філоненко Г.В. Характеристика біоплівкоутворення і адгезивних властивостей клінічних ізолятів грибів роду *Candida* // Наукові доповіді НУБІП України. 2017. №2(66). Режим доступу : <http://journals.uran.ua/index.php/2223-1609/article/view/104302>
7. Собкова Ж.В., Полищук О.И. Динамика выделения и видовой состав дрожжеподобных грибов рода *Candida*, изолированных от больных многопрофильного стационара // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013. № 2 (8). С.155-158.

8. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. *Candida* spp. как возбудители нозокомиальных инфекций и их роль в биопленкообразовании // Биопленки госпитальных экосистем: состояние проблемы и современные подходы к ее решению. Одесса, 2014. С. 340-376.

9. Собкова Ж.В., Покас О.В., Синетар Е.О. Утворення біоплівок клінічними штамами грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу // Профілактична медицина. 2015. №1-2(24). С. 38-41.

10. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б., Францишко А.А., Латышенко С.В., Костенко И.Г. Изучение микробного пейзажа внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара. Роль дрожжеподобных грибов рода *Candida* // Сучасні аспекти військової медицини : збірник наукових праць. К., 2014. №21. С. 478-487.

11. Трихліб В.І., Ткачук С.І., Костенко И.Г., Латишенко С.В., Собкова Ж. В., Рощенко Л.О., Францишко А.А., Коломієць В.Б. Чинники розвитку ранової інфекції та мікрофлора з інфікованих ран при бойовій травмі // Сучасні аспекти військової медицини : збірник наукових праць. К., 2015. №22. С. 108-119.

12. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть1) // Therapia. 2014. №11-12(93). С. 13-15.

13. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть2) // Therapia. 2014. №1(94). С. 13-16.

14. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть3) // Therapia. 2014. №2(95). С. 24-27.

15. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть4) // Therapia. 2014. №3(96). С. 19-23.

16. Собкова Ж.В., Поліщук О.І., Фастова О.О., Мачерет Я.Ю. Частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу пацієнтів багатoproфільного стаціонару // Клінічна та експериментальна патологія. 2011. №4(38). С.195.

17. Сурмашева Е.В., Михиенкова А.И., Росада М.А., Собкова Ж.В., Горбатенко К.М. Санитарно-гигиеническая оценка микологического состояния воздуха в общественных и жилых помещениях, профилактические мероприятия // Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: Состояние и пути решения проблем : матер. пленума. Москва, 2013. С. 353-355.

18. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломієць В.Б. Етиология кандидозных инфекций в многопрофильном стационаре // Імунологія та алергологія. 2014. Дод. №1. С. 93-94.

19. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В., Рощенко Л.О., Коломієць В.Б. Изучение эпидемиологических факторов инфекций, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida* в условиях многопрофильного стационара // Фармакотерапія інфекційних захворювань : матер. науково-практ. конф. Київ, 2014. С. 56-57.

20. Собкова Ж.В., Марієвський В.Ф., Покас О.В. Чутливість до антимікотиків штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з біологічного матеріалу пацієнтів багатoproфільного стаціонару // Актуальні проблеми внутрішньолікарняних інфекцій: антибіотикорезистентність, дезінфекція та стерилізація : матер. міжнародної науково-практ. конф. К., 2014. С. 57-58.

21. Собкова Ж.В., Сурмашова Е.В., Росада М.О. Внутрибольничная кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі : збірник тез. конф. Одеса, 2014. С. 85-88.

22. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б. Изучение этиологической значимости *Candida* spp. в структуре возбудителей

внутрибольничных инфекций в ОРИТ многопрофильного стационара // XVII Кашкинские чтения : материалы конференции. Санкт-Петербург, 2014. С. 130.

23. Собкова Ж.В., Сурмашева О.В., Ніконова Н.О. Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньо-лікарняної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару. К. : Укрмедпатентінформ, 2017. 4 с. (Інформаційний лист ДУ «ІГЗ ім. О.М. Марзєєва НАМНУ», №103-2017).

ЗМІСТ

	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	20
	ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1	ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
	1.1. Внутрішньолікарняні інфекції та їх профілактика	28
	1.2. Сучасний стан проблеми мікробіологічної діагностики кандидозної інфекції	38
	ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	55
	2.1. Матеріали, використані у дослідженні	55
	2.2. Методи досліджень	58
РОЗДІЛ 3	ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ ЦИРКУЛЯЦІЇ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ХВОРИХ ВІДДІЛЕНЬ ТЕРАПІЇ ТА РЕАНІМАЦІЇ	65
	3.1. Етіологія кандидозних інфекцій в біологічному матеріалі хворих багатопрофільного стаціонару	65
	3.2. Етіологічна вагомість <i>Candida</i> у структурі збудників внутрішньо-лікарняних інфекцій у відділеннях реанімації і інтенсивної терапії	71
	3.3. Видова структура виділених від хворих дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	77
РОЗДІЛ 4	ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ ЦИРКУЛЯЦІЇ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ВНУТРІШНЬОМУ СЕРЕДОВИЩІ БАГАТОПРОФІЛЬНОГО СТАЦІОНАРУ	81
	4.1. Моніторинг внутрішнього середовища стаціонару щодо наявності грибів роду <i>Candida</i>	81
	4.2. Етіологічна вагомість дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i> у структурі збудників катетер-асоційованих інфекцій	88

РОЗДІЛ 5	БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВИДІЛЕНИХ ДРІЖДЖОПОДІБНИХ ГРИБІВ РОДУ <i>CANDIDA</i>	92
	5.1. Чутливість до антимікотиків дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	92
	5.2. Здатність до адгезії дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	97
	5.3. Здатність до формування біоплівки виділених дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	103
РОЗДІЛ 6	УДОСКОНАЛЕННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ	111
	6.1. Біотехнологічне обґрунтування режиму культивування дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	111
	6.2. Вивчення ефективності модифікованого поживного середовища для первинного висіву дріжджоподібних грибів роду <i>Candida</i>	117
РОЗДІЛ 7	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	120
	ВИСНОВКИ	136
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	138
	ДОДАТОК А	157
	ДОДАТОК Б	159
	ДОДАТОК В	161
	ДОДАТОК Г	162
	ДОДАТОК Д	166

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БМ – біологічний матеріал

ВЛІ – внутрішньолікарняні інфекції

ВРІТ – відділення реанімації і інтенсивної терапії

«НВМКЦ» – Національний Военний Медичний Клінічний Центр

ГДК – гострий дисемінований кандидоз

ДЕ – дріжджовий екстракт

ЗОЗ – заклад охорони здоров'я

ІАМ – індекс адгезивності мікроорганізмів

ІК – інвазивний кандидоз

СЕМ – скануюча електронна мікроскопія

УГВ – урогентільні виділення

Сабуро+ДЕ – середовище Сабуро із додаванням дріжджового екстракту

ВСТУП

Актуальність теми. Інвазивні внутрішньолікарняні *Candida*-інфекції – важлива проблема сучасної охорони здоров'я [11, 17, 53, 164]. Останнє десятиріччя характеризується неухильним зростанням числа мікотичних уражень людини, кількість випадків грибкових інфекцій зросла більш ніж в 5 разів [6].

Дріжджові і плісняві гриби входять до числа десяти найчастіших патогенів, що виявляються в клініках, а у відділеннях інтенсивної терапії посідають четверте-п'яте місце в етіологічній структурі гнійно-запальних уражень, складаючи 17,1% [84, 85].

Найчастішою клінічною формою системних грибкових інфекцій є інвазивний кандидоз, який обумовлений проникненням грибів роду *Candida* в тканини макроорганізму і розвитком системного кандидозу із ураженням вісцеральних органів [8]. Інвазивний кандидоз посідає третє-четверте місце серед причин сепсису у відділеннях реанімації і інтенсивної терапії [22], тобто є поширеною нозокоміальною інфекцією у пацієнтів ВРІТ, що характеризується високою летальністю [4, 10, 69].

Частота кандидемії становить 6,9 випадків на 1000 всіх госпіталізацій. Частота випадків внутрішньолікарняної кандидемії найвища серед пацієнтів хірургічних відділень і ВРІТ і складає від 25% до 50% [163]. Загальна летальність при кандидемії і гострому дисименованому кандидозі складає 20-80% [85].

Збудниками мікозів людини є різні дріжджоподобні (*Candida* spp., *Cryptococcus* spp.) й плісняві (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp.) гриби. У хірургічних хворих і тих, що знаходяться в критичних станах, основну етіологічну значущість мають представники роду *Candida* – 85,6% за даними національного комітету з контролю за внутрішньолікарняними інфекціями США [111]. Своєчасний діагноз системного кандидозу

представляє значні труднощі, оскільки клінічна симптоматика неспецифічна. У зв'язку з цим вирішального значення набувають лабораторні методи дослідження – мікроскопічні, культуральні, молекулярні.

Більше 20 різних видів грибів роду *Candida* можуть виступати як етіологічні агенти інвазивного кандидозу у людини. Не дивлячись на те, що більше 90% інвазивних кандидозів пов'язано з п'ятьма основними видами – *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* і *C. krusei*, перелік можливих збудників продовжує зростати у міру накопичення досвіду лабораторіями в ідентифікації збудників, що, безумовно, важливо для оптимізації терапії кандидозних інфекцій [8, 9].

В останні роки має місце тенденція до зсуву спектра збудників ІК в бік *non-allbicans* видів *Candida*, для яких характерна знижена чутливість до антимікотиків [114, 82, 149].

У відділеннях інтенсивної терапії частота виявлення *C. albicans* становить 48-63%, у амбулаторних хворих близько 46%. Смертельні випадки частіше спостерігаються при інфекціях, викликаних *C. glabrata* (45%), *C. tropicalis* (35%), *C. krusei* (30%) [178].

У більшості ситуацій проведення видової ідентифікації разом з локальними даними з чутливості збудників до антимікотичних препаратів є достатнім для вибору початкової протигрибкової терапії [162, 165]. Цілеспрямоване визначення чутливості може бути необхідне для оптимізації терапії при недостатній клінічній відповіді. Слід зазначити, що в Україні практично відсутні локальні дані щодо видового складу збудників та рівнів їх стійкості до протигрибкових препаратів, що й обумовлює необхідність моніторингу збудників кандидозу і рівня резистентності виділених клінічних штамів дріжджоподібних грибів.

Водночас, налагодження та здійснення подібного моніторингу потребує удосконалення лабораторної діагностики кандидозної інфекції. Зокрема, це стосується поліпшення виділення грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу, оскільки багато видів клінічно значимих грибів

потребують вітамінних добавок, а використання для первинного посіву традиційного середовища Сабуро, що містить глюкозу і пептон, часто приводить до помилково-негативних результатів.

Крім того, потребує подальшого вивчення патогенність штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, яка не може бути оцінена лише по одному з критеріїв, наприклад, за рівнем чутливості до антимікотиків. Визначення адгезивних властивостей може виявитися досить надійним і зручним інструментом для оцінки патогенного потенціалу штамів і прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Повсякденна практика у ВРІТ передбачає численні інвазивні втручання, пов'язані з порушенням цілісності шкірних і слизових покривів. До найбільш поширених втручань відносять установку внутрішньосудинних і уретральних катетерів. Використання центральних венозних катетерів пов'язано з ризиком розвитку інфекційних ускладнень: 28% катетер-асоційованих інфекцій відносять до сепсису, 24% - до важкого сепсису, 30% – до септичного шоку [160]. У США катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів реєструють у 449 334 пацієнтів на рік [127, 143].

Колонізація мікроорганізмами судинних і уретральних катетерів, а також утворення ними стійких біоплівки, представляє особливу небезпеку для пацієнтів, що знаходяться у ВРІТ [37]. Мікроорганізми у складі біоплівки відносно ізольовані від зовнішнього середовища, і проявляють резистентність до антимікробних агентів і факторів імунітету [153]. У зв'язку з цим є актуальним мікологічне дослідження судинних і уретральних катетерів а також вивчення здатності формування біоплівки дріжджоподібними грибами роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу.

Внутрішньолікарняне інфікування пацієнтів ВРІТ грибами може бути як ендогенним (мікробіота самого хворого), так і екзогенним (зараження від інших пацієнтів, персоналу, через медичне обладнання, предмети догляду, повітря). Для реалізації механізмів екзогенного інфікування особливу

значимість має рівень та інтенсивність контамінації лікарняного середовища.

При підвищеному рівні мікотичного забруднення приміщень, в яких перебувають пацієнти з імунною недостатністю, ризик виникнення захворювань, в тому числі ІК, багаторазово зростає. При цьому слід враховувати, що існують епідемічні біотики грибів роду *Candida*, які можуть викликати епідемічні спалахи грибкових інфекцій [112]. Між тим, забрудненість дріжджоподібними грибами повітря і змивів з об'єктів зовнішнього середовища в медичних установах залишається мало вивченою.

Враховуючи труднощі ранньої діагностики генералізованого кандидозу, неспецифічний характер клінічних проявів, важливо визначення груп хворих з високим ризиком виникнення системного кандидозу, що дозволяє не лише забезпечити вищий і цілеспрямований рівень клініко-лабораторного моніторингу, але й забезпечувати раціональне призначення етіотропних засобів. Не розроблені профілактичні заходи щодо внутрішньолікарняної кандидозної інфекції.

Все вище викладене засвідчує актуальність моніторингу внутрішньолікарняної кандидозної інфекції у багатопрофільному стаціонарі, удосконалення лабораторної діагностики даних мікопатогенів. Отримані відомості дозволять розробити рекомендації щодо ефективних заходів попередження цієї нокомізальної інфекції у хворих стаціонарів хірургічного та реаніматологічного профілю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертацію виконано в Державній установі «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України» в межах науково-дослідної роботи: «Обґрунтування принципів і критеріїв гігієнічної оцінки засобів нормалізації внутрішнього середовища житла» 2015-2017 рр. № держреєстрації 0115U000649.

Мета і завдання дослідження. Гігієнічна оцінка небезпеки циркуляції кандидозної інфекції у хворих та у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару.

Відповідно до мети були поставлені такі завдання:

1. Визначити частоту виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу хворих різного профілю, які перебувають на стаціонарному лікуванні.

2. Провести моніторинг внутрішнього середовища (медичне обладнання, руки медичного персоналу, поверхні, повітря та ін.) стаціонару щодо наявності грибів роду *Candida*.

3. Вивчити етіологічну вагомість дріжджоподібних грибів роду *Candida* у структурі збудників внутрішньолікарняних інфекцій у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ) і їх біологічні властивості.

4. Удосконалити умови індикації дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

5. Дослідити шляхи поширення кандидозної інфекції у хворих стаціонарів хірургічного та реаніматологічного профілю; надати рекомендації щодо заходів їх попередження.

Об'єкт дослідження – моніторинг та профілактичні заходи щодо госпітальної інфекції кандидозної етіології.

Предмет дослідження – біологічний матеріал від хворих, внутрішнє середовище лікарень, штами мікроорганізмів.

Методи дослідження: гігієнічні; епідеміологічні; мікробіологічні; мікологічні, спектрофотометричні, скануюча електронна мікроскопія, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У процесі виконання роботи вперше в Україні дано всебічну гігієнічну оцінку ризику розвитку внутрішньолікарняної інфекції кандидозної етіології в умовах багатопрофільного стаціонару.

Встановлено видовий склад грибів роду *Candida*, які циркулюють у стаціонарі. Проведена оцінка патогенного потенціалу виділених штамів грибів роду *Candida* шляхом визначенням їх біологічних властивостей, зокрема: рівня чутливості до антімікотиків, здатності до адгезії та здатності

формувані біоплівку – для прогнозування розвитку грибкової інфекції.

Визначено найбільш небезпечні об'єкти ризику інфікування та заходи профілактики. Показано, що у внутрішньолікарняному середовищі реанімаційних відділень об'єктами ризику інфікування є руки медперсоналу, апарати штучної вентиляції легень, внутрішньовенні та сечові катетери, повітря, поверхні, біологічний матеріал від хворих. Розроблено алгоритм профілактичних заходів у відділеннях інтенсивної терапії та реанімації.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами досліджень складено інформаційний лист № 103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару». Інформаційний лист впроваджено у навчальний процес при підготовці і викладанні курсу лекцій та проведенні практичних занять на кафедрі гігієни та екології № 3 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця – акт впровадження від 19.12.2017 р., на кафедрі мікробіології і епідеміології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика – акт впровадження від 15.02.2018 р., на кафедрі військово-профілактичної медицини Української військово-медичної академії – акт впровадження від 19.02.2018 р.

Удосконалено поживне середовище для індикації грибів роду *Candida*.

Авторські пропозиції та інформаційний лист впроваджено у практику роботи та використовуються в лікувальному процесі ВРІТ Національного військового медичного клінічного центру «ГВКГ» – МО України (м. Київ).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційне дослідження є самостійною роботою автора. Автором проаналізовані зарубіжна та вітчизняна література з теми дослідження. Проведено дослідження з удосконалення складу поживного середовища для збільшення частоти виділення та покращення ідентифікації дріжджоподібних грибів роду *Candida*; визначено видовий склад та чутливість до антимікотиків виділених дріжджоподібних грибів роду *Candida*; здійснено моніторинг внутрішньолікарняної кандидозної

інфекції в багатoproфільному стаціонарі; проведено аналіз одержаних результатів, сформульовано основні положення і висновки. Автор висловлює подяку за консультативну допомогу у статистичній обробці результатів д.б.н., професору М.Ю.Антомонову. Особистий внесок здобувача становить понад 75%.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися в матеріалах пленуму “Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: Состояние и пути решения проблем” (Москва, 2013 р.), на науково-практичній конференції “Фармакотерапія інфекційних захворювань” (Київ, 2014 р), міжнародній науково-практичній конференції “Актуальні проблеми внутрішньолікарняних інфекцій: резистентність мікроорганізмів до антимікробних препаратів, дезінфекція та стерилізація” (Київ, 2014 р.), науково-практичній конференції з медичної мікології (XVII Кашкинські читання, Санкт-Петербург, 2014 р.), II науково-практичному семінарі «Прикладні аспекти в мікробіологічній лабораторній практиці»(Київ, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, з них 4 – у зарубіжних виданнях або наукових періодичних фахових виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз, 2 – у наукових періодичних фахових виданнях України, 17 – в інших наукових виданнях: 9 статей та 8 тез.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках друкованого тексту і має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 4 розділи власних експериментальних досліджень, аналіз та обговорення отриманих результатів, висновки, список використаних джерел, що містить 183 посилання (з яких 102 іноземними мовами). Роботу проілюстровано 21 таблицею та 36 рисунками.

РОЗДІЛ I

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Внутрішньолікарняні інфекції та їх профілактика

Поширення грибів роду Candida в умовах стаціонару. Незважаючи на значні в останні роки досягнення медичної науки внутрішньолікарняні інфекції залишаються актуальною проблемою охорони здоров'я усіх країн світу. Поширення лікарняних штамів, насамперед стафілококів, псевдомонад, ентеробактерий і, останнім часом, дріжджоподібних грибів роду *Candida* [29], обумовлено рядом особливостей останніх, що не може не відобразитися на епідеміології внутрішньолікарняних інфекцій. Факторами, що можуть стати передумовою перевищення епідеміологічного порогу, є і розповсюдження спор у середовищі хоспісу, і контамінація медичних приладів біоплівками мікроорганізмів, і тривала персистенція в навколишньому просторі умовно-патогенних збудників, і різноманітні механізми стійкості до антимікробних препаратів [49, 90]. Також негативним фактором є скупчення в стаціонарах імунокомпроментованих хворих через основний діагноз. Все це дозволяє мікроорганізмам швидко адаптуватися, виживати і навіть отримувати селективні переваги в лікарняному середовищі. Як наслідок – зростання частоти внутрішньолікарняних інфекцій.

Гриби роду *Candida* належать до умовно-патогенних мікроорганізмів з високим рівнем носійства, та з вираженою тенденцією до збільшення: якщо в 20-ті роки на слизовій ротової порожнини їх виявляли в 10%, то в 60-70-ті роки – 46-52%. Виділення грибів роду *Candida* з будь-якої анатомічної області є фактором ризику, проте в даний час недостатньо даних, що дозволяють прогнозувати значення конкретного ізоляту у ймовірності інфікування [18, 148].

За минулі два десятиліття гриби роду *Candida* із рангу доволі рідко

зустрічаних патогенів стали одними з основних опортуністичних мікроорганізмів, здатних викликати внутрішньолікарняні інфекції. Фактично, гриби *Candida* знаходяться на четвертому місці за частотою серед мікроорганізмів, що виділяються з крові, є збудником приблизно 15% всіх внутрішньогоспітальних інфекцій, більш ніж 72% всіх внутрішньогоспітальних мікозів і 8-15% всіх внутрішньолікарняних інфекцій кровотоку [36, 42, 111].

За даними Національного комітету США з контролю над внутрішньолікарняними інфекціями, частота кандидемії в лікувальних установах США протягом останніх двох десятиліть зросла в 5 разів [94, 161]. Встановлено, що кандидемія і ГДК найбільш часто розвиваються у хворих у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії [173]. Багатоцентрові дослідження в ряді європейських держав свідчать про те, що у хворих ВРІТ *Candida spp.* знаходяться на п'ятому місці серед збудників інфекційних ускладнень [176]. За даними міжнародних досліджень, у хворих в ВРІТ *Candida spp.* знаходяться на третьому-четвертому місці серед збудників бактеріємій і фунгемій і складають 9-17% всіх позитивних посівів крові [86]. Частота кандидемії становить 0,2-0,38 випадків на 1000 госпіталізацій і 3-4,4 випадків на 100 000 пацієнто-днів [124, 173].

Кандидозні нозокоміальні інфекції не тільки подовжують терміни перебування хворих у клінічних закладах в середньому на 30 діб і підвищують вартість їх лікування, ці інфекції зумовлюють високу смертність (при кандидемії вона знаходиться в межах 25-60%, а з приєднанням ендодфальміту досягає 80%) [94, 97].

За даними *Vincent J. L. et al.*, розвиток кандидемії і ГДК супроводжується підвищенням ймовірності летального результату майже в два рази [176]. Загальна летальність при кандидемії і ГДК становить 20-80% [87], при цьому атрибутивна летальність (тобто пов'язана тільки з кандидемією і ГДК) – 33-38% [95, 180].

Таксономія і видове різноманіття грибів роду Candida. Рід Candida

включає близько 150 видів грибів, які відносять до дейтеромицетів у зв'язку з повною відсутністю статевої стадії розвитку [171]. Більше 20 різних видів грибів роду *Candida* можуть виступати в якості етіологічних агентів інвазивного кандидозу у людини. Деякі (сім) з цих видів (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. (torulopsis) glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*) визнані з медичної точки зору найбільш важливими хвороботворними мікроорганізмами [99, 115, 160].

Протягом останніх десятиліть спостерігається зміни у видовому розмаїтті грибів роду *Candida*. Незважаючи на те, що *C. albicans* залишається найбільш частим збудником як системних, так і поверхневих кандидозів, *non-albicans* штами роду *Candida* стають все більш частою причиною інвазивного кандидозу та перелік можливих збудників продовжує зростати в міру накопичення досвіду лабораторіями в ідентифікації збудників, що, безумовно, важливо для оптимізації терапії кандидозних інфекцій [128,138].

Починаючи з 90-х років минулого сторіччя існує тенденція до зниження частоти виділення *C. albicans* з 80-90% (70-80-і роки) до 40-60% в наш час. Все частіше виділяють *Candida non-albicans*: *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. kefir*, *C. parapsilosis* та ін., що пов'язують з антифунгальною профілактикою азольними препаратами. Так, сьогодні частота інфекцій, викликаних *C. glabrata*, становить 5-35%, *C. tropicalis* – 8-43%. Висока частота виділення *C. non-albicans* реєструється у відділеннях інтенсивної терапії, де частота виділення *C. albicans* становить тільки 48-63% [33], серед амбулаторних хворих – близько 46% [137, 145].

Чутливість грибів роду Candida до антимікотичних препаратів.

Ідентифікація в біологічних рідинах грибів роду *Candida* вимагає проведення адекватного медикаментозного втручання, що слугує одним із механізмів запобігання розповсюдження інфекції. Лікування кандидозної інфекції може суттєво відрізнитися в залежності від її анатомічної локалізації, основного захворювання та імунного статусу пацієнта, факторів ризику, видів грибів роду *Candida*, відповідальних за розвиток інфекції, і, в деяких випадках, їх

чутливості до протигрибкових препаратів.

Слід зазначити, що чутливість грибів *Candida* spp. до існуючих антимікотиків частково передбачувана на основі видової ідентифікації. На підставі багаторічної роботи з полієновими (амфотерицин В) і азоловими (флуконазол, вориконазол) сполуками зроблено висновок про те, що *Candida* spp. залишаються, в основному, чутливими до них. Це повністю відноситься до видів *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*. *C. glabrata* і *C. krusei* більш стійкі, ніж перші три види. Проміжну позицію займає *C. lusitaniae* відносно амфотерицину В – є штами чутливі та резистентні до цього антибіотика [134, 182]. Збільшення частоти виділення видів *C. non-albicans* з властивою їм зниженою чутливістю до азолів створює певні терапевтичні проблеми.

Таким чином, для вибору початкової антимікотичної терапії достатньо проведення видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними про чутливості збудників до антимікотиків. Це особливо важливо для грибів роду *Candida* в порівнянні з іншими представниками грибкових патогенів [13]. Це пов'язано не тільки з тим, що визначення чутливості грибів є відносно витратною методикою, але і досить прогнозованим рівнем чутливості до існуючих препаратів. Цілеспрямоване визначення чутливості може бути необхідним для оптимізації терапії при недостатній клінічній відповіді.

В даний час проведена велика кількість локальних і міжнародних досліджень, метою яких було визначення чутливості виділених патогенів до існуючих антимікотиків. Проте, лише невелика частина з них була сфокусована саме на пацієнтах ВРІТ. У ретроспективному дослідженні, проведеному в Греції, проаналізований видовий склад і чутливість штамів грибів роду *Candida*, виділених у пацієнтів з кандидемією в ВРІТ з 1997 по 2007 рр. Крім резистентних до флуконазолу штамів *C. glabrata* і *C. krusei*, тільки 4 з 18 штамів *C. parapsilosis* були резистентні до флуконазолу (МПК 32 мг/мл). Резистентність до вориконазолу було відзначено у 8 з 19 штамів *C. krusei* і 2 з 10 штамів *C. tropicalis* [134].

В дослідженні, проведеному у Франції, яке було спрямоване на вивчення збудників ІК в ВРІТ, 17,1% виділених штамів *Candida* spp. були резистентні до флуконазолу [116]. Наймасштабнішим дослідженням рівнів чутливості дріжджоподібних грибів до азолових антимікотиків було мультивекторне дослідження ARTEMIS Disk (з 2003 по 2007 pp.). За отриманими даними, в цілому, виявлено 89% чутливих штамів *Candida* spp. Показники резистентності до флуконазолу штамів грибів, виділених у ВРІТ хірургічного профілю, були відносно вищі, у порівнянні з виділеними від інших категорій пацієнтів і склали 23,7%, в той час як в ВРІТ терапевтичного профілю цей показник був на рівні 10%. Рівень резистентності до вориконазолу в ВРІТ хірургічного профілю становив 18,9% [176].

Мікробні асоціації грибів роду Candida. Гриби роду *Candida* можуть модифікувати як перебіг захворювання, так і терапевтичну відповідь у зв'язку із тим, що вони здатні виступати учасниками мікробних асоціацій при захворюваннях, викликаних бактеріями і деякими іншими мікроорганізмами. У літературі є відомості про те, що в їх присутності закономірно простежуються певні особливості перебігу бактеріальних інфекцій при захворюваннях зіва, дихальних шляхів, шлунково-кишкового і сечостатевого тракту. Автори відзначають, що синергічний вплив грибів на перебіг змішаної інфекції, відбувається накладенням кандидозної інфекції на захворювання, викликані іншими мікробами [159]. Ці змішані інфекції протікають важче і триваліше, а характерна клінічна картина переходить у стерту, завуальовану, оскільки накладення дії патогенних факторів кожного збудника один на одного, нівелює симптоми ураження, викликані окремими збудниками, створює «сумарне» враження про клінічну картину хвороби і утрудняє її діагностику, а також лікування [151, 118]. Однією з причин, що пояснюють синергічний вплив грибів роду *Candida* при інфекційних захворюваннях, слід вважати порушення цілісності епітеліального покриву слизових оболонок, що відбувається в результаті проникнення елементів гриба в тканини. Це створює умови для проникнення збудника, оминаючи

бар'єр, яким є неушкоджена слизова для більшості мікробів. Пошкоджені слизові також є більш зручним місцем для розмноження багатьох видів мікробів – збудників хворіб [106].

Порушення рівноваги в мікробних асоціаціях при таких умовах призводить до дисфункцій нормальної мікрофлори, порушення синтезу вітамінів і інших фізіологічних процесів, притаманних цим мікроорганізмам. Сформований дисбактеріоз стає проломом в системі неспецифічного захисту макроорганізму, а це ще більше сприяє розмноженню патогенних мікробів [151]. Вплив грибів роду *Candida* на перебіг бактеріальних інфекцій може проявлятися і зовсім в іншому плані – за рахунок посилення інтенсивності ураження і більш яскравого прояву ознак, типових для даної бактеріальної інфекції. Причиною обтяжливого впливу на перебіг бактеріальної інфекції є посилення вірулентності збудника, що виникло в присутності грибів *C. albicans* під впливом змінених умов існування мікробної асоціації [94, 123]. Так при спільній інкубації *C. albicans* і *K. pneumoniae* відзначали деякі морфологічні зміни в порівнянні з клітинами *C. albicans*, вирощеними в монокультурі. Спостерігали активне формування трубок, проростання і псевдогіфи, активнішим був поділ клітин *C. albicans*. Крім того, утворювалися бактеріально-грибкові конгломерати, за рахунок адгезії клітин *K. pneumoniae* та формування трубки і проростання у клітин *C. albicans*, причому відзначали активний розподіл бактеріальних клітин у конгломератах. При порівнянні адгезивної активності у грибів *C. albicans*, після їх спільної інкубації з бактеріями *K. pneumoniae* і за їх відсутності, спостерігали підвищення рівня адгезії в 1,5-2 рази. Таким чином, в умовах взаємодії *C. albicans* і *K. pneumoniae* виявили посилення вірулентних властивостей *C. albicans*, що свідчить про виражений синергізм [154]. Крім того, можна вважати, що гриби, викликавши мікотичну сенсibiliзацію організму, створили сприятливий фон для розвитку бактеріальної інфекції [176].

Посилення вірулентності бактерій при спільному культивуванні, або

перебуванні в живому організмі, вперше доведене для дифтерійних бактерій, тепер підтверджено і для стафілококів [123]. Встановлено, зокрема, що в присутності грибів стафілококи інтенсивніше продукують ентеротоксин. Стимуляція росту і розмноження мікробів-асоціантів може бути взаємною, двосторонньою. У літературі є вказівки і можливість стимулюючого впливу бактерій на ріст грибів роду *Candida* в організмі людини [156]. Загибель мікробів, що настає внаслідок антибіотикотерапії, активує їх біологічні процеси: засвоєння поживних речовин, розмноження, вірулентність [169].

Таким чином, взаємні впливи грибів роду *Candida* і бактерій різноманітні і ще недостатньо вивчені. Відносини між ними можуть бути антагоністичними і синергідними, а чинники та умови, що впливають на характер цих відносин, різноманітні.

Групи ризику розвитку кандидемії. У обширному проспективному дослідженні, координованому Європейською Конфедерацією медичної мікології, проведеному в семи країнах Європи, була проведена оцінка кандидемії і позначені основні причини розвитку цієї патології (табл. 1.1) [173]. Було встановлено, що для деяких пацієнтів на початку лікування таких причин було більше, ніж одна [116, 136, 182].

Таблиця 1.1

Основні причини розвитку кандидемії

Причини	Кількість пацієнтів	Відсоток пацієнтів
Хірургічні втручання	933	44,7
Перебування в ВРІТ	839	40,2
Солідні пухлини	471	22,5
Гематологічні новоутворення	257	12,3
Передчасні пологи	125	6
Трансплантація органа	74	3,5
ВІЛ - інфекція	63	3
Опіки	29	1,4

До груп факторів, які можуть бути причиною дисемінованих мікотичних інфекцій належать [125]:

- 1) використання антибактеріальних препаратів широкого спектру дії

упродовж 7 або більше днів, або призначення трьох і більше бактерицидних препаратів;

- 2) цукровий діабет;
- 3) застосування стероїдних гормонів;
- 4) гостра ниркова недостатність;
- 5) рак та інші пухлини;
- 6) великі опіки II і III ступеня;
- 7) множинні травми внутрішніх органів та важкі ушкодження голови;
- 8) внутрішньосудинні катетери;
- 9) перитонеальний діаліз;
- 10) нейтропенія в крові;
- 11) вік старше 40 років.

Ризик розвитку кандидемії оцінюють високим, якщо діє три і більше факторів; ризик оцінюють невисоким, коли діють менше трьох факторів [107].

Основні заходи профілактики внутрішньолікарняних інфекцій. Згідно визначення Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) лікарняною інфекцією (нозокоміальною) вважається інфекція, прояви якої настали не менше, ніж через дві доби після перебування в медичному закладі, але не в момент надходження. Враховуючи, що основними шляхами передачі ВЛІ виступають водно-аліментарні, посттравматичні, контактнo-інструментальні, повітряно-крапельні (аерозольні), контактнo-побутові, тощо, то основні профілактичні заходи спрямовані, в першу чергу, на усунення можливості здійснення передачі інфекцій відповідними способами.

У профілактиці інфекцій також слід пам'ятати, що розповсюджувачами ВЛІ є: пацієнти, медперсонал, відвідувачі стаціонару. Основними факторами ризику виникнення інфекцій і хірургічних відділеннях є: часте використання інвазивних процедур, проведення тривалих операцій, існування централізованого операційного відділення, тривало лежачі важкохворі.

Враховуючи всі нюанси розповсюдження ВЛІ, для попередження цього

процесу розроблена ціла система заходів.

Так, відповідальним за організацію протиепідемічних і профілактичних заходів є лікар-епідеміолог (заступник керівника закладу охорони здоров'я з епідеміологічної роботи) і/або помічник лікаря-епідеміолога, які мають спеціальну підготовку. З метою контролю ВЛІ у ЗОЗ створюється комісія із профілактики ВЛІ, повноваження якої поширюються на всі підрозділи та служби ЗОЗ. У своїй діяльності комісія керується положенням, розробленим і затвердженим для кожного конкретного ЗОЗ [50].

При цьому основні напрями запобігання інфекцій наступні:

- дотримання санітарних умов всього медичного закладу;
- стерилізація обладнання та інструментів;
- дотримання правил особистої гігієни;
- своєчасне виявлення носіїв ВЛІ та застосування адекватного лікування.

При проведенні санітарно-епідеміологічних заходів відносно до операційного блоку, пологового та перев'язувального залів, то слід враховувати, приміром, що вони мають певні функціональні зони. Так, територія операційного блоку розділена на три такі зони: необмежена, напіввільна, обмежена. Передстерилізаційну обробку та стерилізацію слід виконувати в централізованому стерилізаційному відділенні [50]. Контаміанти у цих приміщеннях підлягають щотижневій утилізації, при цьому внутрілікарняні меблі на час дезінфекції слід демонтувати за межі палат. Упродовж часу експлуатації обов'язковим пунктом є дезінфекція внутрілікарняного простору шляхом кварцування.

Щодо дотримання правил особистої гігієни медперсоналу, в тому числі і хірургів, існує чітка вказівка, встановлена наказом МОЗ України «Про затвердження методичних рекомендацій «Хірургічна та гігієнічна обробка рук медичного персоналу» від 21 вересня 2010 р. № 798 [40]. Під час виконання процедур, що супроводжуються потенційним формуванням бризок крові, секретів, екскретів, персонал повинен надягати маску, засоби

захисту очей (окуляри, щитки). Забруднені засоби індивідуального захисту підлягають заміні, перевага за засобами одноразового використання.

Щодо передстерилізаційних умов, умов стерилізації обладнання та інструментів, утилізації використаних одноразових об'єктів, то, наприклад, використані шприци разом із голками складаються у непроколювані контейнери, одягати при цьому ковпачки на відпрацьовані голки заборонено. Слід передбачити настільні контейнери з голковідсікачами [39]. Про проведенні стерилізаційної обробки інструментарію, нині існує декілька альтернативних варіантів для такої роботи: автоклавування, сухожарове оброблення, обробка дезінфікуючими засобами, кварцування, або, за необхідності, комбінування цих способів. При виборі методів стерилізації слід звертати увагу на матеріал, з якого виготовлений інструментарій, та чи мають вони контакт із біологічними рідинами, адже стерилізації підлягають ті вироби багаторазового використання, які можуть стати об'єктами випадкового забруднення [48]. При виборі деззасобів слід орієнтуватися на їх здатність провокувати інгаляційну небезпеку через високий ступінь токсичності [51].

Щодо дотримання правил особистої гігієни, то слід мати на увазі, що будь-який пацієнт розглядається як потенційне джерело інфекції, що створює епідеміологічну небезпеку для медичного персоналу [50].

Загроза набути ВЛІ, рівно як і самому стати вогнищем ВЛІ для інших осіб існує для усіх категорій людей, що знаходяться в межах лікувального закладу. Підвищення кваліфікації медичного персоналу та посиленні заходи дезінфекції не є гарантією того, що проблему нозокоміального інфікування вдасться вирішити повністю. А для окремих вразливих категорій населення, таких як пацієнти похилого віку, діти, імунодефіцитні, із зниженими, в силу різних обставин, показниками неспецифічної резистентності організму людей проблема внутрішньогоспітальних інфекцій особливо загострена.

Профілактичне призначення антибіотиків (антибіотикопрофілактика) є одним з найефективніших заходів запобігання інфекційним ускладненням

після хірургічних втручань. Користь та можливий ризик цієї профілактики визначають, виходячи з оцінки ризику виникнення інфекційних ускладнень та можливих негативних наслідків від застосування антибіотикотерапії [50]. Перед призначенням раціонально з'ясувати можливі алергічні реакції [44].

Отже, внутрішньолікарняні інфекції сьогодні, на жаль, невід'ємна частина життя медзакладів, причому, беручи до уваги динаміку змін частоти виявляємості грибів роду *Candida*, безперечно має місце поступова еволюція ВЛІ. Цей динамічний процес сповільнюють адекватно підібрані заходи профілактики ВЛІ, однак вони ж, очевидно і сприяють формуванню антимікотичної та антибактеріальної стійкості штамів.

1.2. Сучасний стан проблеми мікробіологічної діагностики кандидозної інфекції

Практика лабораторної діагностики кандидозів. Відсутність швидких, чутливих і специфічних методів діагностики інвазивних мікозів є серйозним недоліком у лікуванні таких пацієнтів, і тому багато хто з цих осіб можуть померти перш, ніж отримають адекватну терапію [3, 17].

До теперішнього часу вироблені більш-менш певні підходи до діагностики, терапії та профілактики інвазивних/дисемінованих кандидозних інфекцій. При культуральній діагностиці вдаються до посіву патологічного матеріалу (кров, сеча, мокротиння, вміст ран або дренажних каналів, кал), не забуваючи, однак, що наявність в ньому бактерій може негативно відобразитися на результатах посіву *Candida* spp. через односторонній анатагонізм перших до других. Крім того, не всі середовища можуть бути оптимальними для росту *Candida* spp. Нарешті, в посівах крові ізоляти *Candida* spp. позитивні в середньому для 50% пацієнтів з інвазивним кандидозом [26]. Багато видів клінічно значущих грибів для росту на штучних поживних середовищах потребують вітамінних добавок, особливо у хворих, що знаходяться на тривалому стаціонарному лікуванні.

Поліморфізм клінічних проявів захворювання кандидозом обумовлює різноманітність патологічного матеріалу, що підлягає лабораторним дослідженням [34]. Залежно від характеру і локалізації ураження для лабораторного аналізу відбирають мокротиння, зіскрібки з шкіри або слизових оболонок, нігтьові лусочки, кров, ліквор, сечу, жовч, фекалії, пунктати із закритих порожнин, виділення із свищів, біопсійний і секційний матеріал [43, 47].

Виявлення нитчастої фази збудника (міцелію або псевдоміцелію) є важливим свідченням наявності кандидозу. Кількість дріжджових клітин в кожному полі зору служить орієнтиром при підготовці серійних розведень для кількісного посіву на щільні живильні середовища: поодинокі клітини в полі зору при великому збільшенні мікроскопа (x400) свідчать про те, що в 1 мл досліджуваного матеріалу порядку десятків тисяч клітин [43].

Робота із патологічним матеріалом потребує розведення. Для патологічного матеріалу, що містить нормальну мікрофлору (мокротиння, фекалії, сеча, жовч і т.д.), розведення готують в рідкому поживному середовищі (зазвичай рідке сусло або рідке середовище Сабуро) і висівають певну кількість (0,1-0,2 мл) на аналогічні щільні середовища. Для пригнічення росту контамінуючих бактерій в середовища додають антибактеріальні антибіотики (найчастіше пеніцилін і стрептоміцин – по 50-100 од/мл середовища або 0,05% хлорамфеніколу).

Зіскрібки з шкіри і нігтьових пластинок поміщають на скошені живильні середовища. Посів крові та ліквору проводять в 10-кратному обсязі рідкого середовища Сабуро або МПБ з 2% глюкозою без додавання антибіотиків, тому кандидозна фунгемія іноді поєднується з бактеріальним сепсисом. Більш високу ефективність виділення грибів з крові вдається забезпечити при використанні комбінованого серцево-мозкового середовища. Посів крові роблять 3-4-кратно, здійснюючи паркан з різних вен з інтервалом у кілька днів при відсутності парентерального харчування або краплинного введення лікарських речовин [43]. При наявності у хворого фунгемії ріст

грибів з'являється через 24-48 год, максимальна інкубація – до 30 діб при періодичних пересівах на щільне живильне середовище [85].

Інкубацію бажано проводити при 25-30°C, хоча патогенні для людини види грибів добре ростуть і при 37°C. Достатніх розмірів колонії формуються після 48 год культивування, однак точковий ріст можна виявити вже на наступний день після первинного посіву [43, 47].

Культуральна морфологія та мікроскопія грибів роду Candida. Видове визначення виділених культур є важливим критерієм діагностики та має комплексний характер. Ідентифікацію виділених культур проводять за морфологічними ознаками колоній (розміром, структурою, характером поверхні, пігментації, наявності ексудату та ін.), мікоморфологією гриба (наявності перегородок, псевдоміцелію, бруньок клітин, артроспор, будова конидієносців, розташування і форма конідій і ін.) і біохімічним особливостям (ферментативної і асиміляційної активності) [25].

Через різке переважання *C. albicans* у хворих і міконосіїв, у культури, що вироста, насамперед встановлюють наявність характерної морфологічної ознаки цього виду – хламідоспор. Переважна більшість штамів *C. albicans* утворюють хламідоспори через 12-24 год, рідше – через 48 год. Виявлення хламідоспор дозволяє ідентифікувати культуру як *C. albicans* і не проводити подальших досліджень [43]. Також проросткова проба є основним методом ідентифікації дріжджових грибів. Колонію дріжджового гриба вносять в пробірку з 0,5-1 мл стерильною сироватки крові і витримують упродовж 2-3 годин при 35°C. Можна використовувати сироватку або плазму крові тварин, або людську плазму, термін придатності якої вичерпався. Випускаються і готові набори для проведення проби (синтетичні бластезіс-середовища). Після інкубації краплю вмісту пробірки поміщають на предметне скло і досліджують під мікроскопом.

При мікроскопії можна помітити утворення дріжджовими клітинами філаментів (зародкових трубок). Ці трубки – не що інше, як попередники (зародки) істинних гіф, які можуть утворюватися тільки грибами *C. albicans*,

найпоширенішого збудника дріжджових мікозів. Слід пам'ятати, що 10-15% виділених від пацієнтів *C. albicans* нездатні до утворення гермінативних трубок [183].

Запропоновано ферментні тести на β -1,3-глюкан (маркерний компонент клітинної стінки грибів), енолазу (фермент, що міститься в цитоплазмі клітини), арабінітол (метаболіт клітинної мембрани), нуклеїнові кислоти (ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція) та ін [140].

Хоча кандиди часто називають диморфними вони, фактично є поліморфними, так як можуть набувати вигляду дріжджів, гіф (несептований міцелій) і псевдогіф (псевдоміцелій) – тонких видовжених клітин, розташованих одна за одною у вигляді ниток і без власної оболонки [168].

Для кандід характерне тільки нестатеве розмноження, при цьому сформовані в процесі життєдіяльності нестатеві спори прийнято називати «конідіями» (грец. *konis* - пил). *C. albicans* можуть утворювати гроноподібні скупчення бластоконідій (молоді клітини гриба діаметром 2-5 мкм). Бластичні конідії кандід відокремлюються від материнської клітини і розташовуються на перегородках псевдоміцелію [14, 181].

Відмінною особливістю *C. albicans* є також утворення хламідоконідій (спор з подвійною щільною оболонкою) на кінцях або коротких бічних відростках гіф. Хламідоспори служать для захисту від несприятливих умов [24].

Відзначено, що при поверхневому кандидозі шкіри і слизових в осередках ураження переважають бластоспори, а при глибоких мікозах виявляються в основному вегетуючі клітини [14].

Важливий вплив на морфогенез кандід має температура. Так, температура близько 25°C сприяє формуванню хламідоконідій. Більш висока – від 37 до 40°C (подібний діапазон температур може бути в організмі у потенційних хворих) і рідше до 43°C – сприяє утворенню гіф і псевдогіф. Однак не всі види кандід здатні рости при 37°C і вище, тому ця властивість є важливою патогенетичною характеристикою і відокремлює потенційно

патогенні штами від сапрофітів зовнішнього середовища [20].

Фактори патогенності грибів роду Candida. За останні 20 років отримано багато нових даних про морфологію, мінливість, антигенну структуру дріжджових грибів, що дозволяє поглибити знання їх патогенних властивостей. Гриби роду *Candida* володіють вираженими адаптивними властивостями, захисними морфологічними і біохімічними властивостями, що дозволяє оптимізувати механізми паразитування, та, в свою чергу збільшує їх патогенні властивості і здатність виживати в різноманітних умовах зовнішнього середовища і макроорганізму [89, 102, 108].

Деякі види кандид, зокрема *C. albicans*, є коменсалами людини, тому кандидозна інфекція носить переважно ендогенний характер [109]. Колонізація слизових кандидами може закінчитися набуттям і збереженням стабільної популяції кандид, яка не дає розвитку клінічної інфекції. Колонізація залежить від інтенсивності набуття інфектанта, тобто швидкості, з якою клітини кандид проникають в порожнину рота або іншу екологічну нішу, від здатності мікроорганізмів до адгезії і наявності різних механізмів очищення (кліренсу) слизових.

Фактори патогенності кандид можна умовно розділити на п'ять груп, хоча в організмі, при виникненні патології, їх вплив здійснюється одночасно:

- здатність грибів до адгезії на тканинах господаря – перший крок до взаємодії з макроорганізмом. У даний процес залучені різноманітні адгезини кандид і рецепторний апарат слизових оболонок організму господаря;
- продукція протеолітичних ензимів – секреторних аспартил-протеаз, що полегшують penetрацію та інвазію кандид в тканини;
- морфологічна трансформація: дріжджова-гіфальна форма, яка також здатна полегшити кандидам проникнення в тканини і допомагає мікроорганізму обходити захисні системи господаря;
- різні імуномодуляторні механізми деяких поверхневих молекул *C. albicans*, що сприяють зниженню активності захисних сил господаря;
- фенотипові перемикання, характерні для окремих штамів *C. albicans*

при зміні умов існування.

Адгезини і механізми адгезії грибів роду Candida. Початковим етапом колонізації є адгезія, яка реалізується через різноманітні механізми розпізнавання патогеном (грибом) тканин господаря. Адгезини – ділянки поверхні кандид, що беруть участь в прикріпленні останніх до клітин господаря (епітеліоцитів), мікроорганізмів, інертних полімерів і окремих білків біологічних рідин (наприклад, слини). *C. albicans* володіють безліччю адгезинів, що мають різну хімічну будову, крім цього, для кандид характерна наявність набору адгезинів, що беруть участь в розпізнаванні окремого ліганда або клітини господаря [127, 135, 141].

Адгезія в системі «макро-мікроорганізм» залежить від умов зовнішнього середовища, що діє через кандиди, з одного боку, і впливає опосередковано через організм хазяїна – з іншого. До кандидозалежних механізмів, що впливає на цю систему, відносять: гідрофобність поверхні гриба, тип живильного середовища й умови вирощування. У свою чергу, на адгезивні потенції клітин макроорганізму впливає гормональний та імунний статус господаря.

Прикріплення кандид до клітин господаря ініціює колонізацію і інфекційний процес. Ця концепція лягла в основу ідеї запобігти розвитку інфекції шляхом блокади адгезії кандид до тканин господаря і/або інгібуванням рецепторного апарату епітеліоцитів. Такий підхід може бути новою профілактичною моделлю для захисту від кандидозної інфекції [139, 148, 171].

У процесі адгезії відіграють роль як неспецифічні (гідрофобні зв'язки), так і специфічні механізми (ліганд-рецепторні взаємодії). Адгезинами кандид можуть бути поверхневі білки, інтегриноподобні поверхневі протеїни (aMb2, aXb2, a5b1), молекули, що беруть участь в лектиноподібних зв'язках, а також фімбрії [134, 137]. Більшість адгезинів визначені як маннопротеїни, при цьому властивостями адгезії головним чином володіє їх білковий компонент. У деяких випадках у процесах адгезії беруть участь вуглеводні

частини маннопротеїнів клітинної стінки кандид [96]. Висунуто припущення, що фактор-6 маннана (антиген) може бути пов'язаний з активністю адгезії. Будова відповідних рецепторів (до адгезин кандид) на клітинах хазяїна, може, залежити від типу клітини і наявності на її поверхні фукози, глюкозаміну, фібронектину або аргінін-гліцин-аспарагіну (RGD) [38]. Мутантні штами, дефіцитні за фактором-6 (штами серотипу В), проявляють знижену адгезивність в порівнянні з немутантними штамами (серотип А). Даний факт, можливо, має практичне значення: у клінічних матеріалах частіше зустрічається серотип А, ніж серотип В, крім того, від хворих з пригніченим імунітетом частіше виділяється серотип В. При призначенні антифунгальної лікування необхідно пам'ятати, що серотип А чутливий до 5-флуороцітозіну, а серотип В – часто стійкий [156, 157].

Морфологічна трансформація Candida. Одним з основних факторів патогенності грибів завжди вважався диморфізм: дріжджова-гіфальна форма (yeasts-hyphae трансформація) [145]. Однак *Candida* spp. відрізняються від класичних диморфних грибів, так як у цього роду немає чіткого поділу на патогенні і сапрофітні форми; як в культурах, так і в макроорганізмі при зараженні і носійстві, виявляються різні за морфологією структури: дріжджові клітини, псевдогіфи і справжні гіфи (тому зараз говорять не про диморфізм, а про поліморфізм видів *Candida* spp.). До того ж у звичайних диморфних грибів саме клітини в дріжджовій фазі розвитку є тканинною формою існування, що забезпечує фактори вірулентності грибів, у той час як ця фаза у *Candida* spp. найменш патогенна [152, 175]. Більше того, в експерименті було встановлено, що штами *C. albicans*, які не утворюють псевдогіфів і справжнього міцелію, втрачають вірулентність [132]. Формування псевдоміцелію полегшує міграцію грибів через пошкоджені тканини. Гіфи здатні до тигмотропізму – руху, стимульованого чутливим контактом. У тканинах така форма поширюється швидше, ніж дріжджова, що так само сприяє міграції гриба через пошкоджені тканини і penetрацію в здорові тканини [99,96, 101]. Одним з факторів, що стимулюють їх

утворення, служить підвищений вміст вуглекислого газу (з такими умовами мікроскопічні гриби стикаються в тканинах). У гіфах відзначають більш високий рівень вмісту хітину – приблизно в 3 рази більше, ніж в дріжджовій формі. Цей полісахарид забезпечує ригідність каркасу [183].

Морфофізіологічна мінливість обумовлена такими факторами, як температура, вміст поживних речовин і кисню, рН середовища, при зміні яких для видів *Candida spp.* характерний феномен перемикання загального фенотипу і структури поверхні, а відповідно і поверхневих білків, як структурних, так і рецепторних [156]. Причому розходження в наборі поверхневих білків визначає відмінність і антигенних властивостей різних форм існування грибів. Так, температура близько 25°C сприяє формуванню хламідоспор. Більш висока – від 37 до 40°C (подібний діапазон температур може бути в організмі у потенційних хворих) і рідше до 43°C – сприяє утворенню гіф і псевдогіф [183].

Механізм інвазії може бути представлений наступним чином: спочатку адгезія здійснюється між дріжджовими клітинами і поверхнею епітеліоцитів. Потім під впливом гідролітичних ферментів (зокрема, протеаз) формуються порожнини в місці прикріплення клітини гриба; починається трансформація і продукуються гіфи, які вражають епітеліоцити дистальне прикріплення дріжджових форм. Фосфоліпази, концентруючись на кінцях гіф, зумовлюють велику інвазивність цієї форми в порівнянні з дріжджовою [183]. Гіфальні елементи – більші, ніж дріжджова форма, і позбавлені маннових адгезинів для контакту з макрофагами, що служить додатковими атрибутами стійкості гіф до фагоцитозу. Таким чином, гіфальна форма є більш агресивною і патогенною, проте немає остаточних доказів того, що тільки вона є вірулентною для макроорганізму, оскільки гістологічні дослідження кандидозних пошкоджень іноді показують відсутність гіф в патологічному матеріалі.

Продукція протеолітичних ензимів. Після початкового етапу взаємодії між дріжджоподібними клітинами і епітеліоцитами господаря починають

підключатися фактори, що беруть участь в проникненні (пенетрації) та розповсюдженні (інвазії) кандид в тканини. Пенетрація і інвазія забезпечуються морфологічними змінами від дріжджових форм до гіфам (див. вище) і продукцією гідролітичних ферментів. Клітини *C. albicans* секретують фосфоліпазу, ліпазу, фосфомоноестеразу, гексозамінідази і протеолітичні ензими протеази [101, 103].

Фактором вірулентності *C. albicans*, який бере участь у інвазії в тканини господаря, вважають секрецію фосфоліпаз, при чому частина секретується за межі клітини. За одними даними, фосфоліпазна активність властива тільки *C. albicans*, за іншими – вона різко посилена у цього виду в порівнянні з іншими [101, 131]. Показана кореляція фосфоліпазної активності культур з їх адгезією до епітелію і летальністю. Така ж залежність встановлена для протеїнази [96].

За характером субстратної дії фосфоліпази, що називалися раніше лецитиназами, діляться на 4 типи – А, В, С, Д. Области дії цих 4-х фосфоліпаз на молекулу лецитину різні. Гриби найчастіше виробляють фосфоліпазу трьох типів з оптимумом активності при рН 3,6; 5,6 і 8,6. Даний фермент вельми стабільний у широкому діапазоні рН (3,0-10,0). Фосфоліпаза С – екзофермент, частіше притаманний патогенним видам бактерій. У мембранах і клітинній стінці гриба міститься фосфоліпаза А, здатна секретуватися за межі клітини. Цей фермент каталізує гідролітичне відщеплення жирної кислоти від другого вуглеводного атома фосфоліпіда. Продукт цього гідролізу (лізофосфатід) відрізняється високою токсичністю і викликає руйнування клітинних мембран. Цитохімічними методами показано, що цей фермент концентрується переважно в кінчиках гіф [132, 146]. Всі фосфоліпази є слабкими антигенами і відносно термостабільним. Фосфоліпаза С – металлоензим. У активності ферменту певну роль відіграють метали, які не входять в структуру самого ферменту, але приймають участь в організації субстрат-ферментного комплексу, наприклад іони Ca^+ і цинку [175].

Одним з факторів патогенності *Candida* spp. є протеїнази, які забезпечують колонізацію збудниками тканин господаря, а також захист гриба від імунологічних факторів. Найбільш вивченою в цьому плані є аспартат-протеїназа, яка у *C. albicans* вперше була виявлена в 1965 році. Встановлено, що цей фермент неоднорідний, є його ізоформи. Продукція ензиму регулюється, принаймні, 7 генами; активізація або пригнічення одного або декількох з них призводить до зниження (або, навіть, до підвищення) вірулентності як одного і того ж, так і різних штамів, що відносяться до одного виду гриба. Однак, незважаючи на доведену роль протеїназ в реалізації патогенних властивостей цих грибів, протеолітична активність, обумовлена *in vitro*, може не корелювати з вірулентністю штамів [181, 182].

Є дані, що протеази сприяють процесу адгезії. Зокрема, вони здатні впливати на поверхню дріжджів, модифікуючи їх адгезини, або на клітини господаря, оголюючи ліганди [15]. Доведено, що їх продукція може полегшити інвазію допомогою руйнування кератину і колагену. Експресія протеаз доведена у патогенних видів: виражена ензимна активність виявлена у *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*.

Молекулярні і генетичні дослідження даних ензимів у *C. albicans* показали, що існують кілька видів, кожен з яких кодується окремим геном [20]. Максимальна протеолітична активність виявлена при слабкокислом рН середовища 5-5,5 [14]. Вважають, що розвиток запального процесу, викликаного в тому числі і грибами-продуцентами специфічних протеаз, тісним чином пов'язане з формуванням збудниками біоплівки [103, 106]. Отже, клітини *C. albicans* секретують фосфоліпазу, ліпазу, фосфомоноестеразу, гексозамінідази і протеолітичні ензими – аспартил-протеази. Показано, що експресія екзоферментів залежить від штаму, морфології клітин і факторів навколишнього середовища.

Імуномодуляторні механізми. Антигени клітинної стінки представлені, насамперед, маннанами і в значно меншій мірі – білками. Під

маннанами розуміється типові для багатьох *Candida* spp. основні ланцюги з одиниць маннопіранозіла, з'єднаних α -1,6 глікозидної зв'язком і заміщають бічні ланцюги з манози, з'єднані α -1,2 і α -1,3 зв'язками, так що вся структура нагадує гребінець [141, 146]. Більшість маннанів клітинної стінки пов'язані з білками. Хітин і глюкани не мають антигенних властивостей.

Маннани клітинної стінки викликають утворення антитіл у людини, тобто є антигенами. Різні антитіла позначаються як сироваткові фактори під номерами, яким відповідають номери антигенів. Спільними антигенами служать: фактор 1, що представляє собою маннозид з O-зв'язком; фактор 9, що є фрагментом основного скелета з α -1,6 глікозидний зв'язком і містить P-1,2 зв'язку; фактор 8, що поєднує основний α -1,6 залишок з 2 бічними α -1,2 зв'язками, і, крім того, фактор 34, відповідає кінцевим лінійним маннозидам α -1,3 зв'язком [167].

У *C. albicans* є два серотипи – А і В. Різні дослідження показали розподіл цих серотипів серед хворих, залежно від географічного положення, стану хворих, імунодефіциту, стійкості до протигрибкових препаратів. Залежність патогенних властивостей від серотипу в даний час не доведена, хоча є свідчення про різницю в адгезії до різних тканин людини. Належність *C. albicans* до серотипу А обумовлена антигенним фактором 6, що складається з маннопіранозидов α -1,2 і β -1,2 зв'язками [160, 167]. У серотипу В цього антигену немає. Деякі молекули відомих адгезинів, що містять фрагменти маннопротеїнів (наприклад, з β -1,2 зв'язками), також викликають утворення антитіл в експерименті [167].

Оскільки антигени *C. albicans* представлені, насамперед, маннопротеїнами клітинної стінки, антигенна структура схильна до динамічних змін в тій мірі, в якій їм схильні лабільні зовнішні шари стінки. Найбільша зміна складу стінки відбувається при зміні фаз росту. Доведена зміна клітинами одного штаму *C. albicans* серотипу В на серотип А при переході з дріжджової фази до утворення проросткових трубок та набуття антигену Б [183]. Крім того, встановлена залежність антигенної структури від

pH середовища, зокрема – відсутність антигену А при зростанні в кислому середовищі [177].

Властивість до утворення біоплівок грибами роду Candida. Останні десятиліття характеризується поступовим переглядом існуючих раніше уявлень про мікроорганізми як про одноклітинні утворення. Все більше накопичується даних на користь того, що вони являють собою цілісні «надорганізми», які ведуть соціальний спосіб життя зі складною багаторівневою соціальною організацією, спрямованою на виживання мікроорганізмів в постійно мінливому й агресивному середовищі [16, 20, 31, 150]. Ключовим фактором, що забезпечує збереження виду, є біоплівки.

У зовнішньому середовищі близько 99,9% всіх організмів здатні утворювати біоплівки. В організмі людини 70-80% бактеріальних інфекцій, особливо хронічних і персистуючих, також супроводжується утворенням біоплівок. Біоплівки являють собою унікальні утворення, що складаються з живих клітин (близько 15%), занурених у вигляді мікроколоній в екзополімер – полісахаридний матрикс [34].

Матрикс, що продукується клітинами в біоплівках, забезпечує фізичний захист клітин від факторів імунної системи (антитіла, макрофаги), бактеріофагів, ускладнює і уповільнює проникнення антибіотиків, що сприяє високій резистентності до них.

Біоплівки утворюють як бактерії, так і гриби [103]. Серед грибів особливе місце займають інфекції, що викликаються *Candida spp.* і, насамперед, *C. albicans*, що обумовлено їх надзвичайно високою резистентністю до антимікотиками. Так, для пригнічення метаболічної активності біоплівок *C. albicans* необхідна в 30-2000 разів більш висока концентрація амфотерицину В, флуконазолу, флуцитозину, інтраконазолу, кетоконазолу, ніж для дріжджових планктонних клітин [34].

В даний час для дослідження властивостей біоплівок *Candida in vitro* використовується декілька моделей. Майже всі з них були адаптовані для бактерій. Одна з моделей включає вирощування популяції дріжджоподібних

грибів на поверхні маленьких дисків, вирізаних з катетерів (зростання культури контролюється кількісним колометрічним аналізом), інша – використовує смужки акрилових протезів [110, 144]. Обидва методи дають чудову кореляцію біоплівок в сухій вазі.

Для швидкої обробки великої кількості зразків використовується альтернативний метод, при якому біоплівки вирощують в 96-лункових мікротитраційними планшетах [85, 161]. Цей метод був розроблений для масштабного тестування біоплівок на сприйнятливість до протигрибкових агентів. Всі ці моделі характеризують утворення біоплівки в статичних умовах інкубації. Більш складні системи включають освіту біоплівки на циліндричних фільтрах з целюлози, або в ферментерах.

На формування біоплівок *in vitro* впливають:

- видова належність тестованого штаму;
- здатність до диморфності;
- матеріал колонізованої поверхні;
- наявність кондиціонування плівки і потоку рідини;
- присутність бактеріальної флори.

Дослідження показали, що існує кореляція між здатністю утворювати біоплівки і патогенністю різних видів грибів роду *Candida*.

Згідно з літературними даними, ізоляти *C. parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis* і *Candida glabrata* показували значно меншу здатність до утворення біоплівки, чим більш патогенні *C. albicans* [130]. З іншого боку, не *C. albicans* види, зокрема *C. tropicalis* і *C. parapsilosis*, досить легко утворювали біоплівок при вирощуванні в середовищі, що містить 8% глюкози [116, 130]. Ця здатність може відігравати важливу роль у патогенезі захворювань і дозволяє викликати кандидемії у пацієнтів, які отримують повне парентеральне харчування із застосуванням розчином з високим рівнем концентрації глюкози.

На формування біоплівки *C. albicans* також впливає характер використовуваного матеріалу катетера – більш виражено на латексному або

силіконові еластомери в порівнянні з полівінілхлоридним (ПВХ), але істотно нижче на поліуретані або 100% силіконі. У природних умовах катетери та інших імплантати швидко поглинають безліч білків, які утворюють кондиціонування плівки на поверхні. Преінкубація ПВХ катетер дисків в пробірці з фібриногеном або колагеном посилюється утворення біоплівок *C. albicans*. Крім того, ферменти сироватки або слини сприяють утворенню біоплівки на акрилових протезах [95].

Визначальною характеристикою будь біоплівки є наявність матриці, позаклітинного полімерного матеріалу [20]. Причому самі мікроорганізми становлять лише 5-35% маси біоплівки. Кількість матриці біоплівки, утвореною грибами роду *Candida*, залежить від умов інкубації. Так, значне збільшення біоплівки спостерігається коли *C. albicans* інкубують при легкому струшуванні, для того щоб створити потік рідини на поверхні клітин.

Відмінною особливістю біоплівки *C. albicans* є суміш морфологічних форм, що було вперше помічено при скануючої електронної мікроскопії, і показано, що прикріплення клітин дріжджів починається після 3-6 год, а повністю зрілі біоплівки утворюються після інкубації протягом 48 год, і складаються з щільної мережі спорових клітин дріжджів, гіфів і псевдогіфи [3].

Роль морфогенезу в загальній структурі біоплівки також була вивчена за допомогою скануючої електронної мікроскопії. Як було показано, біоплівка на дисках катетера складається з двох різних шарів: тонкого базального (області щільно упакованих дріжджових клітин) і розташованого вище товстого відкритого шару гіф. Базальний шар дріжджів виконує важливу функцію в прикріпленні біоплівки на поверхні. На іншому типі поверхні, целюлозних волокон, біоплівка, утворена *C. albicans*, під скануючим мікроскопом складалася виключно з дріжджових клітин, а її двошарова структура відсутня [1, 3].

Матрицю як бактеріальної так і грибової біоплівки в першу чергу

складають екзополісахариди, з основному негативно заряджені. Також може бути присутня невелика кількість білків, нуклеїнових кислот і різних інших компонентів. Проте, велика частина матриці біоплівки (до 97%) – вода [103].

Лікарська стійкість кандид у складі біоплівок. Мікробні біоплівки, як відомо, стійкі до різних антимікробних агентів, у тому числі до антибіотиків, антисептиків і промислових біоцидів. Стійкість грибів роду *Candida* до антигрибковою агентам у складі біоплівок була вперше продемонстрована в 1995 році [126]. При цьому були протестовані клінічно важливі протигрибкові засоби такі як: амфотерицин В, флуконазол, флуцитозін, ітраконазол і кетоконазол. При цьому встановлено, що всі ці препарати були набагато менш активні щодо *C. albicans* в біоплівках на дисках катетерів, ніж в біоплівках на ПВХ проти планктонних клітин. Концентрації антимікотиков, що знижують метаболічну активність культур на 50% були в 7 разів вище для кандид у складі біоплівки, ніж для планктонних клітин і 30-2000 разів вище, ніж відповідні мінімальні інгібуючі концентрації (МІК). Біоплівки в складі *non-albicans* видів, таких як *C. tropicalis* і *C. parapsilosis*, виявилися також лікарсько стійкі.

Подальші дослідження показали також лікарську стійкість грибів *Candida* в біоплівках, вирощених на целюлозі [131], полістиролі [154], силіконових еластомерах [130], поліуретані [175] і на акрилових протезах [100].

Хоча *C. albicans* і *C. parapsilosis* у складі біоплівок були явно стійкі до двох нових триазолів (вориконазолу і равуконазолу), існувала деяка чутливість з порушеннями ліпідного шару біоплівки до препаратів амфотерицину В і до двох ехінокандінів (каспофунгіну і мікафунгіну) [129]. Ефективність каспофунгіну проти біоплівки *C. albicans in vitro* була підтверджена і іншими авторами [132]. Можливі механізми стійкості біоплівки до лікарських препаратів включають:

- обмежене проникнення лікарських засобів через матрицю біоплівки;
- фенотипові зміни, пов'язані зі зниженням швидкості росту або

обмеженням поживних речовин;

– експресія генів стійкості індукована при контакті з поверхнями [110, 130, 144].

В живому організмі часто знаходяться штами, що відносяться до різних видів *Candida*, причому між ними відбуваються міжвидові взаємодії та формуються гетерогенні грибово-бактеріальні біоплівки [103]. Так була досліджена *in vitro* модель біоплівки на дисках катетера, що складаються з *C. albicans* і епідермального стафілокока, як найбільш поширених бактеріальних агентів катетер-асоційованих інфекцій. При електронній мікроскопії виявлені численні фізичні взаємодії між стафілококами і дріжджами [139].

Крім того, дія антибактеріальних агентів і бактерій можуть впливати на активність протигрибкових засобів у цих біоплівках. І навпаки, присутність в біоплівках *C. albicans*, збільшило опір слизу стафілококів до ванкоміцину.

Аналогічні властивості спостерігалися у біоплівки, що складається з *C. albicans* і стрептококів на акрилових протезах [144]. Найімовірніше, підвищення в'язкості матриці могло б пояснити підвищену стійкість мікроорганізмів, що входять до складу біоплівок змішаних видів.

Серед взаємодій мікроорганізмів у змішаних біоплівках було описано антагоністична взаємодія між *C. albicans* і синьогнійної паличкою [172]. Синьогнійна паличка формує щільний шар біоплівки, який згубно впливає на *C. albicans*. Результати досліджень показали, що існує кілька факторів вірулентності, в тому числі і секретовані молекули, такі як фосфоліпази *C.* Вивчення бактеріально-грибкових взаємодій в біоплівках перспективне.

Антигенна структура Candida. За антигенною структурою *Candida* є надзвичайно гетерогенною групою, всередині якої є як родинні, так і відособлені види. Останнє положення диктує необхідність використання для імунологічних досліджень антигенів гомологічного виду. В даний час *C. stellatoidea*, *C. clausenii* і *C. langeronii*, в силу високого ступеня гомологічності ДНК, віднесені до *C. albicans*. Спроби використання

цитоплазматичних антигенів міцелію виявили їх меншу чутливість в порівнянні з антигенами дріжджових клітин при дослідженні сироваток хворих на інвазивний кандидозом [168].

Таким чином, останній час характеризується неухильним зростанням числа мікотичних уражень людини. Дріжджові і плісняві гриби входять до числа десяти найчастіших патогенів, що виявляються в клініках, а у відділеннях інтенсивної терапії (ВРІТ) посідають четверте-п'яте місце в етіологічній структурі гнійно-запальних уражень. При цьому слід враховувати, що існують епідемічні біотики грибів роду *Candida*, які можуть викликати епідемічні спалахи грибкових інфекцій, оскільки здатні переживати на медичних інструментах, руках персоналу, водопровідних кранах і інших предметах навколишнього середовища лікарняного закладу. Перелік можливих збудників продовжує зростати у міру накопичення досвіду лабораторіями в ідентифікації збудників, що, безумовно, важливо для оптимізації терапії кандидозних інфекцій. Слід зазначити, що в Україні практично відсутні локальні дані щодо видового складу збудників та рівнів їх стійкості до протигрибкових препаратів, що й обумовлює необхідність моніторингу збудників кандидозу і рівня резистентності виділених клінічних штамів дріжджоподібних грибів. Водночас, налагодження та здійснення подібного моніторингу потребує удосконалення лабораторної діагностики кандидозної інфекції. Крім того, потребує подальшого вивчення патогенність штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, яка не може бути оцінена лише по одному з критеріїв, наприклад, за рівнем чутливості до антімікотиків. Визначення адгезивних властивостей та здатності формувати біоплівку може виявитися досить надійним і зручним інструментом для оцінки патогенного потенціалу штамів і прогнозування розвитку грибкової інфекції.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили поетапно в такій послідовності: збір зразків біологічного матеріалу від хворих та з об'єктів внутрішньолікарняного середовища, висів на стандартне та/або модифіковане середовище Сабуро, облік отриманих результатів, визначення видового складу отриманих штамів грибів роду *Candida* та їхніх біологічних властивостей: рівнів чутливості до антимікотичних препаратів, здатності до адгезії та формування біоплівки (рис. 2.1).

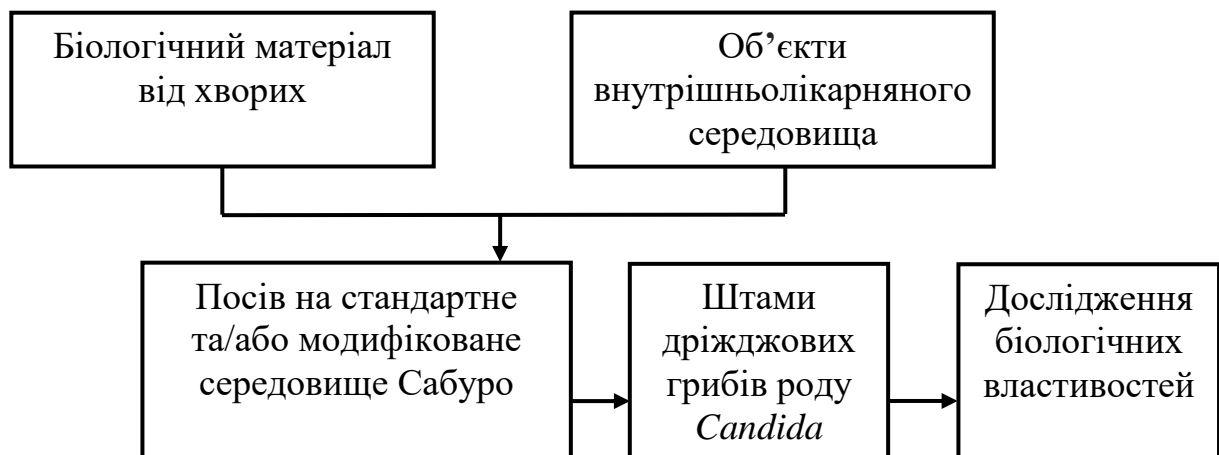


Рис. 2.1. Дизайн мікробіологічного дослідження

2.1. Матеріали, використані у дослідженні

При вивченні поширення та видового складу збудників кандидозної інфекції використали зразки клінічного матеріалу від хворих та зразки змивів з об'єктів внутрішньолікарняного середовища, зібрані за 2008-2015 рр. у відділеннях багатoproфільного стаціонару (у тому числі чотирьох відділень реанімації та інтенсивної терапії) Національного військового медичного клінічного центру «ГВКГ» (таблиця 2.1).

Показами до проведення бактеріологічних досліджень було призначення лікаря хворого.

Таблиця 2.1

Біоматеріал, використані при вивченні поширення та видового складу
збудників кандидозної інфекції

№	Об'єкт дослідження	Кількість	
1	Зразки біологічного матеріалу від хворих	41910	
	1	Кров	6570
	2	Сеча	9768
	3	Мазок із зіву, мигдалин, ротової порожнини	3400
	4	Мазок із носа	2514
	5	Мазок із вуха	799
	6	Вміст гайморової пазухи	143
	7	Жовч	888
	8	Виділення із сечостатевого органів	8064
	9	Вміст кісти нирок, сечового міхура	434
	10	Вміст черевної порожнини	539
	11	Виділення із ран	1588
12	Мокротиння	7203	
2	Змиви з об'єктів внутрішньолікарняного середовища та проби повітря	180	
3	Штами дріжджових грибів роду <i>Candida</i>	2088	

При дослідженні чутливості дріжджоподібних грибів роду *Candida* до антимікотиків використовували 88 штамів, виділених із 383 зразків біоматеріалу, що були відібрані у 2008-2015 рр. у пацієнтів, які перебували в ВРІТ і відділеннях хірургічного профілю з підозрою на інвазивний кандидоз (таблиця 2.2).

Таблиця 2.2

Матеріали, використані при вивченні антимікотикочутливості

Тип біоматеріалу	Кількість досліджених зразків
Кров	69
Сеча	82
Мокротиння	177
Мазок із зіву	30
Виділення зі ран, дренажу	17
Мазок із вуха, вміст гайморової пазухи	2
Ліквор	6
Всього	383

При вивченні здатності грибів формувати біоплівки використали 33 штами грибів роду *Candida*, що були виділені із зразків, відібраних у 2014 році у пацієнтів, які перебували у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (таблиця 2.3).

Таблиця 2.3

Матеріали, використані при вивченні адгезії та біоплівкоутворення

Тип біоматеріалу	Кількість досліджених зразків
Кров	7
Сеча	6
Мокротиння	7
Мазок із зіву	3
Всього	33

При вивченні ефективності модифікованого поживного середовища для первинного висіву дріжджоподібних грибів роду *Candida* у дослідах використали 6311 зразків клінічного матеріалу, отриманих у 2010-2011 рр. від хворих всіх відділів багатопрофільного стаціонару, включно з ВРІТ та відділень хірургічного профілю (таблиця 2.4).

Таблиця 2.4

Матеріали, використані для оцінки ефективності модифікованого поживного середовища

Тип біоматеріалу	Кількість зразків
Кров	1170
Сеча	1748
Мазок із зіву, мигдалин, ротової порожнини	771
Мазок із носа	492
Мазок із вуха	183
Вміст гайморової пазухи	40
Жовч	234
Виділення із сечостатевих органів	1145
Вміст кісти нирок, сечового міхура	152
Вміст черевної порожнини	89
Виділення із ран	287
Всього	6311

При проведенні удосконалення лабораторної діагностики кандидозної інфекції для біотехнологічного обґрунтування режиму культивування дріжджоподібних грибів роду *Candida* використали 2 штами грибів роду *Candida*: *C. albicans* 259 і *C. tropicalis* 366, виділені із біоптатів хворих.

Контроль якості середовищ і тест систем проводили з використанням тест-культури *C. albicans* ATCC 10231.

2.2. Методи досліджень

Дослідження біологічного матеріалу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно з Наказом МОЗ СРСР № 535 від 22.04.1985 р. Збір, транспортування проб клінічного матеріалу, первинний посів біологічного матеріалу, кількісний облік виділених мікроорганізмів і їх подальшу ідентифікацію проводили відповідно до чинних нормативних документів [35]. Первинний посів проводили на ряд поживних середовищ: 5% кров'яне, шоколадне, маніт-сольове агар, середовище Ендо, тіогліколеве. Набір поживних середовищ залежав від виду досліджуваного клінічного матеріалу. Ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили бактеріологічними методами, дотримуючись класифікації Бергі (1997). У деяких випадках для остаточної ідентифікації умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ) до виду використовували пластини для біохімічної ідентифікації ПБДЕ, ПБДС (виробництво НВО "Диагностические системы", РФ), ЕНТЕРОтест24, СТАФІтест16, НЕФЕРМтест24, CANDIDAтест24 (виробництво «ERVA LACHEMA», Чехія).

Для визначення збудників кандидозу біологічний матеріал засівали на середовище Сабуро, інкубували при температурі 30 °С впродовж 2-7 діб. При наявності росту проводили мікроскопію, що дозволяло виключити гриби родів *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Malassezia* і ін. Потім визначали здатність штаму гриба утворювати трубки в сироватці крові при інкубації протягом 2-3 год при температурі 37°С, для швидкої ідентифікації типових штамів

C. albicans [33, 52]. Якщо тест на ростові трубки був негативним, проводили повну видову ідентифікацію за біохімічними показниками тест-систем ID 32C (BioMerieux, Франція).

Чутливість до антимікотиків проводили з використанням комерційного набору АТВ Fungus 3 (виробництва BioMerieux, Франція), в основі якого лежить метод серійного розведення згідно референтного методу CLSI M27-A2 [105, 155]. Всі штами були виділені в діагностично значимому титрі 10^5 КУО/мл/тампон і вище. Контроль якості проводили з використанням тест-культури *C. albicans* ATCC 10231.

Адгезивні властивості виділених штамів мікроорганізмів вивчали на еритроцитах людини резус-позитивної 0(I) групи крові згідно з методикою В. І. Бриліса із співавт. [5]. Для вирощування культур мікроорганізмів використовували триптиказосоевий бульйон та бульйон Сабуро для грибів роду *Candida* (BioMerieux, Франція). Перед використанням еритроцити двічі відмивали 0,1 М розчином фосфату натрію шляхом центрифугування при 3000 об/хв протягом 15 хв. На буфері готували завись еритроцитів, що мала концентрацію 10^8 КУО/мл. Культури інкубували в термостаті при 37°C протягом 24 год. Для постановки досліду в U-подібні мікропланшети вносили по 0,1 мл суспензії мікроорганізмів із концентрацією 10^9 КУО/мл і по 0,1 мл зависі еритроцитів. Суміш інкубували при температурі 37°C, час від часу струшували, упродовж 30 хвилин. Після цього на знежиреному предметному склі готували мазок, що висушували при кімнатній температурі, фіксували та фарбували за методом В. І. Бриліса [5]. Адгезивні властивості досліджуваних мікроорганізмів вивчали на отриманих препаратах під світловим мікроскопом.

Інтерпретацію результатів проводили за середнім показником адгезії (СПА) – середня кількість мікроорганізмів, прикріплених до одного еритроцита, за підрахунку 25 еритроцитів, враховуючи не більше 5 еритроцитів у полі зору та коефіцієнту участі еритроцитів в адгезії (КУЕ) – відсоток еритроцитів, які мають на поверхні адгезовані мікроорганізми. На

підставі цих показників розраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) за формулою (2.1):

$$\text{ІАМ} = \text{СПА} \times 100 / \text{КУЕ} \quad (2.1)$$

Мікроорганізм вважали неадгезивним при ІАМ менше 1,75; низькоадгезивним – від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – від 2,51 до 4,0; та високоадгезивним при ІАМ більше ніж 4,0. Дослідження проводили у чотирьох повторностях.

Здатність до формування грибами біоплівки проводили згідно з методикою Романової Ю. М. із співавторами [46]. Культури вирощували при температурі 37°C в триптиказосоевому бульйоні (bioMerieux, Франція). Досліди проводили в плоскодонних планшетах для імуноферментного аналізу. Добові культури штамів розводили стерильним середовищем до 10^7 КУО/мл, отримані суспензії вносили по 150 мкл у 96-лункову планшету (по 4 лунки для кожного штаму). Для контролю у 4 лунки вносили стерильне поживне середовище. Планшети інкубували при 37°C 48 год. Щільність сформованої біоплівки оцінювали на мікро-спектрофотометрі (Rayto RT-2100C Microplate Reader) при довжині хвилі 630 нм за інтенсивністю забарвлення спирту. Кількісним визначенням ступеня утворення біоплівки слугували значення оптичної густини (ОД ОГ). Всі дослідження проведені у чотирьохкратних повторностях.

Вивчення мікроскопічних особливостей процесу біоплівкоутворення методом скануючої електронної мікроскопії проводили з використанням штаму *C. albicans* 259, який виділено з сечі хворого відділення реанімації та інтенсивної терапії через 24 і 48 годин інкубації. Для дослідження біоплівкоутворення *C. albicans* 259 сегменти силіконової пластинки (Jiangsu Suyun Medical Materials Co., КНР) занурювали у попередньо приготовану у фізіологічному розчині завись *C. albicans* у концентрації $1,5 \times 10^8$ КУО/мл, яку встановлювали за допомогою денситометра DENSIMAT (BioMerieux, Франція) і набору стандартів оптичної густини бактеріальних зависей McFarland. Після інкубації зазначених вище сегментів у термостаті при

температурі 37°C за 24, 48 годин їх забарвлювали розчином генціанвіолету, тричі промивали дистильованою водою і фіксували протягом 30 хв. 96% етиловим спиртом. Дослідження особливостей утворення біоплівки *C. albicans* на поверхні силіконового матеріалу проводили за допомогою скануючого електронного мікроскопа Tescan Mira 3 LMU. в режимі з низькою прискорюючою напругою. Це дозволило знизити рівень локального накопичення заряду поверхнею та отримати достатню просторову роздільну здатність для спостереження біоплівки та грибів.

Оцінку контамінації мікроміцетами лікарняного середовища проводили у відділеннях реанімації і інтенсивної терапії хірургічного профілю. Об'єктами досліджень слугували повітря, руки медперсоналу, лікарняні меблі та обладнання. Упродовж 2015 року в рамках даної роботи досліджено 150 змивів із об'єктів зовнішнього середовища та проаналізовано 30 проб повітря.

Засіяність повітряного середовища вивчали загальноприйнятими методиками відповідно з додатком №2 до наказу №720 від 31.07.1978 р., МУК №3182-84 і МУК 4.2.734-99 [30, 79]. Для забору повітря використовували апарат Кротова, з кожної точки в присутності хворих забирали по 100 л повітря (в триразовій повторності). Кількість грибів і бактерій в повітрі, які здатні рости на поживних середовищах, визначали в колонієутворюючих одиницях на 1 м³ (КУО/м³).

Засіяність лікарняного обладнання та рук медперсоналу вивчали, відбираючи стерильним тампоном змиви в пробірки з 1% пептонною водою з додаванням глюкози і наступним висіюванням на поживне 2% середовище Сабуро. Для пригнічення росту контамінуючих бактерій в середовище додавали антибіотики. Інкубацію проводили при 25°C упродовж 5-14 діб. Ідентифікацію виявлених грибів встановлювали шляхом вивчення морфологічних особливостей, які визначали за допомогою мікроскопії [120], з ідентифікацією до роду та виду за біохімічними показниками на тест-системі ID 32C (BioMerieux, Франція). Підрахунок колоній, що вирости,

здійснювали через 3-5 діб за типовими морфологічними ознаками.

Мікробну колонізацію катетерів (фрагментів судинного або уретрального) проводили кількісним методом, запропонованим Brun-Buisson [98]. Дистальний фрагмент катетера поміщали в стерильну пробірку, що містила 1 мл фізіологічного розчину. Потім пробірку струшували протягом 1 хвилини; отриману суспензію кількісно висівали на кров'яний агар і агар Сабуро. Решту матеріалу засівали в накопичувальне середовище на основі триптіказо-соєвого бульйону (bioMerieux, Франція).

Дріжджі ідентифікували на підставі фізіологічних властивостей мікроміцетів (тест на формування росткових трубок в сироватці крові великої рогатої худоби при 37°C), проводили повну видову ідентифікацію за біохімічними показниками на тест-системі ID 32C (bioMerieux, Франція).

Дослідження біотехнологічних особливостей режиму культивування проводили у ламінарному боксі, підтримуючи асептичні умови. Клітини грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* окремо культивували у пробірках з агаром Сабуро. Агар розплавляли на водяній бані та заливали по 10 мл в стерильні пробірки, які вкладали під кутом для збільшення площі висіву культури гриба. Пробірку з агаром витримували у термостаті протягом 24 годин при температурі 33°C та протягом 24 годин при температурі 25°C для перевірки агару Сабуро на стерильність візуально та методом мікроскопування. Далі клітини грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* окремо висівали у пробірку з агаром Сабуро, використовуючи петлю, яку перед висівом прожарювали у полум'ї горілки. Пробірки з висівами культивували у термостаті при температурі 25°C протягом 48 годин та перевіряли культури на мікробіологічну чистоту візуально та методом мікроскопування. Біомасу штамів грибів *Candida* змивали розчином ізотонічного стерильного 0,9% натрію хлориду по 5,0 мл на пробірку. Далі одержані клітини грибів *Candida* окремо культивували у матрасах. Для цього попередньо агар Сабуро розплавляли на водяній бані та по 150,0 мл заливали у стерильні матраси. Матраси з агаром витримували у термостаті протягом 24 годин при температурі 33°C та протягом 24 годин

при температурі 25°C для перевірки агару Сабуро на стерильність та методом мікроскопування. Далі попередньо одержані змиви з пробірок з агаром Сабуро культур грибів *C. albicans* 259 та *C. tropicalis* 366 окремо висівали у матраси з агаром Сабуро. Матраси з висівами культивували у термостаті при температурі від 21°C, 25°C, 30°C, 37°C тривалістю від 2 діб до 10 діб. Кожну добу відзначали кількість клітин грибів а також перевіряли культури на мікробіологічну чистоту візуально та методом мікроскопування. Одержані культури змивали 25 мл ізотонічного 0,9% розчину натрію хлориду, інтенсивно збовтуючи матрац до повного переходу клітин гриба з поверхні агару Сабуро до суспензії. Для визначення кількості клітин грибів в суспензії підраховували їх у камері Горяєва та за стандартним показником каламутності.

Ефективність модифікованого поживного середовища для первинного висіву дріжджоподібних грибів роду Candida проводили на середовище Сабуро і Сабуро з додаванням дріжджового екстракту (Сабуро+ДЕ), інкубацію проводили за температури 25°C (для середовища Сабуро) і 37°C для середовища Сабуро+ДЕ упродовж 3-6 діб. При наявності росту проводили мікроскопію і видову ідентифікацію виділених штамів грибів. Мікроскопічне дослідження дозволяло виключити гриби родів *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Malassezia* і інш. Потім визначали здатність штаму гриба утворювати трубки в сироватці крові при інкубації упродовж 2-3 годин за температури 37°C, що дозволило швидко ідентифікувати типові штами *C. albicans*. Якщо тест на ростові трубки був негативним, проводили повну видову ідентифікацію за біохімічними показниками на тест-системі ID 32C (BioMerieux, Франція).

Математичну обробку результатів дослідження проводили методами статистичної обробки. Для кількісних показників первинна статистична обробка включала у себе розрахунок середнього арифметичного (M), похибки середньоарифметичного значення (m), середньоквадратичного відхилення (σ). Для бінарних змінних або для шкали найменувань

виконувався розрахунок середнього проценту (p) за відомою формулою (2.2):

$$\bar{p} = \frac{n}{N} 100(\%) , \quad (2.2)$$

де n – кількість об'єктів, що має необхідну ознаку; N - загальне число об'єктів (загальне число вибірки).

Похибка середнього проценту (S_p) розраховувалась за формулою (2.3):

$$S_p = \sqrt{\frac{p(100-p)}{N}} \quad (\%) \quad (2.3)$$

Крім того, для всіх вибірок оцінювалась відповідність емпіричних розподілів нормальному закону (розподілення Гауса) за критеріями Колмогорова- Смірнова та χ^2 -Пірсона.

Відмінності між вибірками, що розподілені за нормальним законом, оцінювались за параметричним критерієм Стьюдента (t) (2.4):

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}}, \quad (2.4)$$

де \bar{x}_1 та \bar{x}_2 середні значення змінних шкали відношень або проценту вибірок, що порівнюються; S_1 та S_2 - відповідно показники відхилень одиничних значень від відповідних їм середніх величин (процентів). Достовірність відмінностей оцінювалась по рівню значущості p .

Для опису динаміки використовували регресійні моделі із підрахунком коефіцієнтів рівнянь та коефіцієнтів детермінації за Антомоновим [2]. Для первинної підготовки таблиць та проміжних розрахунків використовували пакет Excel. Основну частину математичної обробки проводили з використанням стандартних статистичних пакетів MedCalc та STATISTICA 10.0 [28].

РОЗДІЛ 3

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ ЦИРКУЛЯЦІЇ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ХВОРИХ ВІДДІЛЕНЬ БАГАТОПРОФІЛЬНОГО СТАЦІОНАРУ

3.1. Етіологія кандидозних інфекцій в біологічному матеріалі хворих багатoproфільного стаціонару

Інвазивні мікози, у тому числі кандидемія і гострий дисемінований кандидоз, є важливою проблемою сучасної медицини [17, 151, 176]. Вони характеризуються зростаючою частотою виникнення у різних категорій хворих, тяжкістю клінічних проявів і високою летальністю [93, 95, 114].

Фактично, гриби *Candida* знаходяться на четвертому місці за частотою виявлення серед виділених із крові мікроорганізмів. Гриби роду *Candida* є збудниками приблизно 15% всіх внутрішньогоспітальних інфекцій, більш ніж 72% всіх внутрішньогоспітальних мікозів, викликають від 8% до 15% всіх внутрішньолікарняних інфекцій кровотоку [111].

Протягом останніх десятиліть спостерігаються також зміни у видовому складі грибів роду *Candida*. З них найбільш поширених патогеном залишається *C. albicans*, однак виражена тенденція до зниження частоти його виділення з 80-90% (70-80 роки) до 40-60% (в наш час). У відділеннях інтенсивної терапії частота виявлення *C. albicans* становить до 48-63%. Співвідношення при кандидемії між *C. albicans* і *C. non-albicans* становить 36% і 64%. При цьому найвища частота смертельних випадків спостерігається при інфекціях, викликаних *C. glabrata* (45%), *C. tropicalis* (35%), *C. krusei* (30%) [124, 158, 178].

Гриби роду *Candida* відносяться до умовно-патогенних мікроорганізмів з високим рівнем носійства, Виділення грибів роду *Candida* з будь-якої анатомічної області є фактором ризику, проте в даний час недостатньо даних, що дозволяють встановити прогностичне значення конкретного ізоляту для

виникнення інфекції [32]. У людей *C. albicans* переважно колонізує поверхню слизових оболонок (ротоглотку, піхву). Травний тракт є головним резервуаром інфекції, при цьому *C. albicans* здатна колонізувати практично будь-яку частину тракту (від ротової порожнини до періанальних тканин). Вульвовагінальна область колонізована видами кандид у 40% здорових жінок.

Робота базувалася на комплексному мікробіологічному дослідженні зразків біологічного матеріалу від хворих, які перебували на лікуванні в різних відділеннях багатoproфільного стаціонару, включаючи 4 відділення реанімації та інтенсивної терапії. Виходячи з мети та задач дисертаційної роботи весь об'єм роботи було проведено у декілька етапів, на кожному з яких кількість зразків дослідного матеріалу варіювала, що було зумовлено специфікою та вимогами конкретних задач, поставлених для розв'язання. Так, на першому етапі досліджували поширення, частоту зустрічаваності, видовий склад та мікробіологічні асоціації дріжджоподібних грибів роду *Candida* у різному біологічному матеріалі від пацієнтів багатoproфільного стаціонару.

При аналізі отриманих даних, встановлено, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* упродовж періоду спостереження виділялися в діагностично значимих титрах в $6,4 \pm 0,3\%$ ($n=28137$) випадках дослідження різного клінічного матеріалу (мазки з ротоглотки, носа, вуха, жовч, сеча, виділення ран, урогенітальні виділення, біоптати та ін.). Причому в 2008 р. їх частота склала $5,9 \pm 0,5\%$ ($n=2730$), в 2009р. – $7,7 \pm 0,5\%$ ($n=3168$), в 2010 – $5,0 \pm 0,4\%$ ($n=3350$), в 2011 – $5,8 \pm 0,4\%$ ($n=2791$), в 2012 – $6,5 \pm 0,4\%$ ($n=3592$), в 2013 – $7,1 \pm 0,4\%$ ($n=4054$), в 2014 і 2015 – $6,5 \pm 0,7\%$ ($n=4146$) та $6,9 \pm 1,3\%$ ($n=4306$) відповідно (рис. 3.1, Додаток А).

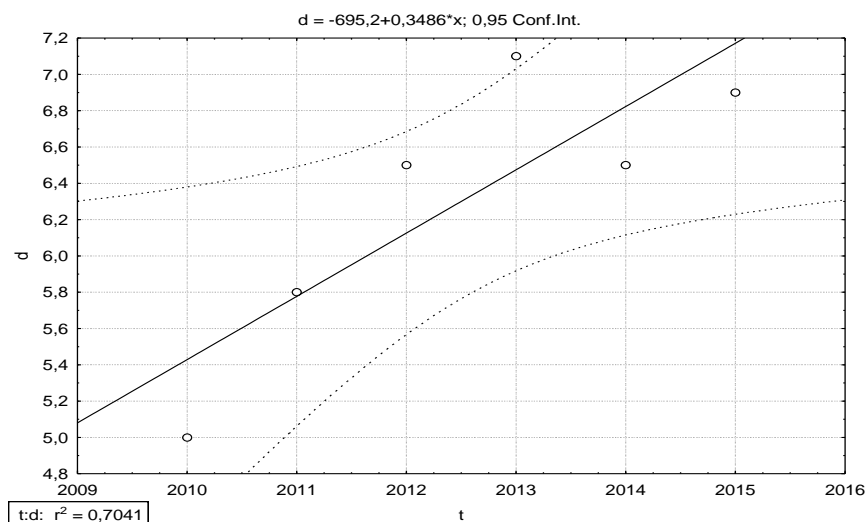


Рис. 3.1. Динаміка виділення грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу за роками

Отже, при дослідженні динаміки кількості грибів роду *Candida* за роками (2010-2015 рр.) з біологічного матеріалу від хворих спостерігали достовірний ріст. При цьому найбільший відсоток висівання був при дослідженні мазків із зіву – $17,2\% \pm 1,7\%$ ($n=3400$), жовчі – $15,6 \pm 2,3\%$ ($n=888$), в $12,7 \pm 3,0\%$ ($n=143$) – із вмісту гайморової пазухи (рис. 3.2).

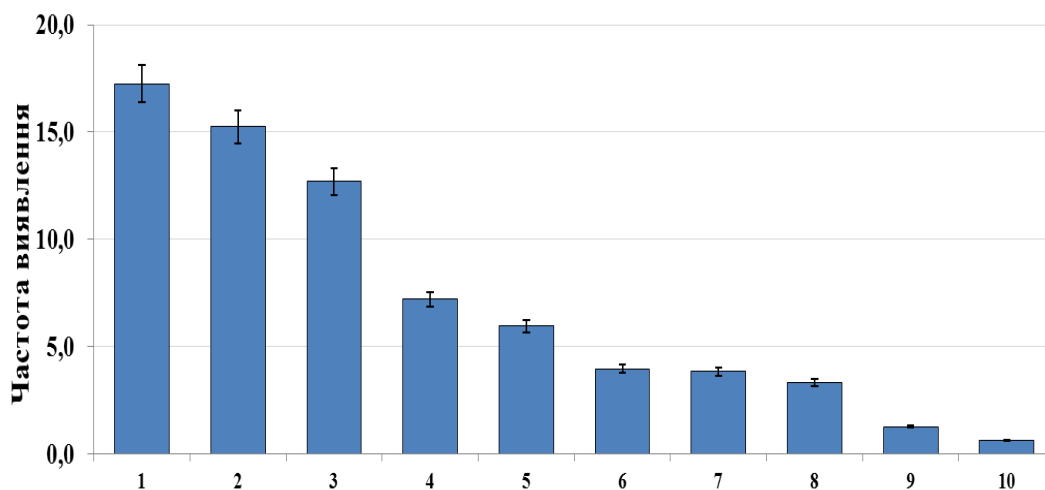


Рис. 3.2. Частота виділення *Candida* spp. із біологічного матеріалу (2008-2015 рр.): 1 – мазок із зіву, мигдалин, ротової порожнини, 2 – жовч, 3 – вміст гайморової пазухи, 4 – мазок із вуха, 5 – виділення із сечостатевих органів, 6 – сеча, 7 – виділення із ран, 8 – вміст черевної порожнини, 9 – мазок із носа, 10 – вміст кісти нирки, сечового міхура.

Оскільки дріжджоподібні гриби роду *Candida* найбільш часто виділялися при дослідженні зіву, мигдаликів, саме цей матеріал становить найбільшу небезпеку ендogenous поширення кандидозної інфекції у ВРІТ (рис. 3.3).

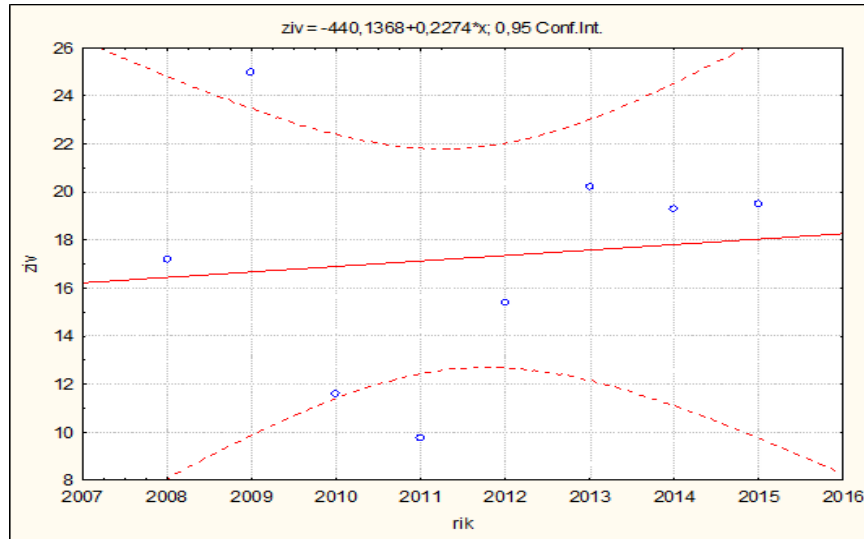


Рис. 3.3. Динаміка виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* spp. із зіву у 2008-2015 роках ($p=0,8$)

При аналізі розподілу ідикації грибів по годах слід відмітити , що процент віделення грибів роду *Candida* з таких біологічних матеріалів, як мазок із носу, та жовчи достоверно збільшувався ($p<0,05$) (рис. 3.4).

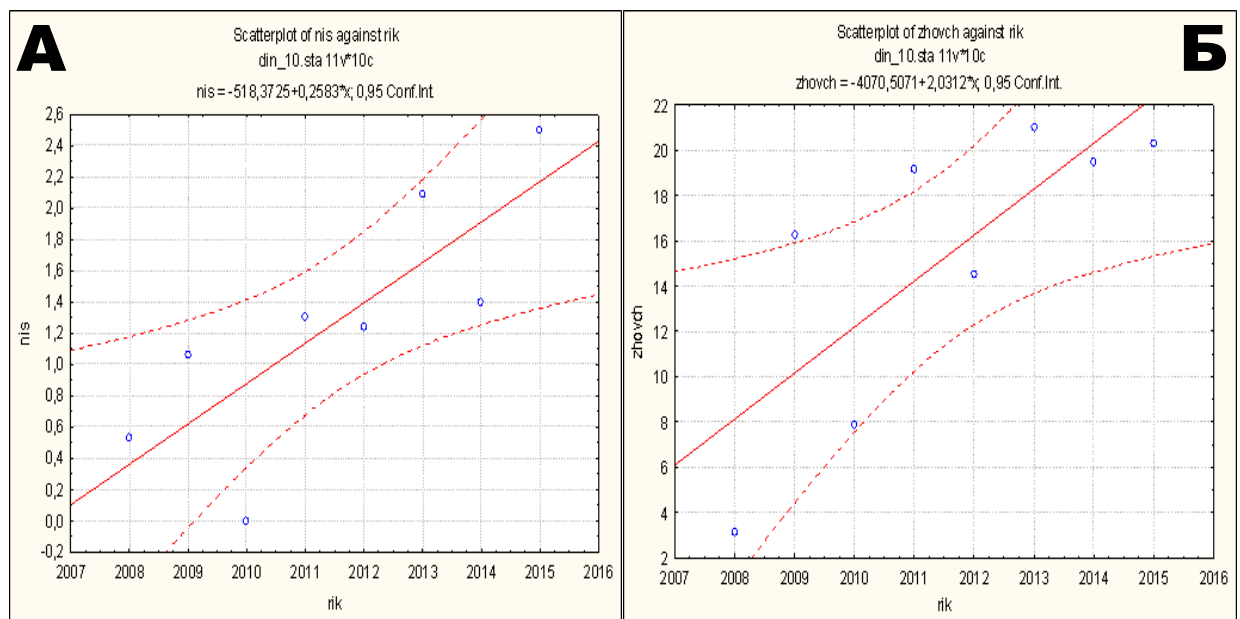


Рис. 3.4. Динаміка виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* spp. із носу (а) та жовчи (б) у 2008-2015 роках ($p<0,05$)

Аналізуючи частоту висівання *Candida* spp. упродовж періоду дослідження добре помітно, що частота висівання із таких біологічних матеріалів, як віділення із рани, сечи нединамічно підвищується ($p>0,05$) (рис. 3.5).

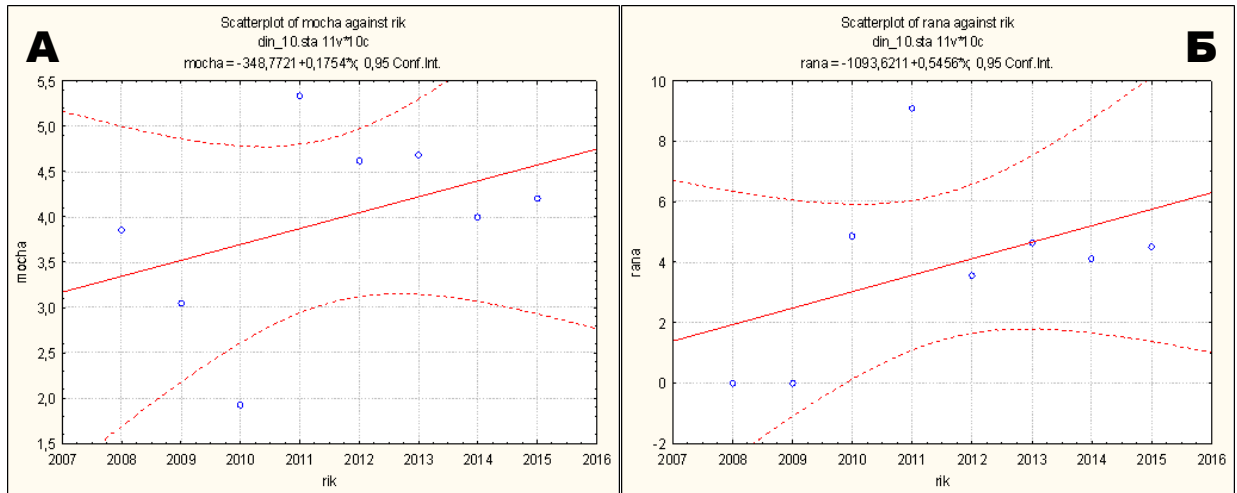


Рис. 3.5. Динаміка виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* spp. із сечи (а) та виділення із рани (в) у 2008-2015 роках ($p>0,05$)

Із крові гриби роду *Candida* були виділені в 73 випадках, що склало 1,1% від загальної кількості гемокультур ($n=6570$). При цьому кандидозна інфекція крові або гематогенно-дисемінований кандидоз найважча форма кандидозів і зазвичай супроводжуються високим рівнем летальності і значно збільшує тривалість перебування пацієнта в стаціонарі та зростанням вартості лікування.

При дослідженні мокротиння, частота виділення грибів роду *Candida* склала 8,3% (601 із 7203). При цьому із 601 випадків виділення лише в 154 (25,6%) гриби роду *Candida* були ізольовані в монокультурі. В інших випадках гриби виділяли в асоціації з бактеріальною флорою, представленою *Streptococcus pneumoniae*, *S. mitis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. у всіх цих випадках враховувалися лише ті бактеріальні асоціації, кількість яких була високою.

Гриби *Candida* spp. виділялися тільки з крові хворих, що знаходилися у ВРІТ; з мокротиння відсоток висівання від хворих з ВРІТ становив 34%; з іншого клінічного матеріалу лише 17% (рис. 3.6).

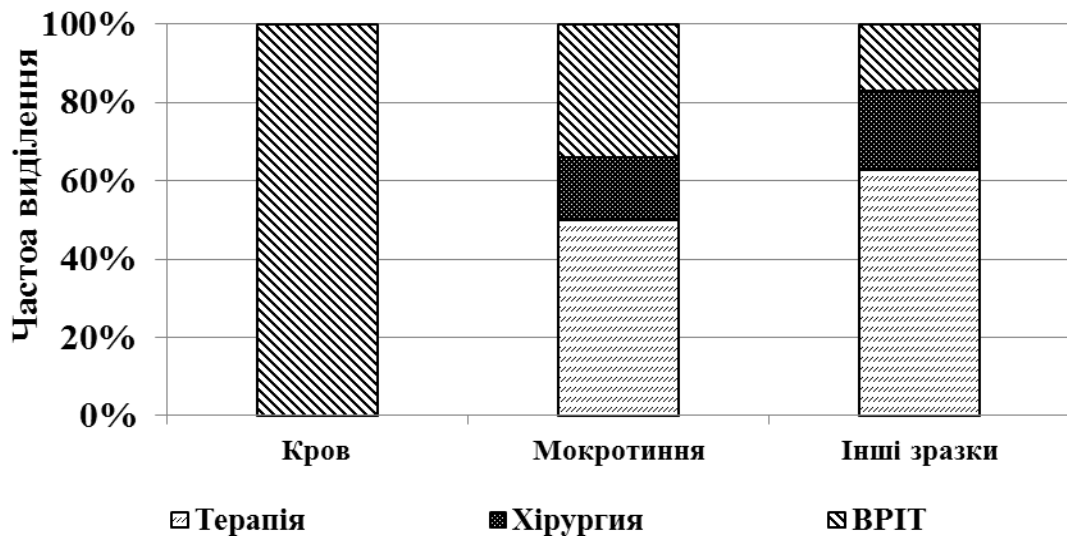


Рис. 3.6. Виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* (%) із відділень різного профілю

Отже, упродовж останніх 8 років (2008–2015) частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* знаходиться на приблизно однаковому рівні – $6,4 \pm 0,3\%$ і являє собою серйозну клініко-мікробіологічну проблему. Пацієнти відділень реанімацій та інтенсивної терапії продовжують складати основний контингент ризику розвитку кандидозної інфекції.

Дріжджоподібні гриби роду *Candida* найбільш часто за період спостереження виділялися в діагностичних титрах при дослідженні мазків із зіву, мигдаликів – в 17,2% випадків, причому саме цей матеріал становить найбільшу небезпеку ендогенного поширення кандидозної інфекції в умовах ГРВІ, провокуючи такі ускладнення як мікоз легень – важке захворювання котре розвивається найчастіше у імуноскомпроментованих осіб, та в пацієнтів що важко піддаються лікуванню.

При дослідженні вмісту жовчі і гайморової пазухи ці мікроорганізми ізолювані в 15,6% і 12,7% випадків відповідно, а з крові та моротиння – 1,1% та 8,3% відповідно.

3.2. Етіологічна вагомість *Candida* у структурі збудників внутрішньо-лікарняних інфекцій у відділеннях реанімації і інтенсивної терапії

Сучасна медицина володіє цілим арсеналом інвазивних технологій, які дозволяють забезпечити якісне медобслуговування. Однак, поруч із очевидними перевагами технологій, що неухильно крокують вперед, їх застосування провокує формування нових екологічних ніш для мікроорганізмів, які, в подальшому, стають причиною інфікування пацієнтів. Сприяє цьому і застосування широкого спектру антимікробних засобів, при цьому змінюється частота виявлення тих чи інших збудників, і, як наслідок, їх вага у виникненні нозокоміальних форм інфекцій [9, 17, 22]. Так, тільки роль дріжджоподібних грибів роду *Candida*, за різними літературними джерелами, склала більше 10% всіх випадків інфекцій у ВРІТ. При цьому, безумовно, більшість випадків представлено нозокоміальними формами інфекцій [9, 17, 22]. Вони характеризуються зростаючою частотою виникнення у різних категорій хворих, важкістю клінічних проявів і високою летальністю [17, 93, 95, 151, 176].

Для встановлення динаміки зміни частоти виявлення збудників ВЛІ і, можливого вкладу у розвиток ВЛІ дріжджоподібних грибів роду *Candida*, були проведенні дослідження видового складу мікроорганізмів, виділених із клінічного матеріалу хворих ВРІТ упродовж 2013-2015 рр.

За результатами досліджень 2013 р. в загальній структурі збудників ВЛІ у реанімаційних хворих більшу частину становили грамнегативні мікроорганізми – $39,4 \pm 2,5\%$ (таблиця 3.1).

Частка *P. aeruginosa* складала $20,6 \pm 2,1\%$, *S. aureus* і *S. epidermidis* – $12,8 \pm 1,7\%$ і $14,6 \pm 1,8\%$ відповідно. Дріжджоподібні гриби роду *Candida* викликали інфекції в $12,5 \pm 1,7\%$ випадків. Причому питома вага *Candida* spp. виявилася вищою, ніж *Enterococcus* spp. – $11,2 \pm 1,6\%$, *E. coli* $6,5 \pm 1,3\%$.

Таблиця 3.1

Структура збудників ВЛІ у ВРІТ багатопрофільного стаціонару, 2013 р.

Збудник	Загальна кількість позитивних зразків	Клінічний матеріал, у якому виявлено збудника							Частота виявлення, %
		кров	сеча	мокрота	зів	рана, дренаж	вухо, гайморова пазуха	ліквор	
<i>P. aeruginosa</i>	79	6	7	52	0	12	1	1	20,6±2,1
<i>S. epidermidis</i>	56	16	10	17	11	1	0	1	14,6±1,8
<i>S. aureus</i>	49	6	0	30	10	3	0	0	12,8±1,7
<i>Candida spp.</i>	48	17	12	16	3	0	0	0	12,5±1,7
<i>Enterococcus spp.</i>	42	14	23	4	0	0	0	1	11,2±1,6
<i>E. coli</i>	25	2	9	12	1	0	0	1	6,5±1,3
<i>S. saprophyticus</i>	17	1	5	5	4	1	1	0	4,4±1,0
<i>P. mirabilis</i>	14	0	7	7	0	0	0	0	3,7±1,0
<i>K. pneumoniae</i>	13	2	1	9	0	0	0	1	3,4±0,9
<i>K. oxytoca</i>	11	2	0	8	1	0	0	0	2,9±0,9
<i>Acinetobacter spp.</i>	9	3	2	4	0	0	0	0	2,3±0,8
<i>S. mitis</i>	7	0	0	7	0	0	0	0	1,8±0,7
<i>Neisseriae spp.</i>	4	0	0	4	0	0	0	0	1,0±0,5
<i>Trichosporon spp.</i>	4	0	4	0	0	0	0	0	1,0±0,5
<i>Corinebacter spp.</i>	3	0	2	1	0	0	0	0	0,8±0,5
<i>Aspergillus</i>	2	0	0	1	0	0	0	1	0,5±0,4
Всього	383	69	82	177	30	17	2	6	

Найбільш часто дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляли у крові, сечі і мокротинні. Аналізуючи розподіл збудників ВЛІ у 2014 та 2015 роках (таблиця 3.2, таблиця 3.3). Слід відмітити, що максимальну частоту виявлення, як і у 2013 р., демонструвала культура *P. aeruginosa*. Висока резистентність цього мікроорганізму до антибіотиків та значна розповсюдженість погіршують прогноз для хворого [55].

Таблиця 3.2

Структура збудників ВЛІ у ВРІТ багатопрофільного стаціонару, 2014 р.

Збудник	Клінічний матеріал, у якому виявлено збудника						Частота виявлення, %
	Загальна кількість позитивних зразків	кров	сеча	мокрота	зів	рана, дренаж	
<i>1</i>	2	3	4	5	6	7	8
<i>P. aeruginosa</i>	102	4	30	65	2	1	19,3±1,8
<i>S. epidermidis</i>	38	6	11	13	8	0	7,2±1,5
<i>S. aureus</i>	38	0	1	29	8	0	7,2±1,3
<i>Candida spp.</i>	58	5	14	27	12	0	11±1,8

Продовження табл. 3.2

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Enterococcus</i> spp.	76	6	59	5	0	6	14,4±1,3
<i>E. coli</i>	29	1	13	11	3	1	5,5±0,8
<i>S.saprophyticus</i>	20	1	3	16	0	0	3,8±0,9
<i>P. mirabilis</i>	17	0	7	9	0	1	3,2±0,8
<i>K. pneumoniae</i>	68	9	22	30	6	1	12,7±1,9
<i>K. oxytoca</i>	13	0	8	5	0	0	2,5±0,2
<i>Acinetobacter</i> spp.	54	10	9	33	0	2	10,2±1,9
<i>S. mitis</i>	9	0	0	9	0	0	1,7±0,4
<i>Neisseriae</i> spp.	4	0	0	4	0	0	0,7±0,1
<i>Trichosporon</i> spp.	3	0	3	0	0	0	0,6±0,1
Всього	529	42	177	252	39	12	

Таблиця 3.3

Структура збудників ВЛІ у ВРІТ багатопрофільного стаціонару, 2015 р.

Збудник	Клінічний матеріал, у якому виявлено збудника						Частота виявлення, %
	Загальна кількість позитивних зразків	кров	сеча	мокрота	зів	рана, дренаж	
<i>P. aeruginosa</i>	105	8	25	64	2	6	19,8±2,0
<i>S. epidermidis</i>	44	9	10	14	10	1	8,3±0,9
<i>S. aureus</i>	45	3	0	24	12	6	8,5±0,9
<i>Candida</i> spp.	75	15	18	36	6	0	14,2±1,3
<i>Enterococcus</i> spp.	65	7	48	5	0	5	12,3±1,4
<i>E. coli</i>	22	0	6	11	2	3	4,2±0,5
<i>S. saprophyticus</i>	33	6	11	13	3	0	6,3±0,7
<i>P. mirabilis</i>	12	0	3	8	0	1	2,3±0,3
<i>K. pneumoniae</i>	63	12	12	29	5	5	12±1,5
<i>K. oxytoca</i>	17	0	7	7	0	3	3,2±0,3
<i>Acinetobacter</i> spp.	21	8	2	6	0	2	4±0,5
<i>S. mitis</i>	11	0	0	11	0	0	2,1±0,1
<i>Neisseriae</i> spp.	5	0	0	5	0	0	0,9±0,2
<i>Trichosporon</i> spp.	5	0	5	0	0	0	0,9±0,1
<i>Corinebacter</i> spp.	4	2	0	2	0	0	0,8±0,1
<i>Aspergillus</i> spp.	1	0	0	1	0	0	0,2±0,1
Всього	528	68	142	228	40	32	

Частка ВЛІ, провокованих грамнегативними мікроорганізмами, при цьому різко зросла – до 50,9% у 2014 та 44,1 % у 2015 рр., таким чином, перевищивши показники 2013 р. на 11,5 % і 4,7 % відповідно (рис. 3.7).

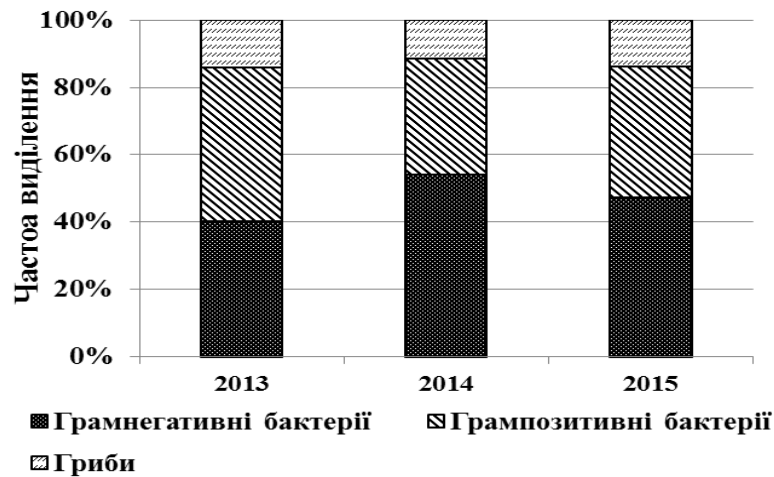


Рис. 3.7. Природа збудників ВЛІ у ВРІТ багатопрофільного стаціонару

Отже, зміна частоти виявлення збудників ВЛІ упродовж моніторингового періоду відбувається на користь грамнегативних мікроорганізмів, тим самим знижуючи частоту потенційної ефективності антимікробного ефекту, враховуючи вищу стійкість грамнегативних бактерій до антибіотиків [88].

Аналізуючи питому вагу *Candida* spp. у виникненні інфекцій, якої певної закономірної динаміки змін цих дріжджоподібних грибів в рамках тривалості дослідження, виявлено не було. В часовому розрізі показники частоти зустрічаваності *Candida* spp. 2013-2014-2015 рр. були 12,5-11-14,2 %.

Таким чином, максимальна частота зустрічі дріжджоподібних організмів припала саме на останній моніторинговий період забору та аналізу біозразків. При цьому питома вага *Candida* spp. перевищувала таку *Enterococcus* spp. і *E. coli* у 2014 р. Отже, за аналізований період частота виявлення *Candida* spp. залишається стабільно високою, навіть перевищуючи питому вагу *E. coli* (рис. 3.8). Найбільш часто дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляли у крові, сечі, мокротинні, у 2014 р. – у зіві.

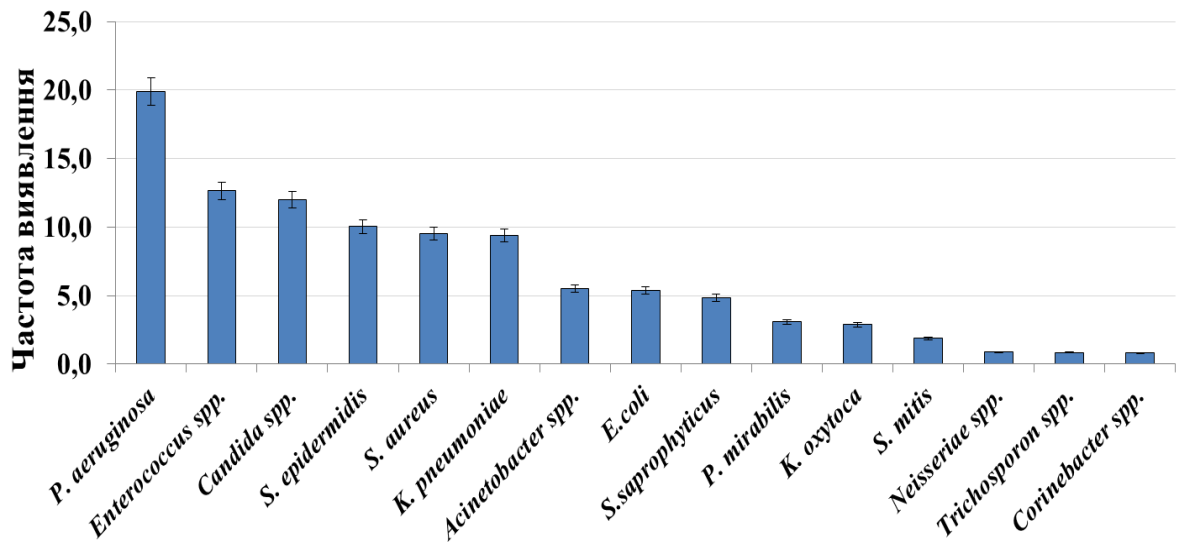


Рис. 3.8. Структура збудників ВЛІ у ВРІТ багатопрофільного стаціонару

Досліджуючи вміст біопатів на предмет інфікування умовно-патогенними організмами були встановлені не тільки структура опортуністичних організмів та їх видовий склад, але й гетерогенність комбінацій, що провокували ВЛІ. У всіх цих випадках враховувалися лише ті бактеріальні асоціації, кількість яких також досягала діагностичного титру (Додаток Б).

Відомо, що в мікробних асоціаціях між різними видами мікроорганізмів можуть виникнути складні і неоднозначні взаємини, що може мати істотний вплив, як на процес колонізації біологічних поверхонь, так і перебіг інфекційного процесу [80, 119, 179]. У літературі описані випадки симбіозу бактерій, що мають важливе медичне значення [146] та встановлено, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* здатні посилювати свої патогенні властивості в асоціації з бактеріями, приводячи до погіршення перебігу захворювання пацієнта аж до летального результату [7]. Аналізуючи частоту виділення грибів роду *Candida* в монокультури та дикомпонентних і гетерогенних асоціаціях, було встановлено, що гетерогенні асоціації (більше, ніж два види патогенів в межах одного клінічного матеріалу) виділяються із мокротиння (15,4%, рис. 3.9).

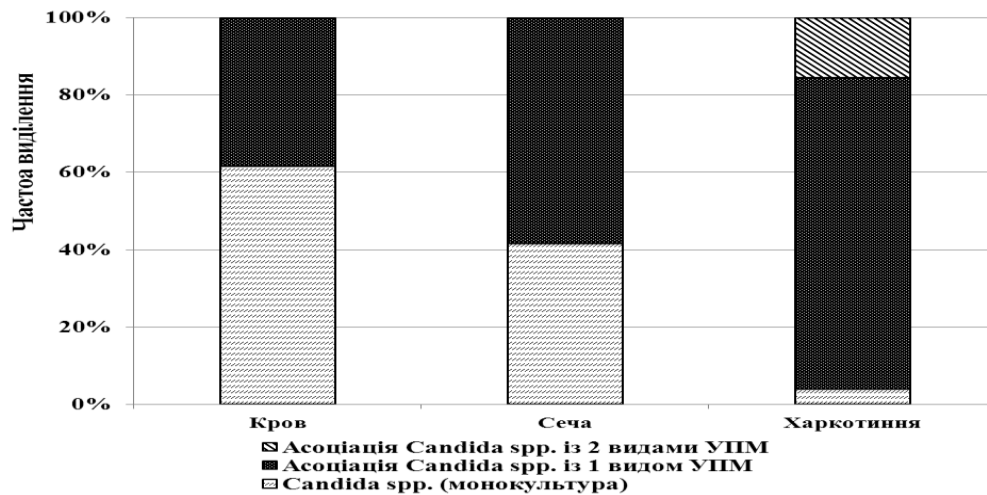


Рис. 3.9. Частота виділення грибів роду *Candida* в монокультурі і в асоціації з іншими умовно патогенними мікроорганізмами (УПМ)

Дикомпонентні асоціації грибів роду *Candida* характерні і для гемокультур (38,5%), і для сечі (58,3%), і для мокротиння (80,8%) При цьому найчастіше (в 19,2%) разом із *Candida* висіювалася культура *P. aeruginosa*. Зважаючи на те, що в асоціаціях мікроорганізми здатні до різного роду взаємовпливів, таких як синергізм або антагонізм, а патогенність, вірулентність і резистентність такої гетерогенної структури може кардинально відрізнятися від властивостей, що проявляли вихідні компоненти поодиноці, то високий відсоток грибково-мікробних асоціацій, встановлений нами в результаті досліджень, свідчить про майбутні труднощі дослідження у сфері кооперацій мікроорганізмів і пошук нових шляхів їх утилізації в системі *in vivo*.

Отже, роль грибів роду *Candida* у розвитку ВЛІ залишається незмінно високою, зумовлюючи 12,6% всіх інфікувань в структурі збудників ВЛІ. На частку грамнегативних бактерій припадало 47% всіх уражень, грампозитивних – 39%. Отже, гриби *Candida* spp., поряд із іншими мікроорганізмами, є основними збудниками ВЛІ. Найбільш часто дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляли у крові, сечі і мокротинні, причому в монокультурі виділено тільки у 37,9% випадків. У всіх інших випадках зразки виділялися в асоціаціях з бактеріальною мікрофлорою.

3.3. Видова структура виділених від хворих дріжджоподібних грибів роду *Candida*

Для вибору початкової протигрибкової терапії достатнім є проведення видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними по чутливості збудників до антимікотиків. Для грибів роду *Candida* це важливо, як ні для яких інших представників грибкових патогенів. Це пов'язано не тільки з тим, що визначення чутливості грибів є відносно витратною методикою, але і з досить прогнозованим рівнем чутливості штамів до існуючих препаратів.

За даними досліджень різних країн варіабельність внутрішньородового розподілу збудників грибів *Candida* spp. чітко корелює з географічним положенням. Незважаючи на те, що істотне збільшення частки *non-albicans* видів *Candida* spp., виділених при кандидемії у хворих у ВРІТ, зазначене в США протягом 90-х років минулого століття, полівекторні дослідження вказують на існуюче понині домінування *C. albicans* як збудника кандидемії у ВРІТ, частота виділення якої може сягати 60% [93]. Аналізуючи ситуацію в РФ найбільш частим збудником інвазивного кандидозу була *C. albicans*, однак частота виділення її склала лише 31%, при цьому більше 50% пацієнтів перебували у ВРІТ хірургічного профілю. На другому місці по частоті виявлення була *C. parapsilosis* (24%), а третє місце поділили *C. tropicalis* і *C. glabrata* (по 11%) [14]. Ці результати ще раз підкреслюють необхідність наявності локальних епідеміологічних даних, які лежатимуть в основі вибору антимікотичу для терапії ІК.

У зв'язку з цим було проведено аналіз видового складу дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу (2010-2015 рр). Результати наведені в таблиці 3.4.

Видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із біологічного матеріалу

Вид	Кров (73 зразка)		Мокротиння (601 зразок)		Інші клінічні зразки (1414 зразка)	
	кількість позитивних зразків	частота виявлення, %	кількість позитивних зразків	частота виявлення, %	кількість позитивних зразків	частота виявлення, %
<i>C. albicans</i>	38	52,1	523	87,0	893	63,2
<i>C. tropicalis</i>	12	16,4	29	4,8	146	10,3
<i>C. glabrata</i>	9	12,3	6	1,0	96	6,8
<i>C. parapsilosis</i>	6	8,2	5	0,8	38	2,7
<i>C. sake</i>	1	1,4	2	0,3	9	0,6
<i>C. lusitaniae</i>	1	1,4	0	0,0	0	0,0
<i>C. kruzei</i>	4	5,5	0	0,0	48	3,4
<i>C. kefir</i>	0	0,0	0	0,0	19	1,3
<i>C. guilliermondii</i>	0	0,0	0	0,0	15	1,1
<i>C. rugosa</i>	0	0,0	0	0,0	1	0,1
<i>Candida</i> spp.	2	2,7	36	6,0	149	10,5

Згідно отриманих даних, видовий склад грибів, виділених з різного біологічного матеріалу становили 10 представників роду *Candida*, з домінуванням *C. albicans* незалежно від локалізації отриманого для аналізу матеріалу (рис. 3.10).

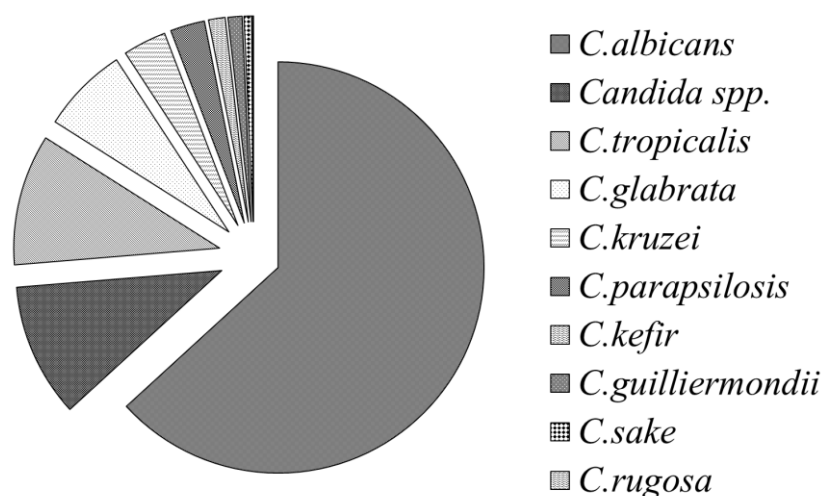


Рис. 3.10. Видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із різного біологічного матеріалу у пацієнтів

Аналізуючи видовий склад грибів роду *Candida*, виділених з крові від хворих, що знаходяться у відділенні ВРІТ, виявлено 7 видів грибів роду *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. lusitaniae* і *C. krusei* (рис. 3.11).

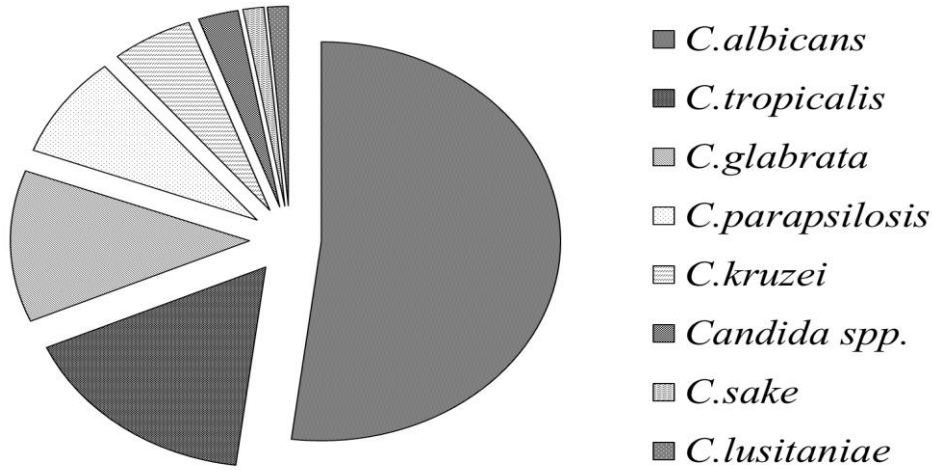


Рис. 3.11. Видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із крові

Причому частка *C. albicans* склала лише 52 %, висіювання *C. tropicalis* знаходилося в межах склала 17%.

При вивченні видового складу грибів, виділених з мокротиння, увагу привертає значна – 87% частка *C. albicans* (рис. 3.12), що підтверджує думку, що основним шляхом розвитку інфекції є ендогенний шлях. Штами видів *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. sake* і *C. krusei* виділяли тільки із мокротиння хворих ВРІТ.

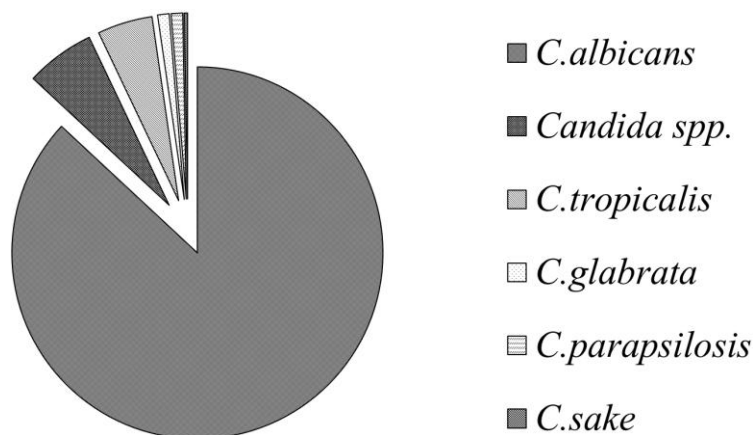


Рис. 3.12. Видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із мокротиння

Слід зазначити, що всі виділені нами штами клінічно значущі в плані провокування нозокоміальних інфекцій [141]. При цьому отримані дані не суперечать літературним, згідно яких *C. glabrata* та *C. albicans* становлять приблизно 70-80% від дріжджів, виділених від хворих з інвазивним кандидозом.

При цьому ідентифікація в якості збудника ІК *C. glabrata* є загрозовим явищем через його меншу чутливість до азолів і амфотерицину В. Виявляючи *C. krusei* слід пам'ятати про його стійкість до кетоконазолу і флуконазолу. Крім того, цей вид в цілому менш чутливий і до інших протигрибкових засобів, в тому числі ітраконазолу і амфотерицину В. Серед важливих збудників опортуністичних захворювань виявлених нами із гемокультур вид *C. lusitaniae*, і хоча частота виділення його була доволі низькою (1,4%), однак у терапевтичному відношенні він часто стійкий до амфотерицину В, хоча і піддається лікуванню азолами та ехінокандідами.

C. parapsilosis – це важливий провокатор ІК у госпіталізованих пацієнтів з судинними катетерами [141]. У процесі досліджень не було ідентифіковано *C. dubliniensis* – вид, який виявляють, в першу чергу у пацієнтів, позитивних на ВІЛ-інфекцію.

Отримані дані засвідчили: виділення грибів роду *Candida* є діагностично значущим; основним контингентом ризику розвитку кандидозної інфекції є пацієнти ВРІТ, і встановлено, що зсув у структурі ВЛІ відбувається за рахунок *C. non-albicans*. Своєчасне виявлення хворих – джерела кандидозної інфекції, – це перше вагоме попередження поширення такої хвороби. Таким чином, грибкові ураження кандидозного походження, поруч із бактеріальними збудниками, є основними етіологічними факторами ВЛІ. Отже, моніторинг етіології і частоти грибкової інфекції сьогодні не менш актуальний, ніж традиційний моніторинг бактеріальних інфекцій, особливо у ВРІТ.

Основні положення даного розділу відображені у працях автора [57, 58, 62, 63, 65, 68, 69, 70, 71, 72, 74, 78].

РОЗДІЛ 4

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА НЕБЕЗПЕКИ ЦИРКУЛЯЦІЇ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ВНУТРІШНЬОМУ СЕРЕДОВИЩІ БАГАТОПРОФІЛЬНОГО СТАЦІОНАРУ

4.1. Моніторинг внутрішнього середовища стаціонару щодо наявності грибів роду *Candida*

В останні роки кількість інвазивних грибкових інфекцій, що виникають у відділеннях ВРІТ, помітно зросла, як і рівень захворюваності мікозами в цілому [6]. Гриби роду *Candida* із рангу доволі рідко зустрічаємих патогенів стали одними з основних опортуністичних мікроорганізмів, здатних викликати внутрішньолікарняні інфекції. Фактично гриби *Candida* є збудником приблизно 15% всіх внутрішньогоспітальних інфекцій. Їх частка в загальній структурі інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, залежно від спеціалізації відділення, може досягати 30% [163].

Хірургічні втручання сприяють виникненню інвазивних мікозів та є одними з найважливіших факторів цього захворювання. Відомо, що частота кандидемії пацієнтів хірургічних ВРІТ становить 6,9 на 1000, що підвищує летальність на 20-49% [85]. При цьому внутрілікарняне інфікування пацієнтів ВРІТ грибами може мати як екзогенне (зараження від інших пацієнтів, персоналу, предмети догляду, медичне обладнання, з потоками повітря, рукомийник, тощо), так і ендогенне (мікробіота самого хворого) походження [23, 104, 113]. Інтенсивність контамінації лікарняного середовища є тим механізмом, який однозначно визначатиме рівень екзогенного шляху інфікування пацієнтів. При цьому навантаження, яке припадає на етіологію конкретного екзогенного патогена в умовах багатoproфільного стаціонару залишається мало вивченим.

У межах Національного Воєнного Медичного Клінічного Центру (НВКМЦ) «ГВКГ» МОЗ України, в рамках контролю за поширенням ВЛІ проводяться планові санепідеміологічні заходи, в тому числі лабораторний контроль протиепідемічного режиму і підтвердження ефективності дій, застосовуваних при боротьбі із ВЛІ. Основні положення цього процесу регламентовані вимогами МОЗ України «Про затвердження методичних рекомендацій «Хірургічна та гігієнічна обробка рук медичного персоналу» від 21 вересня 2010 р. № 798. [40], наказом № 552 від 11.08.2014 р. Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я» [39], наказом №181 от 04.04.2008 р. «Про затвердження методичних рекомендацій «Епідеміологічний нагляд за інфекціями області хірургічного втручання та їх профілактики» та наказом № 236 від 04.04.2012. (м. Київ) «Про організацію контролю та профілактики післяопераційних гнійнозапальних інфекцій, спричинених мікроорганізмами резистентними до дії антимікробних препаратів» [41]. При цьому роль як медичних виробів, так і внутрілікарняного середовища в якості джерела інфекції грибів роду *Candida* для пацієнтів вивчена фрагментарно, моніторинг на наявність грибкової флори у внутрішньолікарняному середовищі в плановому порядку не проводиться, тільки за епідеміологічними показниками.

Враховуючи сучасні тенденції зміни частоти та співвідношення виділених патогенів у біоптатах хворих багатопрофільного стаціонару, та враховуючи отримані нами дані з частоти індикації основних провокаторів нокозоміальних інфекцій у стінах стаціонару, зокрема той факт, що в структурі збудників ВЛІ дріжджоподібним грибам роду *Candida* належить вагома роль, встановили з якою ймовірністю джерелом розповсюдження ВЛІ у вигляді збудників кандидозних інфекцій можуть виступати поверхні, повітря, медичний інструментарій, та обладнання госпіталю. Тому упродовж 2015 року в рамках даної роботи досліджено 150 змивів із об'єктів зовнішнього середовища та проаналізовано 30 проб повітря і встановлен

рівень контамінації грибами роду *Candida* повітря, змивів, медичного інструментарію та обладнання у відділенні ВРІТ хірургічного профілю.

У процесі дослідження контамінації дріжджоподібними грибами роду *Candida* лікарняного середовища ВРІТ встановлено, що рівень забруднення перебував на позначці $10,7 \pm 2,5\%$ для змивів з об'єктів навколишнього середовища та $16,7 \pm 4,7\%$ для повітря (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1

Рівень контамінації дріжджоподібними грибами роду *Candida* об'єктів лікарняного середовища ВРІТ

Проби	Загальна кількість проб	Контамінованих зразків	Відсоток контамінації	Виявлені види грибів
Повітря	30	5	$16,7 \pm 4,7$	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i>
Змиви	150	16	$10,7 \pm 2,5$	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> <i>C. kruzei</i>

Показано, що частка грибів роду *Candida* у змивах, отриманих з об'єктів внутрішньолікарняного середовища у відділенні реанімації, склала $10,7 \pm 2,5\%$ (таблиця 4.2). Висока питома частка припадала на епідемічно значущі об'єкти: руки медичного персоналу – $13,3 \pm 6,2\%$ та апарат штучної вентиляції легень – $5,0 \pm 2,8\%$.

Таблиця 4.2

Рівень контамінації дріжджоподібними грибами роду *Candida* змивів з об'єктів лікарняного середовища ВРІТ

Об'єкти		ВРІТ хірургічного профілю			Виявлені види грибів
		Загальна кількість зразків	Кількість позитивних зразків	Відсоток контамінації	
Епідемічно значущі	Апарат ШВЛ	60	3	$5,0 \pm 2,8$	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. kruzei</i>
	Руки персоналу	30	4	$13,3 \pm 6,2$	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i>
Епідемічно незначущі (тумбочки, ліжка, дверні ручки, кран умивальника)		60	9	$15,0 \pm 4,6$	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i>

Звертає на себе увагу високий рівень забрудненості грибами дверних

ручок – 26,7%, що може бути зумовлено не стільки особливостями лікувально-діагностичного процесу, скільки підвищеною, порівняно з іншими об'єктами, частотою нестерильного контакту їх із поверхнею рук медперсоналу чи, в окремих випадках, рук пацієнтів.

Відносно нижчий рівень контамінації грибами роду *Candida* приліжкових тумбочок та спинок ліжок може бути зумовлений як періодичною обробкою зазначених поверхонь дезінфікуючими засобами, так і відносно нечастими фактами контактування хворих із цими поверхнями, адже пацієнти ВРІТ нерідко цілодобово перебувають на постільному режимі без змоги самостійно пересуватися.

На шкірних покривах рук медперсоналу рівень виявлення дріжджоподібних грибів був $13,3 \pm 6,2\%$, причому гриби роду *Candida* були виявлені тільки в змивах із рук молодших медсестер, що може свідчити про більш якісну обробку рук іншими співробітниками відділу ВРІТ.

Привертає увагу факт видової приналежності ізольованих грибів роду *Candida*: так, *C. parapsilosis* виявлені в змивах спинок ліжок, і з рук медперсоналу, і з апарату ШВЛ. Оскільки *C. parapsilosis* останнім часом вважається основним збудником мікозів шкіри і колонізатором епітелію, то клітини цього виду мікроорганізмів виявили скрізь, куди міг потрапити злущений епітелій.

Відомо, що підвищена вологість приміщень (в тому числі сирі стіни, не до кінця закриті крани, періодичне локальне надмірне зволоження) створює ідеальні умови для поширення мікроорганізмів. Очевидно, у лікарняних приміщеннях із достатнім сонячним освітленням, вищою температурою і нижчими показниками вологості умови для розвитку мікроорганізмів не такі сприятливі, про що свідчить майже повна відсутність росту грибів в чашках Петрі, змиви в яких отримані із кранів умивальників (лише один із змивів був позитивним при експозиції на чашці Петрі в цьому експерименті).

Особливе занепокоєння викликає видове різноманіття штамів, виявлених нами на апараті ШВЛ. Хоча рівень контамінації склав лише

11,6%, однак присутність на цьому обладнанні *C. kruzei*, всі штами якої є високоадгезивними а, отже, високопатогенними, є показанням для застосування ефективних заходів профілактики внутрішньолікарняної інфекції. На масці, трубці і відсмоктувачі ШВЛ виявлені також *C. albicans*, *C. parapsilosis*.

Аналізуючи проби повітря встановлено, що у 16,7% випадках має місце контамінація грибами роду *Candida*. У відповідності із нормативними документами, у приміщеннях класу А, куди відносяться палати інтенсивної терапії і реанімаційні зали, наявність пліснявих і дріжджоподібних грибів не допускається, а загальне мікробне число не повинне перевищувати 200 КУО/м³ до початку роботи і 500 КУО/м³ – під час роботи.

Отже, проводячи моніторинг повітря в межах лікувального закладу підтверджено важливе потенційне значення дріжджоподібних грибів роду *Candida* у розвитку ВЛІ, адже біоаерозолі здатні швидко розповсюджуватися повітрям, діючи в якості джерела збудників інфекційних захворювань. Важливість біоаерозолів полягає також у тому, що вони здатні спричинити не тільки інфікування імунокомпроментованих пацієнтів, але й різного роду алергії, при цьому грибковим ізолятам належить особлива роль, тому що вони діють як епідеміологічні маркери мікробної контамінації.

Аналізуючи видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із змивів та повітря лікарняного середовища ВРІТ, встановили, що провідна роль в контамінації належить *Candida albicans* – 65%. Другим за частотою виявлення був вид *C. parapsiolis* – 25% всіх випадків, на долю *C. kruzei*, *C. glabrata* припадало по 5 %, відповідно (рис 4.1).

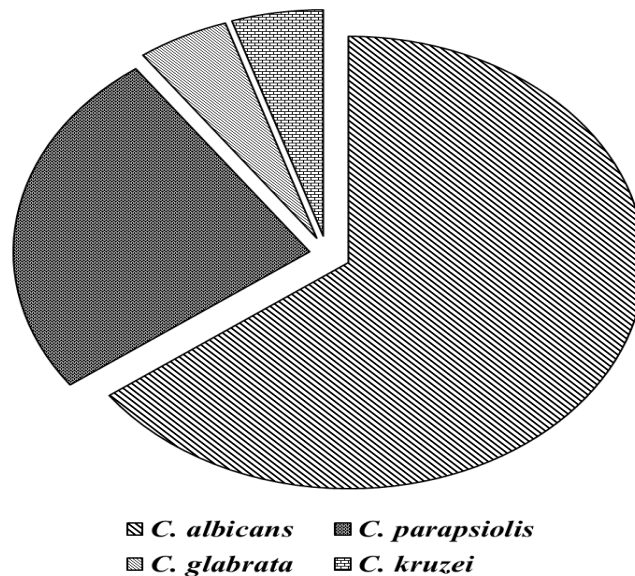


Рис. 4.1. Видовий склад дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із змивів з об'єктів лікарняного середовища у повітрі ВРІТ

Дані щодо максимальної частоти зустрічаємості *Candida albicans* у повітрі апелюють до встановленої раніше видової структури дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених із різних біоптатів, адже саме вид *Candida albicans* відігравав провідну роль в етіології грибних ВЛІ.

Джерелом потрапляння у повітря *C. parapsilosis* і *C. albicans* могли бути біологічні зразки, зокрема сеча, мокротиння та інші, адже їх аналіз виявив високі показники контамінації цими видами. Слід зауважити, що виявлений у повітрі рівень грибів *non-albicans* був доволі високим – 41,7%, що свідчить про зростаючу роль цих видів у патогенезі ВЛІ [Ошибка! Источник ссылки не найден.142, 147].

Отже, виявлено, що участь у контамінації внутрішньолікарняного середовища складають різні види *Candida*. При цьому рівень висіву цих грибів із повітря становить 11,7% з максимальною частотою висіву в передбоксах палат ВРІТ. У змивах, отриманих із лікарняного середовища ВРІТ частота висівування грибів роду *Candida* склала 10,7% з максимальним показником ідентифікації культур дріжджоподібних грибів на дверних

ручках – 26,7%, мінімальні показники – 5,0% були отримані для апарату ШВЛ.

У видовій структурі грибів переважав вид *Candida albicans*, на долю якого припадало 65% усіх ідентифікованих колоній. Видове різноманіття виявлених у повітрі грибів роду *Candida* представлене *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, у змивах ідентифіковано чотири види – *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei*.

Ці факти викликають обґрунтовану тривогу, адже серед виявлених видів зазначені стійкі до деяких антимікотичних препаратів і водночас високопатогенні, наприклад *C. krusei*, виявлений на апараті ШВЛ.

Отримана відмінна від нуля кількість ізолятів збудників кандидозної інфекції у лікарняних приміщеннях може бути пояснена виходячи із двох факторів: імовірно, висока частота виділення *Candida* spp. в межах лікарняного простору асоційована із постійним протіканням нозокоміальних інфекцій, вагому роль в яких останнім часом почали відігравати гриби роду *Candida*.

Характерно, що у процесі відбору та аналізу результатів по висіву грибів роду *Candida* встановлено факт забрудненості ними для всіх аналізованих нами найменувань, тобто не було жодної категорії де б жодного разу не виявили представників роду, що є свідченням практично всюдисущої засіяності лікарняного середовища грибами роду *Candida*. І оскільки контамінація зовнішнього середовища цими грибами може сприяти інфікуванню імуноскомпрометованих хворих, то отримані результати із відсоткового вмісту та видової структури збудників в межах лікарняного простору свідчать про те, що моніторинг на грибкову контамінацію необхідно включати в плановий графік обстеження внутрішньолікарняного середовища на наявність збудників ВЛІ.

4.2. Етіологічна вагомість дріжджоподібних грибів роду *Candida* у структурі збудників катетер-асоційованих інфекцій

Серйозною перепоною на шляху до швидкого одужання пацієнтів все частіше стають катетер-асоційовані грибкові та бактеріальні інфекції.

Використання центральних венозних катетерів пов'язано зі значним ризиком розвитку інфекційних ускладнень, найважчими з яких є інфекції кровотоку. Як правило, вони пов'язані з високою летальністю і значно збільшують перебування пацієнта в стаціонарі і зростання витрат на його лікування. Згідно даних, отриманими Європейською групою з сепсису (European Sepsis Group) у пацієнтів у ВРІТ, 28% катетер-асоційованих інфекцій відносять до сепсису, 24% – до важкого сепсису, 30% – до септичного шоку [83, 177]. Об'єднані в кластери мікроорганізми, в свою чергу, можуть бути причиною септичній емболії, внутрішньо лікарняного ендокардиту та ін. [176]. Інфекції сечовивідних шляхів – найбільш поширений тип внутрішньолікарняних інфекцій, хоча і не пов'язаний з такою високою летальністю, як катетер-асоційовані інфекції кровотоку. У США катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів реєструють у 449 334 пацієнтів на рік [135, 170].

Згідно з даними літератури, катетеризація сечового міхура може бути довготривалою (> 30 діб) і короткотривалою (< 30 діб), і впродовж цього терміну загроза інфікування пацієнта тільки зростає [121]. Вирішення проблеми ускладнюється тим, що для ефективного усунення причини інфекції слід ліквідувати його першоджерело, тобто сам катетер, що не завжди можливо з об'єктивних причин [133].

Іншою серйозною перепоною є той факт, що патогенна мікро- і мікофлора, яка колонізує вироби медичного призначення, здатна формувати кількісні біоплівки, завдяки яким резистентність мікроорганізмів як до антибіотико- так і антифунгальної терапії зростає [157]. Для розробки ефективних способів боротьби із патогенними мікроорганізмами, в першу чергу, слід визначити їх етіологію та видову приналежність, адже тільки у

цьому випадку стане зрозуміло, в який бік слід спрямувати подальшу роботу.

Для цього упродовж 2013-2015 рр. було вивчено структуру збудників катетер-асоційованих інфекцій та визначено частоту катетер-асоційованої кандидозної інфекції серед пацієнтів з уретральними (56 зразків) та судинними (периферичними і центральними) катетерами (180). Всі судинні та сечові катетери були вилучені на 7-10 добу після застосування.

Всього було виділено у судинних катетерах 106 (57,9%) культур від 180 обстежених хворих. Мікробні асоціації виділяли у 98 пацієнтів (55,6%), монокультури зокрема виділено у 4 пацієнтів (2,2%), а у 74 (42,2%) – мікрофлору не виявлено.

Етіологічна структура збудників, які колонізували судинні катетери представлена грампозитивними штамами бактерій у 50 (50,0%) випадках, у тому числі 35 (33,0 %) каталазопозитивні та 16 (15,1%) – каталазонегативні коки, а у 13 (12,3%) випадках – катетерасоційована інфекція була обумовлена грибами роду *Candida* spp.

Із зразків судинних (центральної та периферичної) катетерів також виділяли грамнегативні бактерії у 40 (37,7%) випадках, у тому числі 23 (21,7%) штами віднесено до неферментуючих мікроорганізмів і 17 (16,0%) – до ентеробактерій (рис. 4.2).

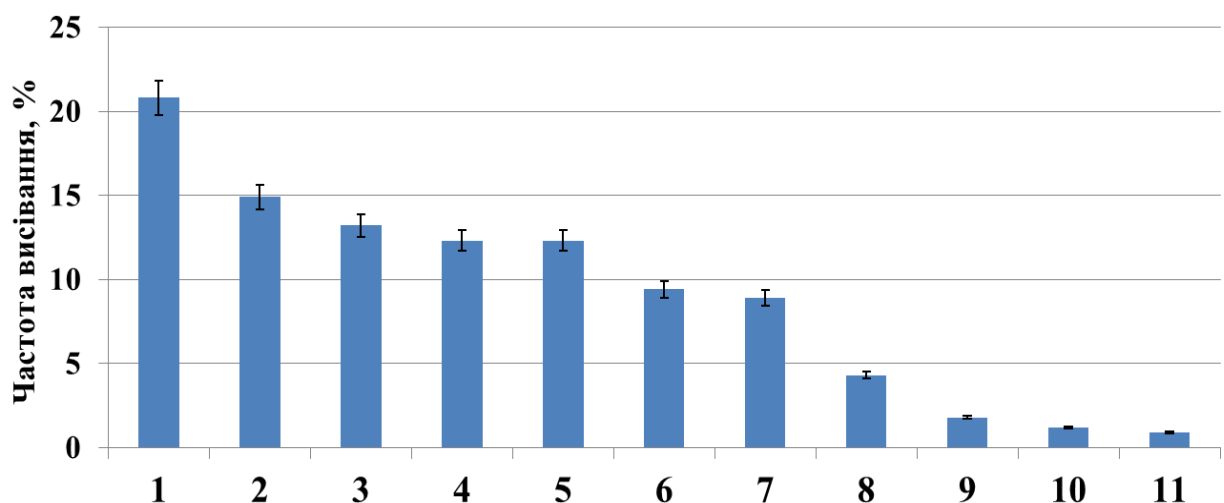


Рис. 4.2. Спектр мікроорганізмів, виділених із судинних катетерів: 1 – *S. epidermidis*, 2 – *Enterococcus* spp., 3 – *K. pneumoniae*, 4 – *Acinetobacter* spp., 5 – *Candida* spp., 6 – *P. aeruginosa*, 7 – *S. saprophyticus*, 8 – *S. aureus*, 9 – *E. coli*, 10 – *Corinebacter* spp., 11 – *K.oxytoca*.

Видовий склад ентеробактерій був представлений в основному *Klebsiella pneumonia* (13,2%), *Escherichia coli* (1,8%) та *Klebsiella oxytoca* (1 випадок). Частота виділення неферментуючих бактерій показана двома представниками *Acinetobacter baumannii* (12,3%) та *Pseudomonas aeruginosa* (9,4%).

Серед ГПБ, виділених у пацієнтів реанімації та інтенсивної терапії за досліджуваний період переважали збудники родини *Staphylococcaceae* – у 35 випадках, що становило 33,0% від загальної структури УПМ. Серед коагулазопозитивних стафілококів переважав *Staphylococcus aureus* 3,8% (4 випадки). Серед коагулазонегативних *St. epidermidis* – 20,8% (22 випадки) та *St. saprophyticus* – 8,5% (9 випадків). Серед каталазонегативних коків переважали *Enterococcus faecalis* – 16 (15,1%).

При вивченні стану колонізації сечових катетерів мікроорганізмами за досліджуваний період було виділено 44 (78,5%) культури від 56 обстежених пацієнтів. Мікробні асоціації виділяли у 43 випадках (97,7%), монокультури зокрема виділено у 1 випадку (2,3%), а у 12 (21,5%) – мікрофлору не виявлено (рис. 4.3).

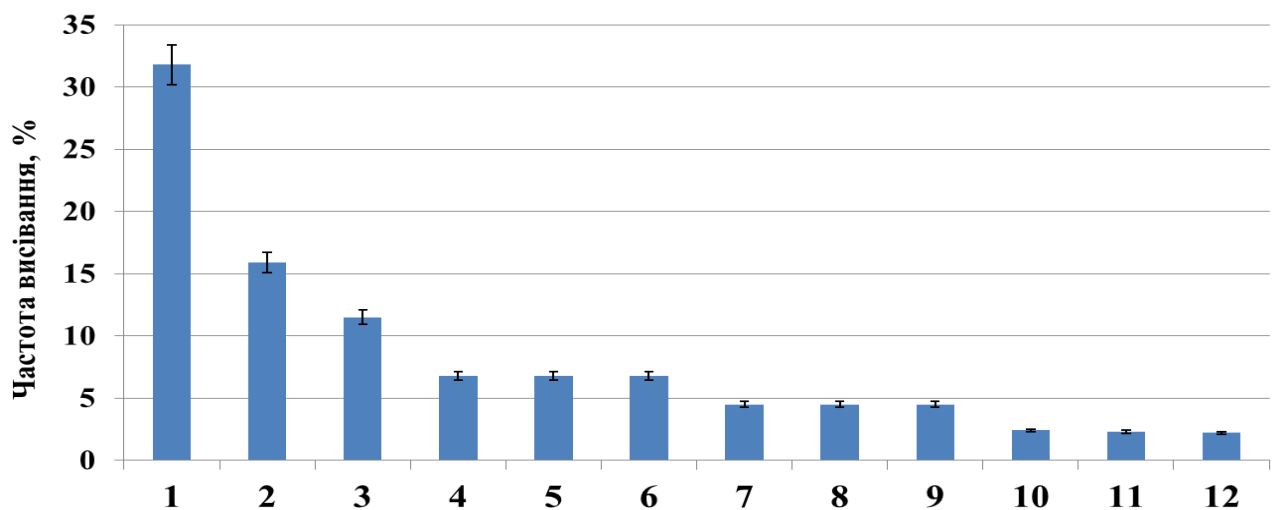


Рис. 4.3. спектр мікроорганізмів, виділених із сечових катетерів: 1 – *Enterococcus* spp., 2 – *P. aeruginosa*, 3 – *Candida* spp., 4 – *S. epidermidis*, 5 – *E. coli*, 6 – *K. pneumoniae*, 7 – *S. saprophyticus*, 8 – *P. mirabilis*, 9 – *K. oxytoca*, 10 – *S. aureus*, 11 – *Acinetobacter* spp., 12 – *Trichosporon* spp.

Найбільш поширеними збудниками сечовивідних шляхів ставали грампозитивні бактерії *Enterococcus* spp. В літературі описана здатність цих мікроорганізмів зберігати життєздатність упродовж тривалого часу та за екстремально низьких температур (при -70° С чиста культура може жити декілька років). Своєю поширеністю в природі цей рід завдячує також високою резистентністю до різних класів антимікробних препаратів та здатністю витримувати низькі значення рН середовища (рН 3,2-4,8 упродовж 15-30 хв). Частка *Candida* spp. при колонізації уретральних катетерів була вагомою – 11,5%.

Аналізуючи етіологічну структуру збудників після катетеризації слід відмітити доволі стабільну частоту інфікування сечовивідних шляхів *Staphylococcus saprophyticus* та *Staphylococcus epidermidis*. Якщо *S. saprophyticus* є типовим збудником ВЛІ, обумовлюючи переважно інфекції сечовивідних шляхів, то виявлення *S. epidermidis* можна пояснити здатністю деяких штамів цього мікроорганізму виробляти липку субстанцію і за її рахунок легко приєднуватися до матеріалу катетера [6, 11, 13].

Таким чином, частка *Candida* spp. була провідною при колонізації центральних та периферійних венозних катетерів – 12,3%, вагомою – 11,5% при контамінації уретральних та суттєво не відрізнялась ($p>0,05$).

Оскільки контамінація об'єктів цими грибами може сприяти інфікуванню імуноскомпрометованих хворих, то отримані результати із відсоткового вмісту та видової структури збудників в межах лікарняного простору свідчать про те, що моніторинг грибкової контамінації необхідно включати в плановий графік обстеження внутрішньолікарняного середовища на наявність збудників ВЛІ.

Основні положення даного розділу відображені у працях автора [56, 75, 77].

РОЗДІЛ 5

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ВИДІЛЕНИХ ДРІЖДЖОПОДІБНИХ ГРИБІВ
РОДУ *CANDIDA*5.1. Чутливість до антимікотиків дріжджоподібних грибів роду *Candida*

Профілактика та лікування кандидозної інфекції може суттєво відрізнятись в залежності від анатомічної локалізації інфекції, основного захворювання та імунного статусу пацієнта, факторів ризику, видів та біологічних властивостей грибів роду *Candida*, відповідальних за розвиток інфекції, їх чутливості до протигрибкових препаратів.

Слід зазначити, що чутливість грибів *Candida* spp. до існуючих антимікотиків частково передбачувана на основі видової ідентифікації. Збільшення частоти виділення видів *Candida non-albicans* з властивою їм зниженою чутливістю до азолів створює певні терапевтичні проблеми.

Таким чином, для вибору початкової антимікотичної терапії достатньо проведення видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними про чутливості збудників до антимікотиків. Це особливо важливо для грибів роду *Candida* в порівнянні з іншими представниками грибових патогенів. Цілеспрямоване визначення чутливості може бути необхідним для оптимізації терапії при недостатній клінічній відповіді.

В даний час проведено досить велику кількість локальних і міжнародних досліджень, метою яких було визначення чутливості виділених культур грибів до існуючих антимікотиків [91, 92]. Наступний етап був присвячений вивченню біологічних властивостей виділених штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida* та удосконаленню лабораторної діагностики кандидозної інфекції. Проведена робота по встановленню чутливості до антимікотиків дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з біологічного матеріалу у пацієнтів ВРІТ і відділень хірургічного

профілю з підозрою на інвазивний кандидоз.

Аналіз рівнів чутливості до антимікотиків показав, що резистентність усіх збудників ІК склала: 30% до флуконазолу, 18% до вориконазолу та 15% до амфотерицину, при цьому штами *C.albicans* виявляли майже однакову чутливість до флуконазолу, вориконазолу та амфотерицину – $84,2\pm 5,9\%$, $92,1\pm 4,4\%$ і $92,1\pm 4,4\%$ відповідно ($t=1,08$, $p>0,05$) (таблиця 5.1, таблиця 5.2, таблиця 5.3).

Таблиця 5.1.

Чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до флуконазолу

Вид	Всього	Кількість штамів		
		чутливі	помірно резистентні	резистентні
<i>C. albicans</i>	38	32	3	3
<i>C. glabrata</i>	15	0	7	8
<i>C. kruzei</i>	8	0	4	4
<i>C. kefir</i>	3	3	0	0
<i>C. tropicalis</i>	17	0	5	12
<i>C. sake</i>	2	1	1	0
<i>C. parapsilosis</i>	4	4	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	1	1	0	0

Також встановлено, що серед грибів видів *C. glabrata*, *C. kruzei* і *C. tropicalis* не було жодного чутливого штаму до флуконазолу.

Таблиця 5.2.

Чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до вориконазолу

Вид	Всього	Кількість штамів		
		чутливі	помірно резистентні	резистентні
<i>C. albicans</i>	38	35	0	3
<i>C. glabrata</i>	15	7	0	8
<i>C. kruzei</i>	8	8	0	0
<i>C. kefir</i>	3	3	0	0
<i>C. tropicalis</i>	17	12	0	5
<i>C. sake</i>	2	1	1	0
<i>C. parapsilosis</i>	4	4	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	1	1	0	0

Всі штами *C. sake* були стійкими до амфотерицину (таблиця 5.3.), при цьому інші види в тій чи іншій мірі були чутливими до цього препарату:

C. kruzei, *C. kefir*, *C. parapsilosis* та *C. lusitaniae* виявляли абсолютну, 100% чутливість, *C. albicans* *C. glabrata* і *C. tropicalis* – були чутливими у 92%, 80% і 59% випадках відповідно.

Таблиця 5.3

Чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до амфотерицину

Вид	Всього	Кількість штамів		
		чутливі	помірно резистентні	резистентні
<i>C.albicans</i>	38	35	0	3
<i>C.glabrata</i>	15	12	0	3
<i>C.kruzei</i>	8	8	0	0
<i>C.kefir</i>	3	3	0	0
<i>C.tropicalis</i>	17	10	0	7
<i>C.sake</i>	2	0	0	2
<i>C.parapsilosis</i>	4	4	0	0
<i>C.lusitaniae</i>	1	1	0	0

Майже половина штамів *C. kruzei* і *C. glabrata*, третина штамів *C. tropicalis* мали помірну стійкість до флуконазолу, інші штами даних видів виявилися стійкими.

Всі штами *C. kruzei* були чутливими до вориконазолу, *C. tropicalis* – в 70 %, а *C. glabrata* – в 47% випадках.

Штами *C. kefir*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* були чутливими і до флуконазолу і до вориконазолу і до амфотерицину.

C. sake володіли однаковою чутливістю до флуконазолу та вориконазолу, однак це єдиний вид, всі штами якого були абсолютно стійкими до амфотерицину.

Порівняння чутливості штамів видів *C. albicans* і *C. non-albicans* показало, що загалом штами *non-albicans* були менш чутливими до флуконазолу ($18,8 \pm 5,4\%$ чутливих штамів), ніж *C. albicans* ($t=8,3$, $p<0,001$) (рис. 5.1).

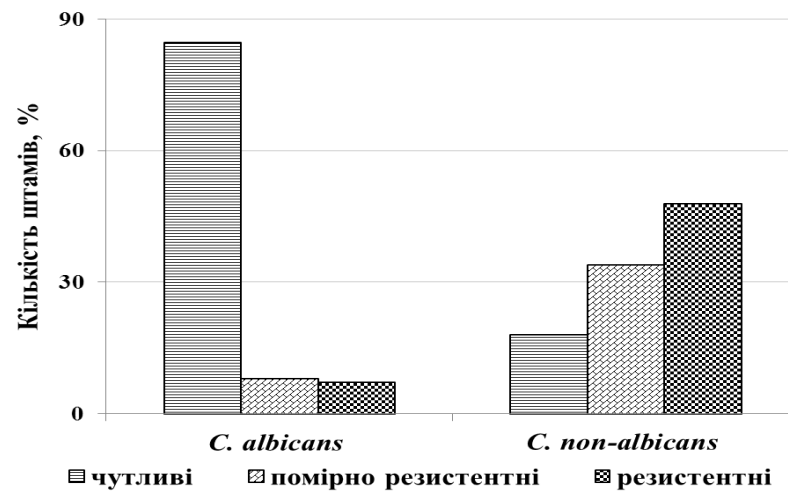


Рис. 5.1. Чутливість штамів *C. albicans* і *C. non-albicans* до флуконазолу

До вориконазолу було менше чутливих штамів *C. non-albicans* – $72 \pm 6,3\%$, ніж *C. albicans* ($t=2,6$, $p<0,01$) (рис. 5.2).

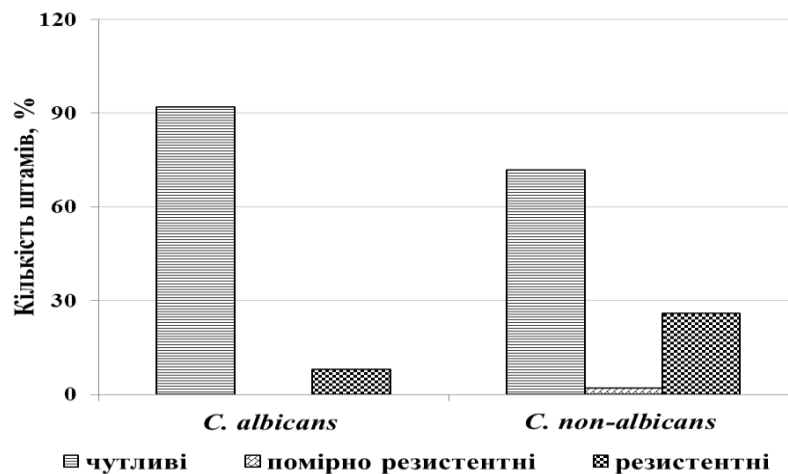


Рис. 5.2. Чутливість штамів *C. albicans* і *C. non-albicans* до вориконазолу

До амфотерицину було достовірно менше чутливих штамів *C. non-albicans* – $76 \pm 6,0\%$ ($t=2,2$, $p<0,05$) (рис. 5.3). За рівнем ефективності відносно всіх штамів амфотерицин був поряд із вориконазолом, недостовірно перевищуючи показники останнього.

Слід відмітити, що серед видів *C. albicans* *C. glabrata* *C. tropicalis* наявні штами, стійкі до усіх трьох застосовуваних протигрибкових препаратів, так для *C. glabrata* кількість таких штамів сягає, залежно від обраного препарату, 20-53%, для *C. tropicalis* – 29-70%.

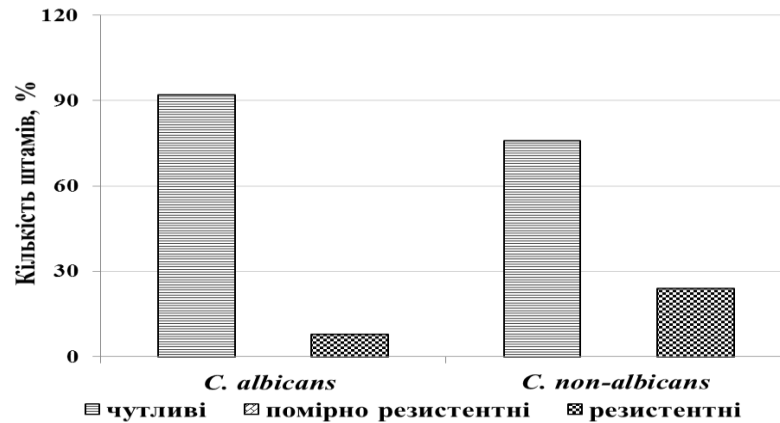


Рис. 5.3. Чутливість штамів *C. albicans* і *C. non-albicans* до амфотерицину

Таким чином, для вибору початкової антимікотичної терапії актуальним є проведення видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними про чутливість збудників до антимікотиків. Так, для видів *C. kefir*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* вибір препарату не складатиме труднощів, адже 100% штамів цих видів чутливі і до вориконазолу, і до амфотерицину, і до флуконазолу.

При ідентифікації *C. kruzei* із тестованих препаратів для терапії можна застосовувати амфотерицин або вориконазол, але не флуконазол, адже 100% штамів *C. kruzei* резистентні до цього засобу.

При наявності у виділеному біоптаті *C. albicans* в якості збудника ВЛІ для конкретно обраного пацієнта з метою терапії можна застосовувати амфотерицин, вориконазол і флуконазол, однак слід пам'ятати, що тільки 92%, 92% і 84% штамів кожного виду відповідно чутливі до препаратів.

Застосовувати для терапії при виявленні виду *C. glabrata* слід амфотерицин (80% штамів чутливі), або вориконазол (чутливими є 47% штамів), при виявленні *C. sake* – вориконазол (50% штамів чутливі) або флуконазол (50% штамів чутливі); *C. tropicalis* – амфотерицин (58% чутливі) або вориконазол (59% штамів чутливі до цього препарату).

5.2. Здатність до адгезії дріжджоподібних грибів роду *Candida*

Початковим етапом колонізації є адгезія, яка реалізується через різноманітні механізми розпізнавання патогеном (грибком) тканин господаря.

Загально визнано, що адгезія до епітеліальних клітин є основною передумовою й обов'язковим першим кроком у патогенезі багатьох бактеріальних і грибкових інфекцій. Поверхні слизових оболонок дихальних, шлунково-кишкових трактів, сечостатевого є основними шляхами проникнення мікроорганізмів, де вони можуть прикріпитися й зафіксуватися.

C. albicans здатна прикріплюватися до різних субстратів, таких як епітеліоцити слизових (букальні, вагінальні, термальні та ін.), ендотеліоцити, білки слини, бактерії нормальної мікрофлори та інертні поверхні (різні полімери, що використовуються для постійних медичних процедур - апарати, прилади, катетери). В даний процес залучені різні адгезини кандід і рецепторний апарат слизових оболонок організму господаря [96].

При цьому рівень чутливості до антимікотиків пов'язаний із здатністю останніх знижувати адгезивні властивості кандід, і таким чином припиняти їх персистенцію в макроорганізмі. Субтерапевтичні рівні антимікотиків знижують рівень персистенції кандід у організмі упродовж їх застосування шляхом зниження колонізації кандід, однак можуть бути неефективними для їх загальної елімінації. Тому логічним є дослідження адгезивних властивостей різних видів і штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Визначення адгезивної активності виділених культур *Candida* та їх штамів проводили з використанням формалізованих еритроцитів людини [5] та визначали за показником IAM, вважаючи, якщо IAM <1,75 – штам не адгезивний, 1,76-2,49 – низько адгезивний, 2,51-4,0 – середньо адгезивний, >4,0 – високо адгезивний.

Аналізуючи результати проведеного дослідження можна сказати, що серед природних штамів *Candida* spp. домінують штами з більш вираженими

патогенними (адгезивними) властивостями – на долю високоадгезивних штамів припадає 30,3%, середньоадгезивних 33,3% усіх проаналізованих штамів (рис. 5.4).

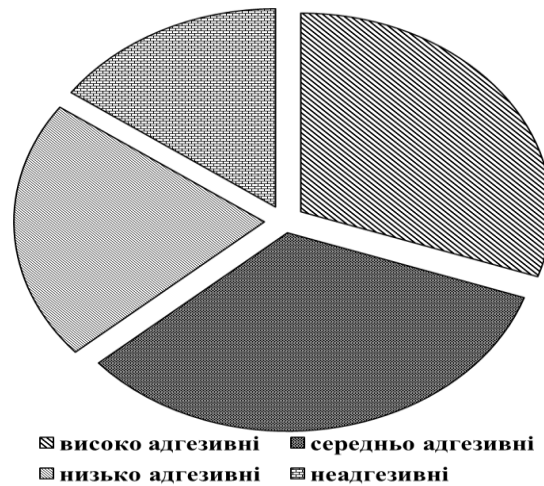


Рис. 5.4. Адгезивна активність *Candida* spp., виділених із різного біологічного матеріалу

Ці результати свідчать про те, що ідентифіковані культури проявляють високу здатність прикріплюватися до клітин людини. При цьому неадгезивні штами були виявлені тільки для видів *C. albicans*, *C. glabrata*, низькоадгезивні – *C. albicans*. Для таких видів, як *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. sake*, *C. lusitaniae*, *C. parapsiopsis* нами ідентифіковані штами з середньою та/або високою адгезивністю (рис. 5.5).

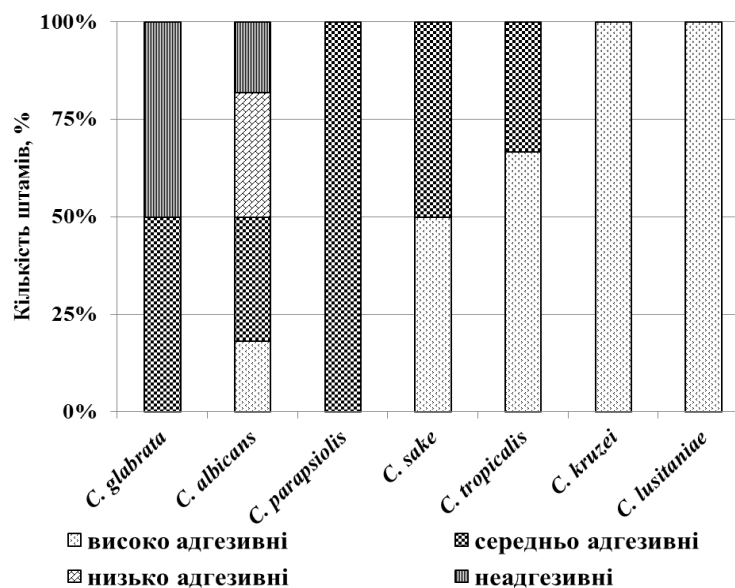


Рис. 5.5. Адгезивна активність штамів різних видів *Candida*

Аналізуючи розподіл штамів із різними адгезивними властивостями, добре помітно, що частка високоадгезивних штамів серед представників *C. non-albicans* достовірно перевищує таку серед представників *C. albicans* (у 3 рази), а отже, представники *C. non-albicans* є значно агресивнішими, порівняно із *C. albicans*, що викликає особливе занепокоєння на фоні поступового підвищення значимості видів *non-albicans* у провокуванні нозокоміальних інфекцій макроорганізмів.

Достовірно нижчим, практично в два рази, є також рівень штамів з відсутніми адгезивними властивостями (рис. 5.6).

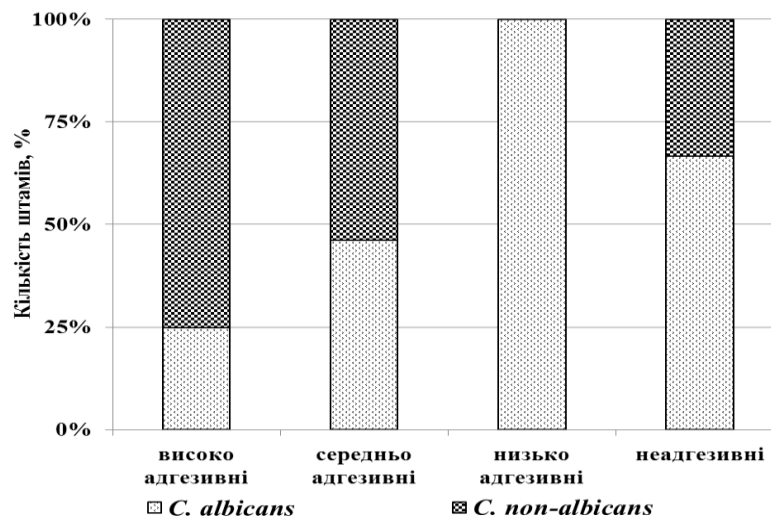


Рис. 5.6. Адгезивна активність штамів *Candida albicans* і *C. non-albicans*

Ці дані узгоджуються із експериментально встановленими нами рівнями чутливості до антимікотиків, демонструючи майже дзеркально-зворотне відображення графіків і підтверджують висловлену думку, що антимікотичному впливу піддаються більше штами із нижчим рівнем адгезії [96].

Характерно, що виключно високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виявлені нами в сечі та крові, тоді як у мазках із зіву та харкотинні виявляли і неадгезивні і низькоадгезивні штами (рис. 5.7). Оскільки адгезія є ключовим механізмом колонізації мікроорганізмів, то саме кров та сечові

шляхи за цим показником є воротами для тривалої персистенції, так як висока адгезія одна з обов'язкових передумов для цього.

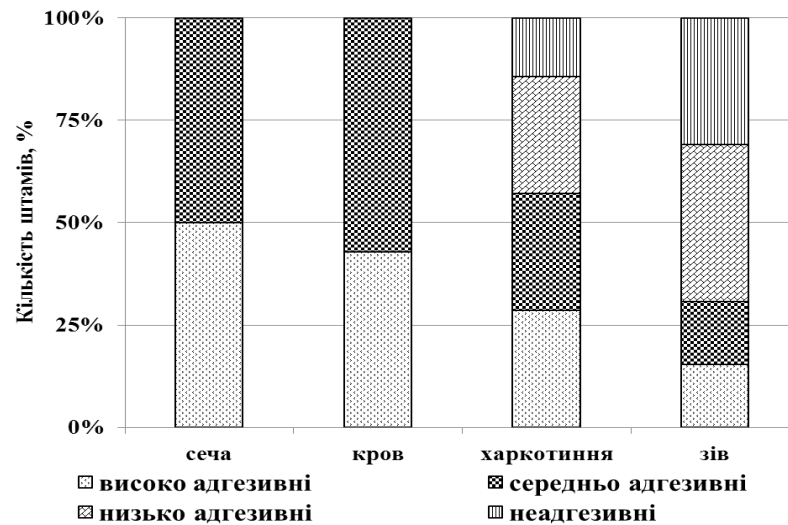


Рис. 5.7. Адгезивна активність грибів роду *Candida* в різних біологічних матеріалах

Саме в сечі нами виявлені штами із максимальними адгезивними властивостями: *C. albicans* №4, *C. tropicalis* №366, *C. albicans* №259, в крові високоадгезивними штамами були *C. krusei* №356, *C. albicans* №1, *C. lusitaniae* №168, в харкотинні *C. sake* №163, *C. krusei* №408 (Додаток В).

Таким чином, у комплексі пристосувань грибів роду *Candida* до колонізації клітин господаря прослідковуються і тканинноспецифічні риси адгезії, зумовлені місцем інфікування.

В середньому, максимальні показники адгезивності властиві штамам видів *C. krusei* та *C. sake*, мінімальні – *C. glabrata* (рис. 5.8).

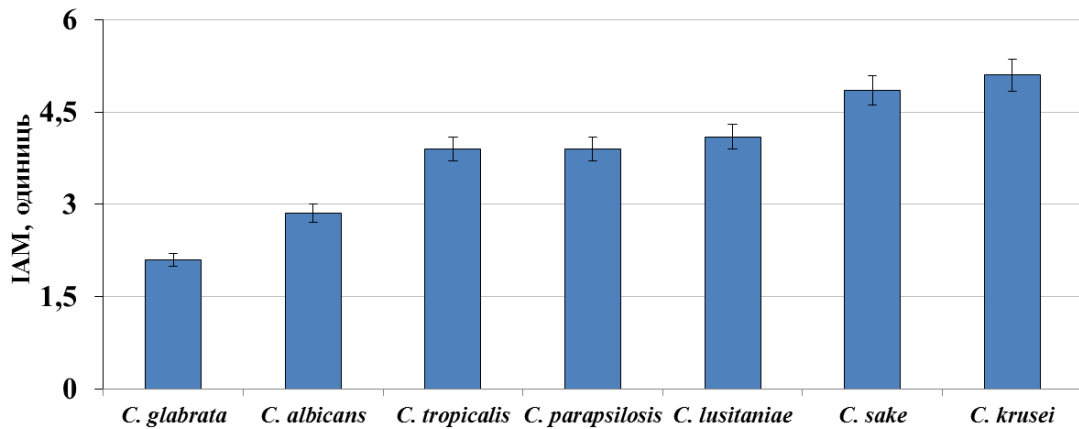


Рис. 5.8. Середні показники адгезивності грибів роду *Candida*

Від характеру взаємодій дріжджоподібних клітин із клітинами макроорганізму залежить міцність зв'язування патогенів та оборотність процесу колонізації а також подальший розвиток і перебіг інфекційного процесу. Характер адгезивного процесу можна відслідкувати при процесі спільної інкубації клітин *Candida* із клітинами крові. Чим вища кількість клітин *Candida* абсорбується на одному еритроциті, тим вищою є їх адгезивна здатність. При цьому можна визначити не тільки адгезивні властивості досліджуваних мікроорганізмів, але й морфологічні особливості цього процесу. Тому наводимо характер адгезивних властивостей досліджуваних мікроорганізмів отриманих на препаратах під світловим мікроскопом. Для візуального порівняння адгезивних процесів ми обрали види, які, згідно отриманих даних, найчастіше виступали провокаторами ВЛІ у відділенні ВРІТ – *C. albicans* і *C. tropicalis*.

На мікрофотографіях *Candida albicans* і *Candida tropicalis*, отриманих нами ми не виявили відмінностей в формі клітин грибів. Так, всі клітини *Candida* в полі зору були овальної або округлої форми, при цьому клітини *C. albicans* абсорбувалися на еритроцитах в кількості 2-6 клітин на один еритроцит, не утворюючи позаеритроцитарних скупчень. Клітини *C. tropicalis* навпаки, адгезувалися не тільки поверхнею еритроцитів (в кількості 1-6 штук на один еритроцит), але й взаємодіяли одна з одною, формуючи різнокаліберні гроноподібні структури, в склад яких могли входити дріжджоподібні клітини дещо відмінних розмірів (рис. 5.9).

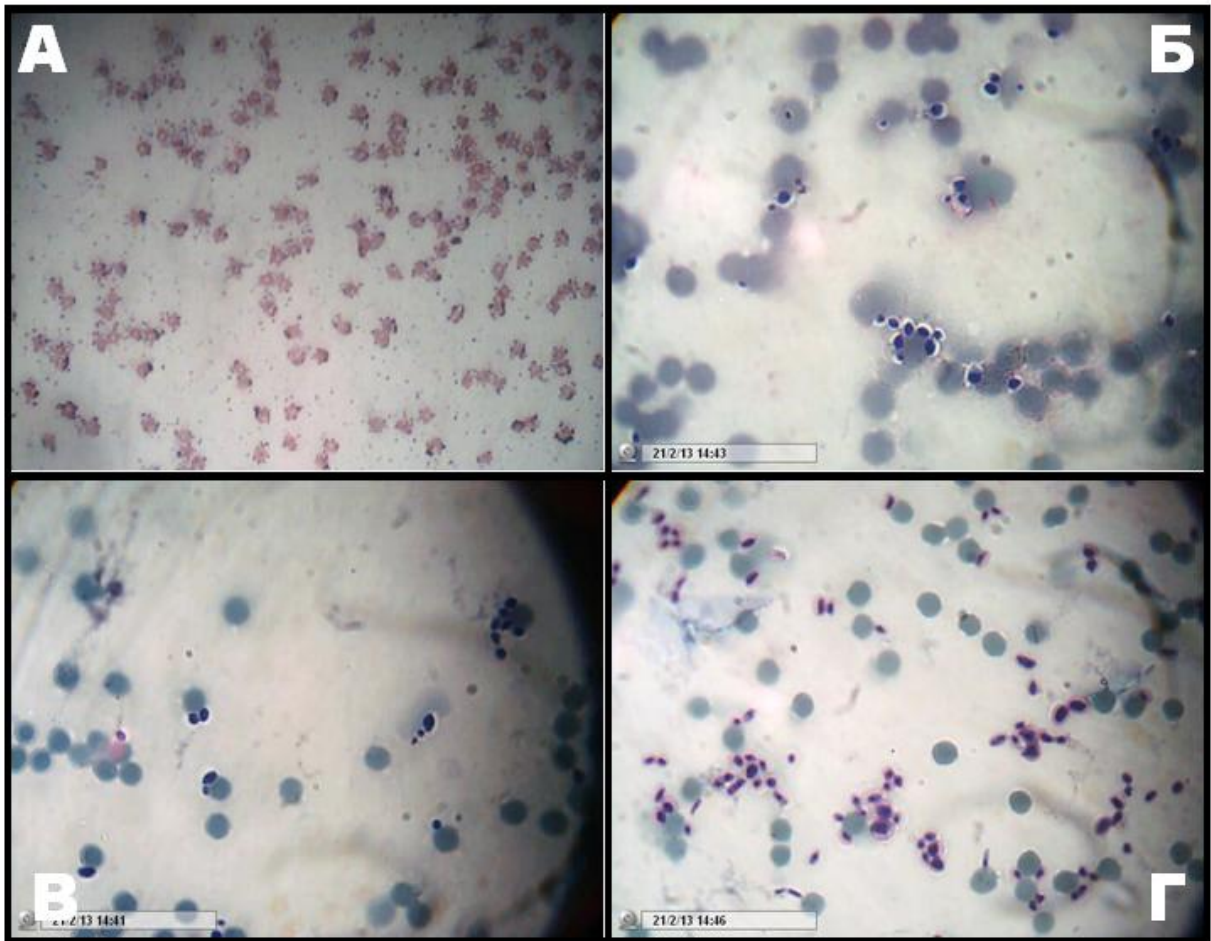


Рис. 5.9. Мікрофотографія адгезії грибів роду *Candida*:

А – *C. albicans*, збільшення в 400 раз, Б, В – *C. albicans*, збільшення в 1000 раз, Г – *C. tropicalis*, збільшення в 1000 раз.

Отже, досліджуючи адгезивні властивості виділених із різних біоптатів штамів виявили, що серед природних штамів *Candida* spp. домінують штами з більш вираженими патогенними (адгезивними) властивостями – на долю високоадгезивних штамів припадає 30,3%, середньоадгезивних 33,3% усіх проаналізованих штамів. Частка високоадгезивних штамів серед представників *C. non-albicans* достовірно перевищує таку серед представників *C. albicans*. При цьому неадгезивні штами були виявлені тільки для видів *C. albicans*, *C. glabrata*, низькоадгезивні – *C. albicans*. Для таких видів, як *C. kruzei*, *C. tropicalis*, *C. sake*, *C. lusitaniae*, *C. parapsioli* ідентифіковані штами з середньою та/або високою адгезивністю. Характерно, що виключно високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виявлені в

сечі та крові, тоді як у мазках із зіву та харкотинні виявляли і неадгезивні і низькоадгезивні штами, отже саме кров та сечові шляхи є воротами для тривалої персистенції грибів роду *Candida*. Саме в сечі були виявлені штами із максимальними адгезивними властивостями: *C. albicans* №4, *C. tropicalis* №366, *C. albicans* №259, в крові високоадгезивними штамами були *C. krusei* №356, *C. albicans* №1, *C. lusitaniae* №168, в харкотинні *C. sake* №163, *C. krusei* №408. Світлова мікроскопія адгезії високоадгезивних штамів *C. albicans* і *C. tropicalis* – найчастіших провокаторів ВЛІ у відділенні ВРІТ не виявила відмінностей в формі клітин грибів, але встановила морфологічні особливості адгезії для цих видів.

5.3. Здатність до формування біоплівок виділених дріжджоподібних грибів роду *Candida*

Гриби роду *Candida* здатні викликати широкий спектр інфекцій: від поверхневих захворювань шкіри і слизових оболонок до інвазивних процесів, які можуть вражати практично будь-який орган, часто утворюючи при цьому загрозу для життя хворих. При цьому фактором, що може утруднювати відповідь організму на антимікотичну терапію і стати перепорою на шляху до швидкого одужання є здатність як кандидів, так і бактерій утворювати плівки [139].

Мікроорганізми в біоплівках ізольовані від зовнішнього середовища, зокрема від проникнення антимікробних препаратів, та проявляють резистентність до антибіотиків і до факторів імунітету [100, 109, 110, 132, 166]. Так, для ерадикації біоплівок *C. albicans* необхідна в 30-2000 разів вища концентрація амфотерицину В, флуконазолу, інтраконазолу, кетоконазолу, ніж для дріжджових планктонних клітин [21, 153, 172].

Частина популяції мікроорганізмів здатна відокремлюватися від біоплівки, вона наділена більшою вірулентністю, ніж планктонні клітини і може призводити до гострої гематогенної грибкової інфекції [90, 175].

Здатність дріжджоподібних грибів роду *Candida* утворювати біоплівки є клінічно значуща, оскільки дана властивість є причиною персистентної кандидемії в результаті високої стійкості до традиційних антимікотичних препаратів [129, 174].

Тому визначення здатності формування біоплівок клінічними штамами грибів роду *Candida* виділених з різного біологічного матеріалу, є необхідною процедурою на даному етапі розвитку фармації, адже дозволить встановити потенційно резистентні штами і в, подальшому, підібрати ефективніші медикаментозні чи асептичні заходи ліквідації для конкретних патогенів, передбачити відповідь певного штаму на антимікотичну терапію чи скоригувати розрахунки давно застосовуваних препаратів.

Проаналізувано 33 штами грибів роду *Candida*, виділених з сечі (6), мокротиння (7), крові (7) та зіву (13) у пацієнтів, які перебували у відділенні реанімації та інтенсивної терапії.

Отримані результати засвідчили, що штами грибів роду *Candida*, виділені з однакових біотопів, відрізнялися за здатністю до утворення біоплівок (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Інтенсивність формування біоплівок штамами дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу

№ штаму	Культура	Біоматеріал	Оптична густина
1	2	3	4
366	<i>C. tropicalis</i>	сеча	0,95±0,03
4	<i>C. albicans</i>	сеча	0,48±0,02
258	<i>C. tropicalis</i>	сеча	0,38±0,10
248	<i>C. albicans</i>	сеча	0,26±0,04
259	<i>C. albicans</i>	сеча	0,94±0,04
404	<i>C. glabrata</i>	сеча	0,31±0,03
396	<i>C. glabrata</i>	мокротиння	0,15±0,01
391	<i>C. albicans</i>	мокротиння	0,33±0,06
378	<i>C. albicans</i>	мокротиння	0,09±0,01
376	<i>C. albicans</i>	мокротиння	0,25±0,04
408	<i>C. krusei</i>	мокротиння	0,68±0,08
163	<i>C. sake</i>	мокротиння	0,53±0,07
280	<i>C. albicans</i>	мокротиння	0,17±0,04
356	<i>C. krusei</i>	кров	0,50±0,04

Продовження табл. 5.4

1	2	3	4
1	<i>C. albicans</i>	кров	0,65±0,03
168	<i>C. lusitaniae</i>	кров	0,39±0,03
155	<i>C. albicans</i>	кров	0,14±0,03
156	<i>C. albicans</i>	кров	0,40±0,08
125	<i>C. parapsilosis</i>	кров	0,26±0,03
122	<i>C. sake</i>	кров	0,23±0,04
375	<i>C. albicans</i>	зів	0,36±0,07
373	<i>C. albicans</i>	зів	0,21±0,03
362	<i>C. tropicalis</i>	зів	0,45±0,01
361	<i>C. albicans</i>	зів	0,22±0,03
360	<i>C. albicans</i>	зів	0,43±0,08
400	<i>C. albicans</i>	зів	0,25±0,04
401	<i>C. albicans</i>	зів	0,36±0,04
394	<i>C. albicans</i>	зів	0,44±0,01
384	<i>C. albicans</i>	зів	0,42±0,02
402	<i>C. albicans</i>	зів	0,34±0,04
393	<i>C. albicans</i>	зів	0,21±0,02
374	<i>C. albicans</i>	зів	0,19±0,01
368	<i>C. albicans</i>	зів	0,15±0,06

Так, штами, виділені з сечі, утворювали біоплівку в межах від $0,95\pm 0,03$ до $0,26\pm 0,04$ ОД ОГ. Штами №366 та №4 утворювали майже в 4 рази більш кількісну біоплівку ($p<0,05$), ніж штамом №248 та в 3 рази ($p<0,05$), ніж штамом №404.

Найбільшу здатність до утворення біоплівки серед грибів, виділених з мокротиння, мав штамом №408 – $0,68\pm 0,08$ ОД ОГ, в 7,5 разів меншу біоплівку формували штамом №378 ($0,09\pm 0,01$ ОД ОГ), в 4 рази – штамом №280 ($0,17\pm 0,04$ ОД ОГ) та в 2,7 разів штамом №376 ($0,25\pm 0,04$ ОД ОГ) ($p<0,05$).

Серед штамів, виділених з крові, більшою здатністю утворювати біоплівку володіли штамом №1 ($0,65\pm 0,03$ ОД ОГ), ніж штамами №122, 155, 125, 168, виділені з того ж виду біоматеріалу ($p<0,05$). Виділені з зіву штами також мали різну здатність щодо утворення біоплівки, кількість її була в межах $0,15\pm 0,06$ – $0,25\pm 0,04$ ОД ОГ. Найбільшу, майже однакову кількість біоплівки утворювали штами №363, 360, 394, 384 ($p>0,05$), ніж штами №368, 400, 361, 373, 122, 125, 393, 374 ($p<0,05$).

При аналізі середнього значення кількості утвореної біоплівки штамами, виділеними з різних біоматеріалів (рис. 5.10), можна зазначити, що

найбільшою здатністю до утворення біоплівок володіли штами виділені з сечі ($0,55 \pm 0,12$ ОД ОГ), а найменшою – штами, виділені з зіву ($0,32 \pm 0,03$ ОД ОГ). Штами, виділені з мокротиння та з крові, мали середнє значення ($0,37 \pm 0,11$ та $0,43 \pm 0,07$ ОД ОГ). За даною характеристикою групи штамів між собою не відрізнялись ($p > 0,05$).

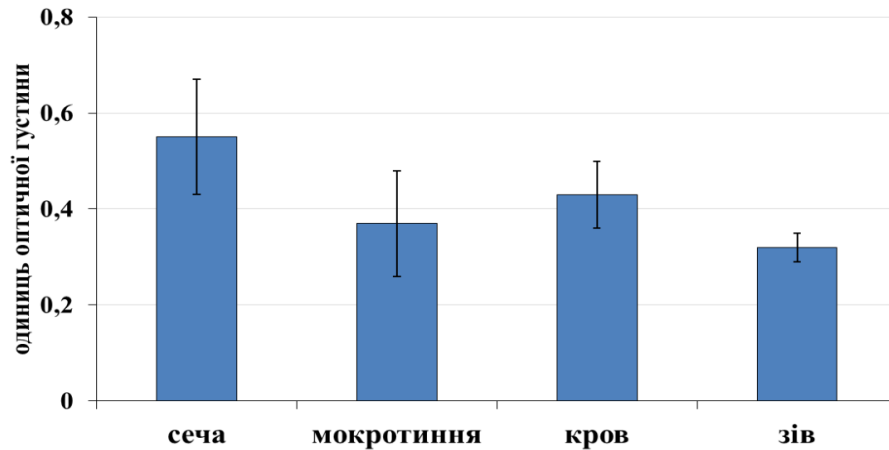


Рис. 5.10. Інтенсивність формування біоплівок штамами дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу

Таким чином, досліджені штами грибів, виділені з однотипного біологічного матеріалу, відрізняються за здатністю утворювати біоплівку, тобто цей показник є штамоспецифічним.

Найменшою здатністю утворювати біоплівку характеризувались штами, виділені з зіву, найбільшою – штами, виділені з сечі, але без достовірної різниці за даними показниками.

З іншого боку, досліджуючи формування біоплівок 33 штамами грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу, ми встановили, що для всіх них притаманна ця здатність, а отже питання виживання цих мікроорганізмів навіть у агресивному середовищі повинне бути враховане при проведенні відповідної терапії.

Виходячи із міркувань, що перший та необхідний етап у формуванні бактеріальних біоплівок – це адгезія, закономірними були дослідження адгезивних властивостей дріжджоподібних грибів роду *Candida* та порівняння із відомою здатністю до формування біоплівок.

Для встановлення співвідношення між здатністю до адгезії та спроможністю формувати біоплівку були обрані штами з низькою адгезивністю (№ 374, 368) (ІАМ від 1,76 до 2,5), із середньою – штами №375, 391, ІАМ від 2,51 до 4,0, і з високою адгезивною активністю – №259, 366 – ІАМ більше 4,0.

При інкубації протягом 24 год лише штами №259, 366 (із високим ступенем адгезивності) формували більш кількісну біоплівку ($0,43 \pm 0,04$ та $0,51 \pm 0,02$ ОД ОГ) порівняно з іншими штамами ($p < 0,05$). Серед штамів з низьким та середнім ступенем адгезивності більшу біоплівку утворював №375 ($p < 0,05$). Практично однакову у кількісному вимірі біоплівку утворювали решта штамів (діапазон коливань $0,09 \pm 0,01$ – $0,12 \pm 0,03$ ОД ОГ).

Через 48 год відзначали збільшення біоплівки у всіх штамів, але статистично достовірними відмінності були тільки для штамів №259, 366 (із високим ступенем адгезивності). Штами з середнім ступенем адгезивності утворювали майже в 2 рази більш кількісну біоплівку, ніж штами з низьким ступенем адгезивності, але без достовірної різниці. Найбільша здатність до формування біоплівки була у високоадгезивних штамів №259, 366, штами з середнім ступенем адгезивності утворювали більшу кількість біоплівки порівняно з штамами з низьким ступенем (рис. 5.11).

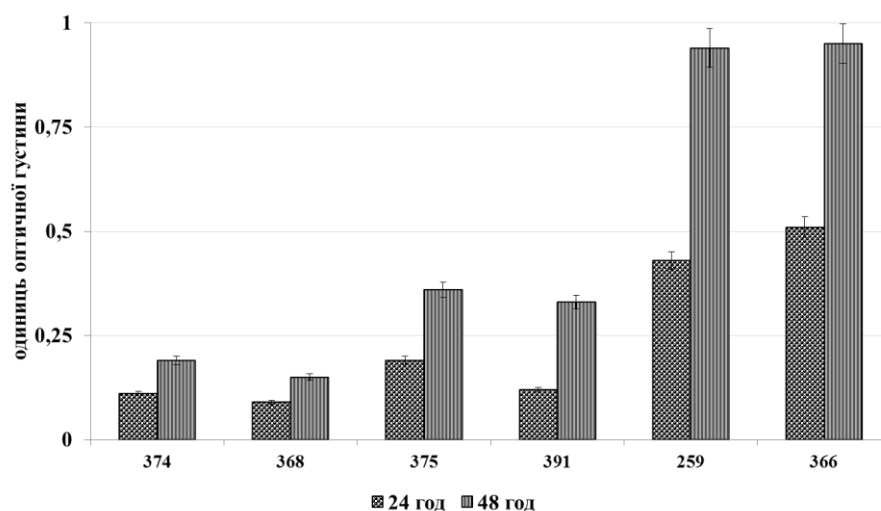


Рис. 5.11. Інтенсивність формування біоплівок, утворених штамами дріжджоподібних грибів роду *Candida* з різними ступенями адгезивності за 24 та 48 годин

Отже, можна визначити, що штами з високим ступенем адгезивності формують більш кількісну біоплівку, ніж штами з середньою та низькою адгезивністю. В умовах *in vitro* досліджені штами дріжджоподібних грибів роду *Candida* формують більш кількісну біоплівку протягом 48 год, ніж за 24 год.

Таким чином, штами №259, 366, для яких характерна і висока адгезивність, і висока здатність до формування біоплівок, потребують, у разі їх виявлення, ретельного підходу при проведенні антимікотичних заходів.

Оскільки штами №259 та №366 із досліджених нами є найбільш патогенними, внаслідок встановлених нами їх особливостей, ми вирішили перевірити мікроскопічні особливості формування біоплівки дріжджоподібними грибами *C. albicans* №259 на сегментах силіконового катетера.

Для цього інкубували фрагменти силіконового катетера із клітинами *C. albicans* №259 отриманого із сечі хворого ВРІТ та досліджували через 24 і 48 годин методом скануючої електронної мікроскопії.

Встановлено, що особливістю біоплівки *C. albicans* є суміш морфологічних форм, що було вперше помічено за допомогою СЕМ, і показано, що прикріплення клітин дріжджів починається після 3-6 год а через 24 години формуються мікроколонії – щільне розташування мікробних клітин, яке виникає через клітинний поділ (рис. 5.12).

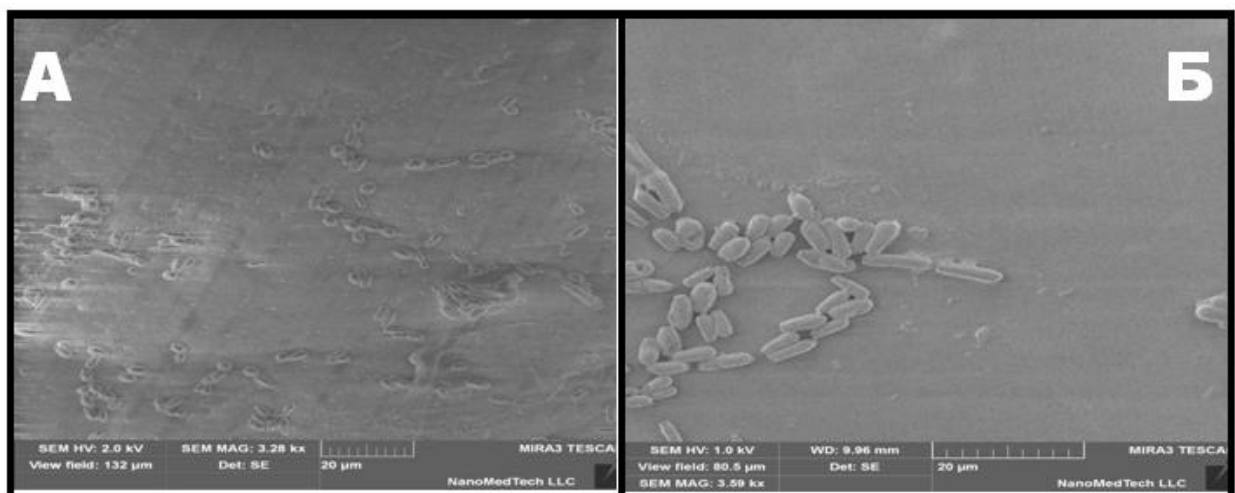


Рис. 5.12. Формування мікроколоній *C. albicans* 259 на поверхні силіконового матеріалу *in vitro* упродовж 24 годин

Примітки: А збільшення в 10000 раз, Б – збільшення в 30000 раз

А повністю зрілі біоплівки утворюються після інкубації упродовж 48 год, і складаються з щільної мережі спорових клітин дріжджів, гіфів і псевдогіфів (рис. 5.13).

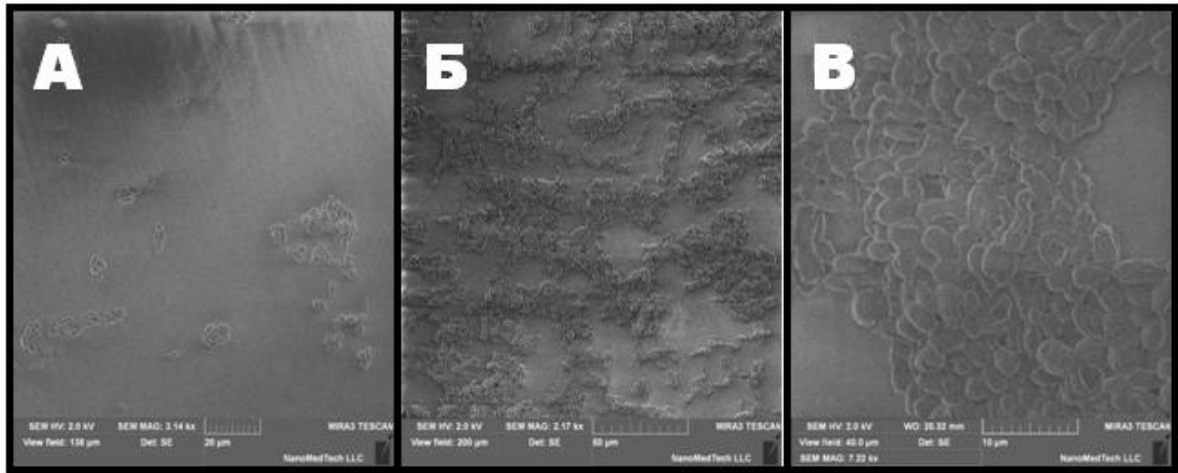


Рис. 5.13. Формування агломератів *C. albicans* 259 на поверхні силіконового матеріалу *in vitro* упродовж 48 годин

Примітки: А, Б збільшення в 10000 раз, В – збільшення в 30000 раз

Отже, за допомогою СЕМ нами встановлено формування мікроколоній *C. albicans* №259 упродовж 24 годин та формування агломератів *C. albicans* №259 упродовж 48 годин на поверхні силіконового матеріалу *in vitro*.

Отримані нами результати свідчать про те, що навіть нетривале (всього 24-48 годин) використання силіконового катетера може сприяти розвитку ВЛІ, спричинених грибами роду *Candida*, особливо за умови колонізації поверхні агресивними штамми. Враховуючи отримані нами дані щодо високого відсоткового вмісту високоадгезивних та здатних формувати кількісну біоплівку штамів саме у сечі та крові, питання формування грибкових біоплівок на поверхні катетерів з наступним провокуванням гострих та хронічних захворювань стоїть як ніколи гостро. При цьому слід передбачати часті рецидиви мікозів, адже, як ми показали, має місце збільшення маси біоплівок високоадгезивними штамми із підвищенням тривалості інкубації, а це, в свою чергу, не може не супроводжуватися фрагментацією біоплівки та потраплянням планктонних клітин у біологічні рідини організму, що подовжує терміни лікування.

Таким чином, в результаті проведених досліджень нами встановлені закономірності формування біоплівок різними видами грибів роду *Candida*. Визначено, що штамам з високим ступенем адгезивності 259, 366 властиво формувати більш кількісну біоплівку, ніж штамам з середньою та низькою адгезивністю, причому якщо через 24 години встановлено формування мікроколоній *C. albicans* №259, то через 48 годин вже маємо справу із сформованими агломератами *C. albicans* №259. А це значить, що навіть нетривале використання силіконового катетера може сприяти розвитку ВЛІ, і тривалої персистенції грибів роду *Candida*. Таким чином, у разі виявлення фузаріозу, спричиненого штамами №259, 366, для яких характерна і висока адгезивність, і висока здатність до формування біоплівок, та з врахуванням наших результатів по визначенню чутливості до антимікотичних препаратів, потрібний ретельний підхід при проведенні фунгіцидної терапії.

Отже, встановлені високі патогенні властивості грибів роду *Candida*: рівень чутливості до антимікотичних препаратів, здатність до адгезії та утворення біоплівок. Встановлено, що гриби роду *Candida* здатні бути етіологічним агентом госпітальних інфекцій.

Основні положення даного розділу відображені у працях автора [59, 60, 61, 64, 65, 66, 67].

РОЗДІЛ 6
УДОСКОНАЛЕННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ
КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ

6.1. Обґрунтування режиму культивування дріжджоподібних грибів
роду *Candida*

Актуальність проблеми кандидозу не викликає сумніву і з кожним роком спектр потенційних збудників інвазивних мікозів постійно розширюється. Незважаючи на те, що *C. albicans* залишається найбільш частим збудником як системних, так і поверхневих кандидозів, *non-albicans* штами дріжджових бактерій роду *Candida* стають все більш частою причиною інвазивного кандидозу. Перелік можливих збудників продовжує зростати по мірі накопичення лабораторіями досвіду в їх ідентифікації, що, безумовно, важливо для оптимізації терапії кандидозних інфекцій. Багато видів клінічно значущих грибів для росту на штучних поживних середовищах потребують вітамінних добавок, особливо у хворих, які перебувають на тривалому стаціонарному лікуванні. Тому використання для первинного посіву традиційного середовища Сабуро, що містить глюкозу і пептони, часто призводить до хибно-негативних результатів. В процесі удосконалення лабораторної діагностики кандидозних інфекцій в першу чергу дослідники стикаються із проблемою обґрунтування технологічного режиму культивування грибів роду *Candida*, адже цей етап є початковим, а отже і вирішальним в плані впливу на подальші розробки з ідентифікації та лабораторної діагностики цих дріжджоподібних грибів.

Розробляючи шляхи удосконалення діагностики кандидозних інфекцій, слід враховувати факт видового та штамового різноманіття кандид, оптимальні умови культивування для яких мало ймовірно що будуть ідентичними. Тому раціональним видається в першу чергу дослідження технологічних особливостей культивування для тих видів і штамів грибів

роду *Candida* які вносять основну лепту у виникненні та поширенні ВЛП, а також володіють високою інвазивністю, резистентністю до антибіотиків, здатні формувати кількісні біоплівки, виявляють високу, порівняно з іншими видами, адгезивність. Із досліджень випливає, що таким характеристикам, в першу чергу, відповідають штами *C. albicans* 259 і *C. tropicalis* 366.

Тому метою даного фрагменту роботи було оцінити динаміку росту клітин грибів *C. albicans* 259 і *C. tropicalis* 366 за умов культивування на середовищі Сабуро та модифікованому середовищі Сабуро (Сабуро+ДЕ) і встановити оптимальний термін та температуру для культивування для цих культур. Виходячи із цього, експеримент проводили за таких температурних режимів: 21°C, 25°C, 30°C, 37°C, режим культивування підтримували упродовж 10 діб (таблиця 6.1).

Таблиця 6.1

Кількість клітин *Candida albicans* 259

Час відбору проб, доба	Тип середовища	Температура, °C			
		21	25	30	37
кількість клітин у 1 мл проби					
2	А	4,4×10 ⁵ -4,9×10 ⁶	4,5×10 ⁵ -5,1×10 ⁶	4,5×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	3,6×10 ⁵ -4,4×10 ⁶
	Б	4,5×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	4,5×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	4,6×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	4,6×10 ⁵ -5,0×10 ⁶
3	А	4,6×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	4,5×10 ⁵ -5,5×10 ⁶	4,5×10 ⁵ -5,0×10 ⁶	3,6×10 ⁵ -4,5×10 ⁶
	Б	4,9×10 ⁵ -5,4×10 ⁶	5,0×10 ⁵ -5,5×10 ⁶	5,0×10 ⁵ -6,0×10 ⁶	5,0×10 ⁵ -6,0×10 ⁶
4	А	5,5×10 ⁵ -6,4×10 ⁶	6,0×10 ⁵ -6,9×10 ⁶	5,3×10 ⁵ -6,4×10 ⁶	4,8×10 ⁵ -5,0×10 ⁶
	Б	5,4×10 ⁵ -6,4×10 ⁶	5,5×10 ⁵ -6,6×10 ⁶	6,0×10 ⁵ -6,4×10 ⁶	6,8×10 ⁵ -7,4×10 ⁶
5	А	5,6×10 ⁵ -6,0×10 ⁶	6,1×10 ⁵ -7,0×10 ⁶	5,4×10 ⁵ -6,4×10 ⁶	4,7×10 ⁵ -5,0×10 ⁶
	Б	5,9×10 ⁵ -6,5×10 ⁶	5,8×10 ⁵ -6,7×10 ⁶	6,8×10 ⁵ -7,4×10 ⁶	7,1×10 ⁵ -8,4×10 ⁶
6	А	6,5×10 ⁵ -7,4×10 ⁶	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	6,5×10 ⁵ -7,5×10 ⁶	5,2×10 ⁵ -6,4×10 ⁶
	Б	6,8×10 ⁵ -7,0×10 ⁶	6,5×10 ⁵ -7,4×10 ⁶	6,8×10 ⁵ -7,8×10 ⁶	7,0×10 ⁵ -8,4×10 ⁶
7	А	6,6×10 ⁵ -7,5×10 ⁶	7,6×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	6,8×10 ⁵ -7,4×10 ⁶	5,5×10 ⁵ -6,5×10 ⁶
	Б	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,1×10 ⁵ -8,4×10 ⁶
8	А	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,5×10 ⁵ -7,9×10 ⁶	6,0×10 ⁵ -6,9×10 ⁶
	Б	7,6×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,1×10 ⁵ -8,4×10 ⁶
9	А	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,9×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	6,1×10 ⁵ -7,0×10 ⁶
	Б	7,5×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,1×10 ⁵ -8,4×10 ⁶
10	А	7,9×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,8×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,4×10 ⁵ -8,0×10 ⁶
	Б	7,3×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	8,0×10 ⁵ -8,0×10 ⁶	7,1×10 ⁵ -8,4×10 ⁶

Примітка: А – середовище Сабуро, Б – середовище Сабуро з додаванням дріжджового екстракту.

Виходячи із отриманих результатів, використання апробованих середовищ дозволило отримати клінічно значущі концентрації клітин мікроорганізмів за всіх температурних режимів, починаючи вже із другого дня експерименту (таблиці 6.1, 6.2).

Це видається закономірним з огляду на те, що агар Сабуро є оптимальним поживним середовищем для культивування мікроорганізмів роду *Candida* [117].

Таблиця 6.2

Динаміка росту клітин *Candida tropicalis* 366

Час відбору проб, доба	Тип середовища	Температура, °C			
		21	25	30	37
		кількість клітин у 1мл проби			
2	А	$3,0 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5 - 3,5 \times 10^6$
	Б	$3,5 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$	$3,5 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5 - 4,5 \times 10^6$
3	А	$3,1 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5 - 4,0 \times 10^6$	$3,1 \times 10^5 - 3,5 \times 10^6$
	Б	$4,0 \times 10^5 - 4,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$
4	А	$4,4 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$	$5,9 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$	$4,3 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$	$3,2 \times 10^5 - 4,3 \times 10^6$
	Б	$4,5 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$	$5,5 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,4 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
5	А	$5,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$	$5,8 \times 10^5 - 6,3 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$
	Б	$5,0 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
6	А	$6,0 \times 10^5 - 6,1 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$5,5 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5 - 5,0 \times 10^6$
	Б	$6,0 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
7	А	$6,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,5 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6$
	Б	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
8	А	$6,3 \times 10^5 - 6,8 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^6$
	Б	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
9	А	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,9 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5 - 6,3 \times 10^6$
	Б	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
10	А	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$
	Б	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^6$

Примітка: А – середовище Сабуро, Б – середовище Сабуро з додаванням дріжджового екстракту.

В той же час, кількість мікроорганізмів *C. albicans* 259, отриманих за різних температур культивування на середовищі Сабуро та Сабуро+ДЕ була відмінною. Встановлено, що на середовищі Сабуро температурний оптимум культивування розташовувався в діапазоні 25°C, зростання показників

температурного режиму до 30 і 37°C в тих же часових рамках супроводжувалося зниженням концентрації клітин *C. albicans* 259, особливо вираженим при 37°C. Таким чином, мінімальні показники кількості мікроорганізмів на середовищі Сабуро були отримані на 2-у добу культивування при 37°C.

Максимальні ж показники кількості клітин для цього середовища за мінімально короткий термін були встановлені на шосту добу культивування при температурі 25°C. Після цього терміну кількість виявлених клітин *C. albicans* 259 залишалася практично незмінною. За температури 21°C, 30°C і 37°C, показники динаміки росту клітин *C. albicans* 259 виходили на плато на 8-9, 8-9, і 10-у добу експерименту відповідно (рис. 6.1).

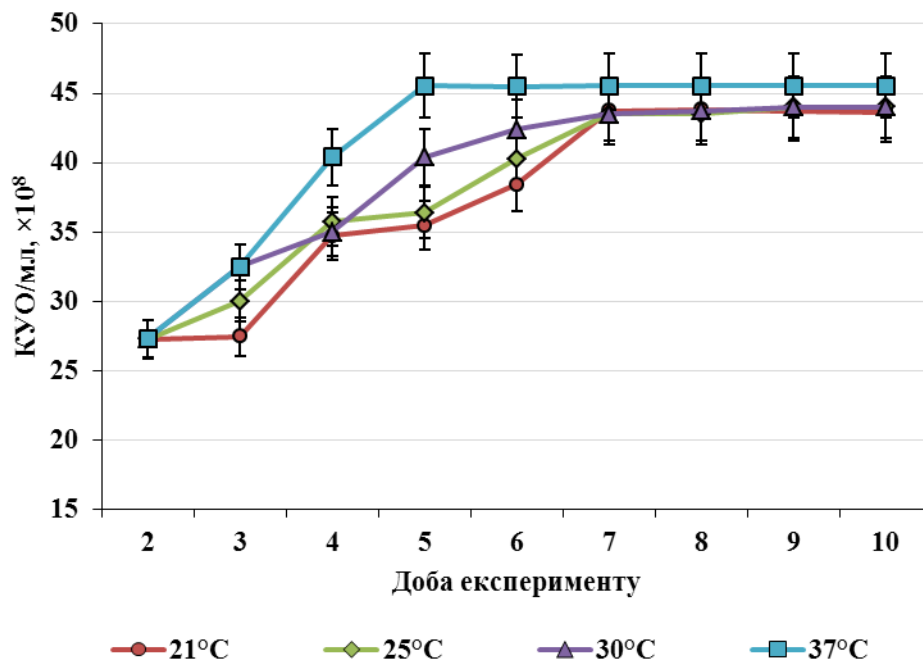


Рис. 6.1. Динаміка росту клітин *C. albicans* 259 на середовищі Сабуро

Таким чином, підвищення тривалості культивування на середовищі Сабуро для *C. albicans* 259 більше шести діб за температури 25 є економічно недоцільним, як і вибір іншого температурного режиму. Також, враховуючи те, що культури після 6 доби культивування починають «старіти» і відповідно у них послаблюються антигенні властивості, їх тривале

культивування недоречно [45].

Однак культивування цього штаму на середовищі Сабуро+ДЕ за тих же умов виявило зміщення як температурного оптимуму культивування, так і його тривалості. Так, оптимальною температурою для отримання максимальної кількості клітин була 37 °С, причому цей максимум припадав на 4-5 добу від початку експерименту (табл. 6.1). А, отже, використання середовища Сабуро+ДЕ для культивування *C. albicans* 259 дозволяє скоротити терміни нарощування максимальної кількості мікроорганізмів, що, безперечно, є важливим позитивним моментом у лабораторній практиці.

Відмітимо, що за температури 21 °С, 25 °С і 30 °С, показники динаміки росту клітин *C. albicans* 259 мали приблизно однакову тенденцію, як і тотожними були періоди настання фази стаціонарного росту за цих температур – 6-7 доба від початку експерименту (рис. 6.2).

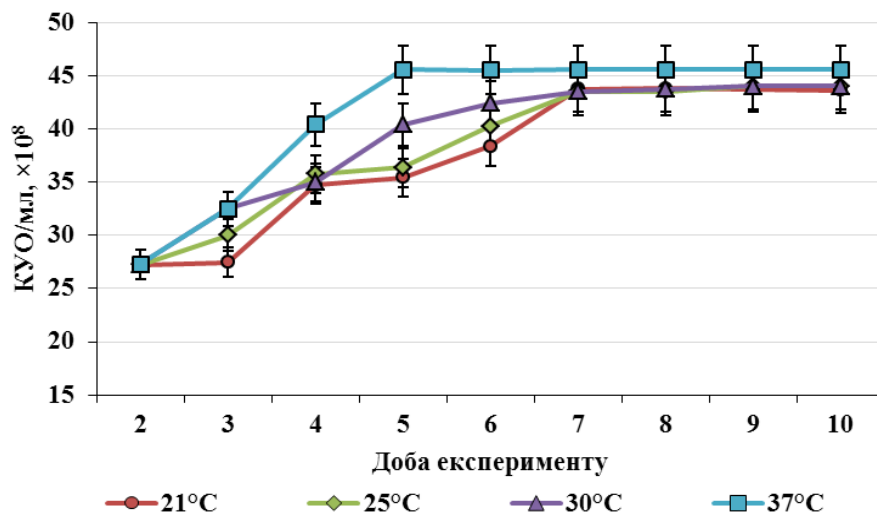


Рис. 6.2. Динаміка росту клітин *C. albicans* 259 на середовищі Сабуро+ДЕ

Досліджуючи закономірності динаміки росту клітин *C. tropicalis* 366 ми виявили, що культивування на обох середовищах дозволяє отримати клітини цього гриба в клінічно значущих кількостях. При цьому переваги середовища Сабуро+ДЕ над середовищем Сабуро мали місце лише за умов

культивування при 37°C, оскільки на середовищі Сабуро+ДЕ максимум культивованих клітин *C. tropicalis* 366 припав на 4-5 добу експерименту (таблиця 6.2), тоді як мінімальний термін культивування на середовищі Сабуро для отримання максимальних показників – 6-7 доба експерименту, причому за температури 25°C. Максимальні значення показників при культивуванні на середовищі Сабуро для інших обраних температур (30°C, 37°C, 21°C) ми отримали, починаючи лише з 9-10-ої доби експерименту. Причому в режимі 37 °C кількісні показники культивованих клітин *C. tropicalis* 366, хоча і недостовірно, але були нижчими, ніж за інших температур у відповідну добу експерименту.

Отже, температурний оптимум культивування *C. tropicalis* 366 на середовищі Сабуро припадає на 25°C, максимальний вихід клітин можна отримати, починаючи з 6-7 доби експерименту. Надалі рівень реєстрованих показників виходить на плато і залишається таким до 10-ої доби експерименту (рис. 6.3).

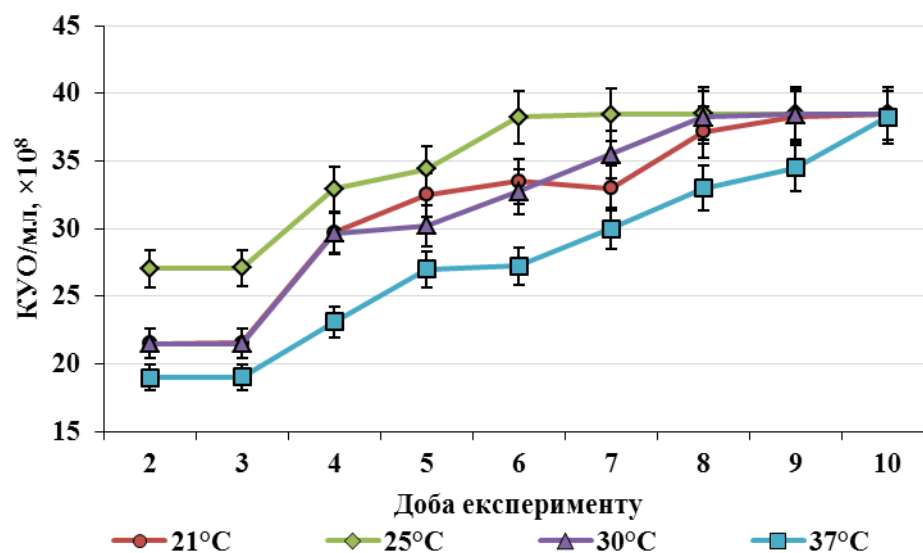


Рис. 6.3. Динаміка росту клітин *C. tropicalis* 366 на середовищі Сабуро

Застосовуючи для культивування на середовищі Сабуро інші температурні режими максимальний вихід показників слід очікувати не раніше 9-10 доби експерименту.

Пришвидшити отримання максимальної кількості клітин, можна, використовуючи для культивування *C. tropicalis* 366 середовище Сабуро+ДЕ, при цьому показники термостата слід виставляти на 37 °С. Таким чином можна скоротити тривалість нарощування максимальної кількості клітин на 1-2 дні, адже на плато показники виходять на 4-5 добу експерименту (рис. 6.4), що є надзвичайно важливим кроком на шляху до вдосконалення лабораторної діагностики грибів роду *Candida*.

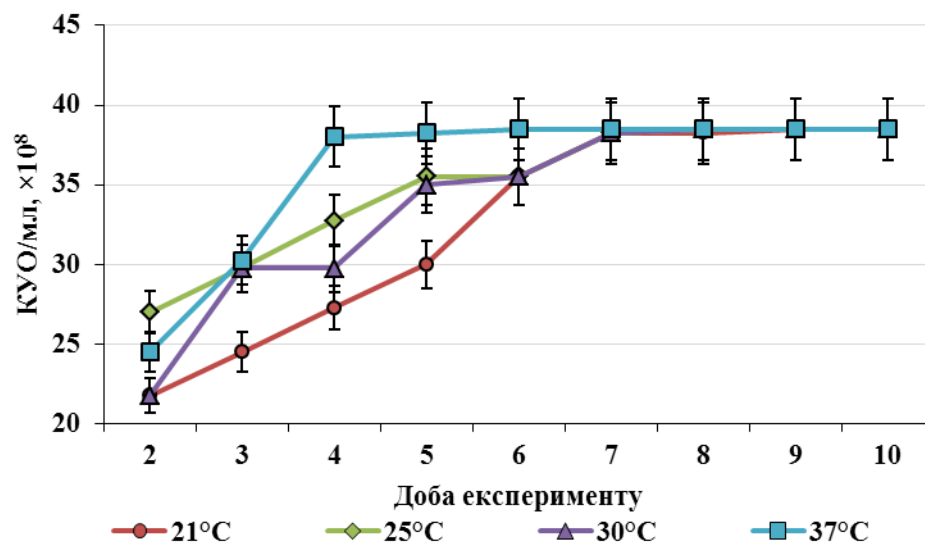


Рис. 6.4. Динаміка росту клітин *Candida tropicalis* 366 на середовищі Сабуро+ДЕ

Отже, використання середовища Сабуро+ДЕ доцільне для *C. tropicalis* 366 та *C. albicans* 259. Це дозволить отримати максимальну кількість клітин на 1-2 доби швидше (на 4-5 добу експерименту), ніж на середовищі Сабуро.

6.2. Вивчення ефективності модифікованого поживного середовища для первинного висіву дріжджоподібних грибів роду *Candida*

Виходячи із отриманих результатів щодо біотехнологічного обґрунтування режиму культивування грибів роду *Candida*, були проведені експерименти по встановленню закономірностей частоти виділення ізолятів

клінічно значущих дріжджів при первинних посівах на середовище Сабуро і модифіковане середовище Сабуро, доповнене дріжджовим екстрактом. Виходячи із завдань експерименту, отримані такі результати: встановлено, що загальна кількість дріжджових ізолятів, виділених з допомогою середовища Сабуро, доповненої дріжджовим екстрактом, склало 453, а класичного середовища Сабуро – всього 409. На середовищі Сабуро з ДЕ було отримано на $10,8 \pm 0,8\%$ ізолятів дріжджів більше, ніж на класичному середовищі Сабуро. З них – при посіві крові на $20 \pm 2,6\%$, із зіву – $8,0 \pm 1,8\%$, з носа $7,7 \pm 2,1\%$, з вуха – $6,3 \pm 4,9\%$, вмісту гайморової пазухи – $26,6 \pm 10,7\%$, жовчі – $5,0 \pm 2,8\%$, сечі – $15,3 \pm 3,8\%$, виділень сечостатевого органів – $10,4 \pm 1,0\%$, вмісту черевної порожнини – $14,3 \pm 4,2\%$, виділень рани – $9,7 \pm 2,7\%$ (таблиця 6.3).

Таблиця 6.3

Частота висівання грибів роду *Candida* з різного патологічного матеріалу

Матеріал	Кількість позитивних зразків		Збільшення частоти висівання грибів роду <i>Candida</i> при використанні середовища Сабуро з ДЕ, %
	середовище Сабуро	середовище Сабуро з ДЕ	
Кров	20	24	$20,0 \pm 2,6$
Мазок із зіву, мигдалин, ротової порожнини	75	81	$8,0 \pm 1,8$
Мазок із носа	26	28	$7,7 \pm 2,1$
Мазок із вуха	16	17	$6,3 \pm 4,9$
Вміст гайморової пазухи	15	19	$26,6 \pm 10,7$
Жовч	40	42	$5,0 \pm 2,8$
Сеча	59	68	$15,3 \pm 3,8$
Виділення сечостатевого органів	106	117	$10,4 \pm 1,0$
Вміст кісти нирок, сечового міхура	7	7	–
Вміст черевної порожнини	14	16	$14,3 \pm 4,2$
Виділення ран	31	34	$9,7 \pm 2,1$
Всього	409	453	$10,8 \pm 0,8$

Отже, використання модифікованого середовища Сабуро+ДЕ дозволило підвищити частоту висівання дріжджових грибів роду *Candida* з

виділень хворих, що знаходилися у відділенні хірургічної реанімації. При цьому максимальні показники частоти висівання отримані при застосуванні Сабуро+ДЕ для вмісту виділень гайморової пазухи, крові та сечі. Для біоптатів, отриманих із вмісту кісти нирок, сечового міхура, переваг від застосування модифікованого середовища порівняно із традиційним середовищем Сабуро, не виявлено. Однак загальна кількість дріжджових ізолятів, виділених з допомогою середовища Сабуро, доповненого дріжджовим екстрактом, склало на 10% більше, ніж на класичному Сабуро. Таким чином, основними висновками роботи є те, що використання модифікації середовища Сабуро+ДЕ: 1) призводить до загального збільшення кількості дріжджових ізолятів, з особливою ефективністю (на 15-27%) для зразків вмісту виділень гайморової пазухи, крові та сечі; 2) дозволяє суттєво прискорити (на 1-2 доби) процес ідентифікації мікроорганізмів і тим самим коректної діагностики стану пацієнтів.

Встановлено, що процент індикації грибів роду *Candida* при посіві крові був достовірно більший, ніж при посіві зі слизової зіву ($t=4,2$, $p<0,001$), носа ($t=3,7$, $p<0,001$), вуха ($t=2,5$, $p<0,05$), жовчі ($t=3,9$, $p<0,001$), виділення сечостатевих органів ($t=3,4$, $p<0,001$), виділення з ран ($t=3,1$, $p<0,001$). Отже, використання модифікованого середовища для первинного посіву є більш доцільним і може бути загально рекомендованим для виділення дріжджів у хворих, що знаходяться у відділенні хірургічної реанімації.

Основні положення даного розділу відображені у працях автора [76].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Внутрішньолікарняні інфекції, спровоковані різного роду мікроорганізмами стали «головним болем» сучасної медицини. Незважаючи на зусилля фармакологів, лікарів, науковців, рівень опортуністичних захворювань продовжує неухильно зростати і це на фоні досягнень нинішнього часу. Прогрес та використання нових медичних технологій (таких як трансплантація органів і тканин, високодозова імуносупресивна терапія, інвазивні діагностичні та лікувальні процедури і т.д) підвищило популяцію імуноскомпрометованих хворих. Це створило такий терапевтичний фон, пристосовуючись до якого організми, що належали до числа умовно патогенних та нормальної мікрофлори макроорганізму, очевидно відселекціонувались та почали заповнювати наш біопростір.

При цьому гриби роду *Candida* за останні два десятиріччя із патогенів, рівень індикації яких був низьким, стали одними із основних провокаторів нозокоміальних захворювань, займаючи фактично четверте місце серед мікроорганізмів за частотою виявлення в крові. Провокуючи кандидемію та гострий дисемінований кандидоз, гриби становлять неабияку загрозу не тільки для здоров'я, але й життя пацієнтів, адже ці стани характеризуються важкістю клінічних проявів та високою летальністю.

Кандидозні нозокоміальні інфекції подовжують тривалість перебування хворих в клінічних закладах та підвищують вартість їх лікування, зумовлюючи високу смертність. При цьому дослідження, проведені останніми роками у вітчизняних закладах демонструють хоча і дещо відмінну частоту індикації дріжджоподібних грибів роду *Candida* у біоптатах хворих, однак, в цілому сходяться до єдиного висновку: в структурі збудників ВЛІ гриби роду *Candida* демонструють тенденцію неухильного зростання [6, 9].

При цьому роль грибів роду *Candida* у структурі ВЛІ у ВРІТ залишається маловивченим питанням, хоча моніторинг етіології і частоти грибкової інфекції сьогодні не менш актуальний, ніж традиційний моніторинг бактеріальних інфекцій, особливо у ВРІТ. Дослідження, проведені в процесі виконання роботи, заповнили цю прогалину та дозволили, проаналізувавши частоту виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*, ізольованих з різного біологічного матеріалу від пацієнтів багатопрофільного стаціонару, встановити, що упродовж 2008-2015 рр. гриби роду *Candida* виявлялися в 6,4% випадках дослідження різного клінічного матеріалу. Так, у 2008 р. їх частота склала 5,9%, в 2009р. – 7,7%, в 2010 – 5,0%, в 2011 – 5,8%, в 2012 – 6,5%, в 2013 – 7,1%, в 2014 і 2015 – 6,5% та 6,9 % відповідно. При цьому найчастіше інфікування цими грибами виявляли у мазках із зіву – 17,2 %, жовчі – 15,6%, із вмісту гайморової пазухи – 12,7 %, із крові – 1,1 % та з мокротиння – 8,3%.

Гриби *Candida* spp. виділялися тільки з крові хворих, що знаходилися у ВРІТ (1,1 % від аналізованих зразків); з мокротиння відсоток висівання від хворих з ВРІТ становив 34%; з іншого клінічного матеріалу лише 17%.

Отримані дані засвідчили такі факти: по-перше частота виділення грибів роду *Candida* є діагностично значимо, а це однозначно являє собою клініко-мікробіологічну проблему; по-друге основний контингент ризику розвитку кандидозної інфекції складають пацієнти ВРІТ і, по-третє, найбільшу небезпеку становить біологічний матеріал з зіву, як джерело ендогенної інвазії кандидозу.

В результаті досліджень виявлений неабиякий зсув у структурі ВЛІ ролі *Candida albicans* на користь *C. non-albicans*. Особливо це було виражено для гемокультур, де частка *C. albicans* склала лише 52 %, в той час як висівання *C. tropicalis* знаходилося в межах 17%. При цьому в крові хворих із ВРІТ ми ідентифікували 7 видів грибів роду *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. lusitaniae* і *C. krusei*, п'ять з яких (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*) визнані

важливими хвороботворними мікроорганізмами. Видове різноманіття грибів роду *Candida*, виділених нами із мокротиння хворих ВРІТ було представлено п'ятьма видами (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. sake* і *C. krusei*) причому на долю *C. albicans* в цьому випадку припадало 87 % всіх інфікувань, що свідчило про ендogenousний шлях розвитку інфекції як основний.

Досліджуючи видову структуру збудників виявлено, що роль дріжджоподібних грибів роду *Candida* у розвитку ВЛІ залишається незмінно високою, зумовлюючи, в середньому, майже 12,6 % всіх інфікувань. При цьому на вагу грамнегативних бактерій у розвитку ВЛІ припадає 46,97 % всіх уражень, грампозитивних – 39,4%. Найчастіше дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляли у крові, сечі і харкотинні, причому в монокультурі виділено тільки у 37,9% випадків. У всіх інших випадках зразки виділялися в асоціаціях з бактеріальною мікрофлорою.

Отримані результати дозволили зробити нам висновки про те, що грибкові ураження кандидозної природи, поруч із бактеріальними збудниками, є основними провокаторами ВЛІ. А зважаючи на гетерогенність комбінацій, що провокували ВЛІ, особливо той факт, що в асоціаціях мікроорганізми здатні до різного роду взаємовпливів, таких як синергізм або антагонізм, а патогенність, вірулентність і резистентність такої гетерогенної структури може кардинально відрізнятись від властивостей, що проявляли вихідні компоненти поодиноці, то високий відсоток грибково-мікробних асоціацій, встановлений нами в результаті досліджень, засвідчив необхідність досліджень у сфері кооперацій мікроорганізмів і пошук нових шляхів їх утилізації в системі *in vivo*.

Аналізуючи біоптати хворих ВРІТ фактично встановлено можливість ендogenousної причини розвитку мікозів але, як відомо, внутрішньолікарняне інфікування пацієнтів ВРІТ грибами може мати не тільки ендogenousне але й екзogenousне походження. При цьому навантаження, яке припадає на етіологію конкретного екзogenousного патогена в умовах багатопрофільного стаціонару

залишається мало вивченим, але необхідність таких досліджень є безперечно важливою для попередження поширення інфекції шляхом ліквідації її джерел. Тому був проведений моніторинг внутрішнього середовища стаціонару на предмет інтенсивності контамінації медичного обладнання, рук медперсоналу, палатних меблів, рукомийників та потоків повітря.

Аналіз видового складу виділених із повітря грибів роду *Candida* встановив їх гетерогенну природу – виявлені види *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*. Джерелом потрапляння у повітря *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, як і *C. albicans* могли бути біологічні зразки, зокрема сеча, мокротиння, та інші, адже їх аналіз виявив високі показники контамінації цими видами. Виявлений рівень контамінації перевищував ГДК клітин грибів у повітрі, та виявлявся у 16,7% аналізованих зразків, тому очевидно, що такі види дріжджоподібних грибів роду *Candida*, як *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, як і *C. albicans* є важливими аеронозокоміальними патогенами.

Досліджуючи контамінацію дріжджоподібними грибами роду *Candida* змивів, отриманих з лікарняного середовища ВРІТ, встановлено, що рівень забруднення знаходився на відмітці 10,7%. При аналізі Змивів, отримані із епідемічно значимих об'єктів: рук медперсоналу на апараті ШВЛ, реєстрували однаковий рівень контамінації – 13,3% та 5,0% відповідно.

Дослідження катетеральної мікрофлори виявило 13 видів мікроорганізмів у випадку уретральних катетерів, на судинних катетерах виявлено загалом 11 різновидів патогенів. Найчастіше судинні катетери заселяли *S. epidermidis*, *Enterococcus* spp, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp. *Candida* spp., *P. aureginosa*. Першочерговими причинами інфікування уретральних катетерів виявились *Enterococcus* spp, *P. aureginosa*, *Candida* spp., *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *E. coli*, що корелює з даними літератури [19, 54, 81].

Частка *Candida* spp. була значною при колонізації центральних та периферійних венозних катетерів (12,3%), вагомою – при контамінації уретральних (11,5%).

Таким чином, результати досліджень виявили основні екзогенні джерела грибів роду *Candida*, та рівень ендогенної контамінації цими дріжджоподібними видами. Утримуватися на поверхні медичних приладів, таких як катетери чи серцеві стени, та тривалий час зберігати життєздатність за межами організму господаря і використовувати медичне обладнання для повторного інфікування пацієнтів, патогени набули здатності, як вважається, завдяки формуванню біоплівки. Мікробіологічні біоплівки становлять епідемічну загрозу для внутрішньо-лікарняного середовища, а враховуючи наявність в межах лікарняного простору мікроорганізмів з високим потенціалом патогенності і одночасно імуноскомпрометованих пацієнтів, отримані результати мають важливе значення для ефективного попередження ВЛІ.

Безперечно, до факторів, що застосовуються з метою усунення кандидозів, належить застосування антимікотичних засобів. При цьому видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними по чутливості збудників до антимікотиків достатньо для вибору початкової протигрибкової терапії. Проведена видова ідентифікація збудників кандидозу підтвердила раніше висловлені думки стосовно зміщення ролі *C. albicans* як основного провокатора ВЛІ в структурі збудників грибів роду *Candida*. Отримані результати дозволили не тільки встановити видову структуру та частку кожного виду *Candida* у провокуванні ВЛІ зокрема, але й, у випадку необхідності підбирати емпіричну фунгіцидну терапію для критичних пацієнтів із ознаками ІК ще до отримання результатів аналізів стосовно типу збудника кандидозу в межах нашого лікувального закладу. Разом з цим, робота в області кандидозу свідчить про систематичну появу нових штамів, стійкість яких до відомих препаратів може відрізнятися від описаної в літературі. Тому логічним наступним кроком стало дослідження стійкості культур грибів роду *Candida*, циркулюючих в межах ВРІТ і відділень хірургічного профілю, до існуючих антимікотиків та порівняння отриманих даних із описаними в інших роботах [82, 149].

За нашими даними резистентність всіх збудників інвазивного кандидозу складала: 30% до флуконазолу, 18% до вориконазолу, 15% до амфотерицину найбільш часто у *C. glabrata* (53% резистентних до флуконазолу і вориконазолу, 20% резистентних до амфотерицину), *C. tropicalis* (71%, 29% і 41% відповідно), *C. albicans* (7%, 8% і 8% відповідно). Ймовірно, це може бути пов'язано і з контингентом хворих (із ВРІТ), від яких були отримані тестовані штами. Високий рівень стійкості *C. albicans* до препаратів які пройшли тестування ймовірно пов'язана з розвитком вторинної резистентності грибів, а саме з активним ефлюксом препаратів. Ці факти потрібно врахувати при виборі початкової протигрибкової терапії.

Зважаючи на отримані дані стосовно чутливості грибів роду *Candida* до антимікотичних засобів, логічним було дослідити адгезивні властивостей різних видів і штамів цих дріжджоподібних грибів. Виявлено, що серед природних штамів *Candida spp.* домінують штами з більш вираженими патогенними (адгезивними) властивостями – на долю високоадгезивних штамів припадало 30,3%, середньоадгезивних 33,3% усіх проаналізованих нами штамів. Частка високоадгезивних штамів серед представників *C. non-albicans* достовірно перевищувала таку серед представників *C. albicans*. При цьому неадгезивні штами були виявлені тільки для видів *C. albicans*, *C. glabrata*, низькоадгезивні – *C. albicans*. Для таких видів, як *C. kruzei*, *C. tropicalis*, *C. sake*, *C. lusitaniae*, *C. parapsioli* ідентифікували лише штами з середньою та/або високою адгезивністю. Характерно, що виключно високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виявлені в сечі та крові, тоді як у мазках із зіву та харкотинні виявляли і неадгезивні і низькоадгезивні штами, отже саме кров та сечові шляхи є воротами для тривалої персистенції грибів роду *Candida*. Світлова мікроскопія адгезії високоадгезивних штамів *C. albicans* і *C. tropicalis* – найчастіших провокаторів ВЛІ у відділенні ВРІТ, не виявила відмінностей в формі клітин грибів, але встановила морфологічні особливості адгезії для цих видів. Для

штамів із високим ступенем адгезивності характерним було формування більш кількісної біоплівки, ніж штамам, для яких властивим був низький та середній рівень адгезивності. Причому упродовж 48 годин культури формували більш кількісну біоплівку, ніж за 24 год.

Також встановлено, що особливістю біоплівки *C. albicans* є суміш морфологічних форм, і показали, що прикріплення клітин дріжджів до фрагментів катетера починалося після 3-6 год інкубації, а через 24 години формувалися мікроколонії, що виникли внаслідок клітинного поділу. Повністю зрілі біоплівки утворювалися після інкубації упродовж 48 год, і склалися із щільної мережі спорових клітин дріжджів, гіфів і псевдогіфів.

Завдяки проведеним дослідженням вдалося встановити здатність виділених із клінічного матеріалу хворих ВРІТ штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida* утворювати біоплівки, передбачити їх клінічну роль в персистентній кандидемії та виявити стійкість до флуконазолу, вориконазолу, амфотерицину.

Подальша робота була спрямована на удосконалення лабораторної діагностики кандидозних інфекцій, адже, перш ніж розпочати терапію чи провести моніторинг ВЛІ, в першу чергу дослідники стикаються із проблемою адекватного вибору поживного середовища для ідентифікації збудників кандидозу. Цей етап є початковим, а отже і вирішальним в плані впливу на подальші досягнення та отримані результати в галузі боротьби із збудниками ІК. Тому завданням стало підібрати оптимальні умови для культивування грибів роду *Candida*. В першу чергу модифікували середовище Сабуро, додавши до нього дріжджовий екстракт. Надалі обирали відповідний температурний режим культивування, вихід клітин при якому був би максимально можливим за мінімальний період часу. Протестувавши різні варіанти, виявили, що застосовуючи середовище Сабуро+ДЕ отримати максимальний вихід ізолятів *Candida* можна вже на 4-5 добу експерименту за температури 37°C, тоді як на середовищі Сабуро максимальна кількість ізолятів припадала на 5-6 добу культивування при 25°C. Таким чином,

застосування для отримання дріжджових ізолятів модифікованого середовища Сабуро+ДЕ. Адже це дозволило отримати максимальну кількість клітин на 1-2 доби швидше, ніж на середовищі Сабуро, та підвищити рівень виділених ізолятів в середньому на 10,8 %. Особливо це актуально при посівах крові, вмісту гайморової пазухи, сечі, виділень сечостатевого органу, вмісту черевної порожнини, виділень рани.

Дослідження свідчать, що гриби та бактерії є основними типами мікроорганізмів, що присутні в межах лікарняного простору. При цьому їх здатність до виживання незважаючи на умови проведення відповідних заходів асептики визначається і біологічними характеристиками виду, такими як адгезивність, так і наявністю природних джерел для їх живлення та транспортування. При цьому, встановлено, що джерелом кандидозної інфекції є і самі хворі, і медперсонал, і медичне обладнання (рис. 7.1).



Рис. 7.1. Основні шляхи поширення кандидозної інфекції у хворих стаціонарів хірургічного та реаніматологічного профілю

Збудники кандидозу виявлені і в межах аеропростору, і в біоптатах хворих, що на час перебування в лікувальному закладі стають своєрідними біореакторами для агресивних штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Це віддаляє позивний ефект від задіяних терапевтичних заходів та спричиняє труднощі в отриманні очікуваного результату від лікування.

Своєчасне виявлення хворих – джерел кандидозної інфекції це перший вагомий крок на шляху не тільки моніторингу, але й попередження поширення цієї хвороби у вигляді протиепідемічних заходів. Встановлено, що найбільший рівень виявлення інфекції для пацієнтів багатoproфільного стаціонару у мазків із зіву і саме цей біологічний матеріал становить найбільшу загроза для ендogenous поширення кандидозної інфекції. Тому абсолютно необхідно, використовувати як перший і один з основних протиепідемічних заходів, обробки ротової порожнини 2% розчином хлоргексидину.

Захворювання типу кандидозу здатні спричиняти біля 15 видів *Candida*, але, як встановлено, 69,6% усіх інфікувань стосувалося штамів таких видів як *C. albicans*, 9 % – *C. tropicalis*, 5,3% – *C. glabrata*, 2,5% – *C. krusei*, 2,3% – *C. parapsilosis*, тобто майже 90% усіх уражень стосується саме цих видів.

Штами кожного із цих мікроорганізмів мають унікальний вірулентний потенціал, антимікотичну чутливість, але в цілому саме вони у наших дослідженнях були найвагомішими у видовій структурі *Candida* збудниками ВЛІ.

А отже, оскільки методика визначення чутливості до антимікотиків трудомістка і не завжди виправдана – після проведення видової ідентифікації в поєднанні з локальними даними по чутливості збудників до антимікотиків для пацієнтів можна застосовувати емпіричну протигрибкову терапію. Ці заходи також матимуть протиепідемічний характер, тобто будуть спрямовані на ліквідацію уже виявлених збудників. При цьому слід мати на увазі, що у випадку катетер-асоційованих інфекцій, де формування біоплівки на поверхнях, що безпосередньо контактують із біологічними рідинами розповсюджене явище, застосовувані дози фунгіцидів можуть значно відрізнятись від рекомендованих, адже в біоплівках *Candida* spp. володіють вираженою резистентністю до флуконазолу і вориконазолу, що в 1000 разів

може перевищувати таку для планктонних форм [38, 172].

Отримані нами дані слід враховувати при перегляді положень з емпіричної фунгітерапії, адже це дозволить запобігти використанню в межах нашого закладу антимікотиків, до яких у 25% і більше штамів розвинулася резистентність. Це вкрай важливо в сучасних умовах, на фоні зростаючого числа нозокоміальних інфекцій, спричинених грибами роду *Candida*. Емпіричну протигрибкову терапію слід застосовувати для критичних пацієнтів з факторами ризику розвитку ІК, якщо інші видимі причини виниклої лихоманки відсутні і які мають клінічні ознаки септичного шоку.

Раннє виявлення факторів небезпеки розвитку ІК і кандидемії є наріжним каменем профілактики та ранньої терапії в умовах ГРВІ, основною метою яких є зниження атрибутивної летальності. Як раніше описувалось, підхід який найбільш часто використовують для оцінки ризику ІМ: бальна система “*Candida Score*”. Сума від 3 балів может виділити пацієнтів, у котрих раннє призначення протигрибкових препаратів найбільш оправдано [9].

Збільшення частоти виділення видів *C. non-albicans* з властивою їм зниженою чутливістю до азолів створює нові терапевтичні проблеми. У цих умовах поява класу ехінокандинів стало прогресом в антимікотичній терапії і, водночас, стратегічним ходом у відповідь на зміну спектру збудників інвазивного кандидозу, в зв'язку з їх високою активністю щодо *Candida spp.* і ряду інших патогенів, а також унікальним профілем безпеки та рекомендовані для терапії.

Так, інвазивний кандидоз – інфекція, тісно пов'язана із медичним прогресом. Цей факт тісно асоційований із адгезивними властивостями досліджуваних мікроорганізмів та здатністю грибів роду *Candida* формувати біоплівки на поверхні катетерів. Оскільки біоплівки являють собою угруповання клітин, що міцно взаємодіють одна з одною та і з поверхнею катетера, це дозволяє їм виявляти високу резистентність до факторів зовнішнього середовища. Зважаючи на високі адгезивні властивості окремих

штамів цих видів та посилення резистентності до антимікотичних засобів через біоплівкоутворення, основним заходом профілактики, наряду із проведенням відповідної фунгітерапії, є видалення катетерів настільки швидко у випадку кандидемії, наскільки це можливо. При цьому повинен бути збереженим індивідуальний підхід до кожного пацієнта із співставленням виділених із біоптатів видів/штамів *Candida*, їх чутливості до антимікотичних засобів із життєвою необхідністю в катетері. Планову заміну периферійних венозних катетерів слід проводити кожні 72 години або, по можливості змінювати місце їхнього введення.

Рівень біоконтамінації в лікарняному середовищі може залежати від багатьох факторів, таких як кількість пацієнтів і медперсоналу, відвідувачів, дезінфекції обладнання, дизайну та локалізації в лікарняних палатах умивальників, тумбочок, ліжок, матеріалів, з яких виготовлені катетери, вологості приміщення, тощо. Зважаючи на те, що гриби роду *Candida* виявлені нами і на і в біологічних об'єктах та неживих предметах основними заходами профілактики є дії, пов'язані із утилізацією збудників із врахуванням його локалізації.

Аналізуючи шляхи розповсюдження кандидозної інфекції, слід відмітити, що саме людський фактор часто стає причиною внутрішньолікарняної контамінації грибами роду *Candida* а це свідчить про можливість профілактичного попередження уражень.

Абсолютно необхідним є ретельне очищення шкіри рук медперсоналу. Враховуючи наявну контамінацію рук медперсоналу у 13,3% випадках слід, перед медичними маніпуляціями, проводити ретельне очищення шкіри рук струменем води із застосуванням деззасобів. Адже 20% клітин *C. albicans* та *C. parapsilosis* здатні зберігати свою життєздатність упродовж години на кінчиках необроблених пальців. Так обробка рук може знизити ризик розвитку ВЛІ майже на 40-50% [27, 49].

Моніторинг кандидозної мікрофлори у біоптатах виявив їх значну поширеність та високу частоту індикації в тих біоматеріалах, робота з якими

є звичайною практикою у відділеннях ВРІТ. Це стосується виділення слизових оболонок, крові, мокротиння, сечі та інших біоматеріалів. Тому, оскільки тривалість здатності до виживання різних видів *Candida* на поверхнях становить близько 150 днів [27], то не тільки біоптати, але й брудна білизна, предмети побуту, використовуване обладнання, оточуюча хворого поверхня, якої торкався він сам чи його біозразки, в результаті випадкового потрапляння, повинні розглядатися, як потенційно контаміновані, тому поводитися із ними слід, як з інфікованим матеріалом. При контакті з ними персонал повинен використовувати рукавички і захисний одяг, а також дотримуватися особистої гігієни. При визначенні видового складу грибів роду *Candida* у змивах із деталей апарату ШВЛ особливе занепокоєння викликав рівень контамінації, що склав 11,6%, та присутність на цьому обладнанні *C. kruzei*, всі штами якого є високоадгезивними а, отже, високопатогенними. На масці, трубці і відсмоктувачеві ШВЛ виявлені також *C. albicans*, *C. parapsilosis*, і *C. glabrata*. Ці факти є дороговказом для застосування ефективних мір із утилізації цього збудника, адже штучна вентиляція легень у важких пацієнтів є основним чинником ризику розвитку вентилятор-асоційованої нозокоміальної пневмонії, з показником атрибутивної летальності, що сягає до 10%. Тому заходи із переривання шляхів передачі інфекції слід проводити із використанням відповідної дезінфекції, замінювати дихальний контур, періодично вилучати конденсат із трубок дихального контуру.

Обов'язкова систематична обробка поверхонь тумбочок, апарату ШВЛ, ліжок, кранів дезінфікуючими засобами та провітрювання лікарняних палат.

Дезінфекцію медичних виробів та обладнання внутрілікарняного середовища слід здійснювати фізичними, хімічними або комбінованими методами та використовувати робочі розчини дезінфекційних засобів відповідно до інструкції з експлуатації згідно з режимами, що забезпечують знищення грибів, особливо у відділеннях ВРІТ.

Серед заходів профілактики слід виділити важливий пункт щодо

постійного навчання і тренування медичного персоналу в плані використання розроблених нами антимікотичних заходів, дотримання гігієни рук, асептичної роботи із апаратом ШВЛ, відповідної установки, заміни та догляду за катетерами.

Обов'язковим пунктом є ведення супровідних документів не тільки таких як історії хвороби пацієнтів, але щодо частоти і характеру виявлення збудників кандидозу, їх видового складу, застосованої фунгіцидної терапії та методів асептики і отриманого кінцевого результату. Результати цієї роботи та дані, отримані при застосуванні запропонованих нами інструкцій щодо покращення лабораторної діагностики грибів роду *Candida*, локальної чутливості збудників *Candida* до антимікотичної терапії, стануть основою для розробки практичного посібника щодо правильності прийняття рішень про необхідність надання медико-санітарної допомоги при кандидозі в конкретних клінічних умовах.

Моніторинг кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару є актуальним, так як і моніторинг бактеріальних внутрішньолікарняних інфекцій. Визначено, що мікробіологічний моніторинг кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару має складатися з досліджень трьох паралельних напрямків: біологічного матеріалу пацієнтів, змивів з рук та одягу медичного персоналу, змивів з об'єктів внутрішньолікарняного середовища відділень.

Спільне проведення і зіставлення результатів цих досліджень є запорукою успішної протидії кандидозної інфекції в стаціонарі. Далі наведена адаптована модель використання моніторингу кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару (рис. 7.2).



Рис. 7.2. Адаптована модель використання моніторингу кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару

Отже, ідентифіковані основні джерела грибів роду *Candida* й розроблені протиепідемічні та профілактичні заходи щодо попередження їх розповсюдження, а саме: поряд із проведенням відповідної антимікозної терапії, є обробка ротової порожнини 2% розчином хлоргексидину, максимально швидке видалення катетерів, ретельне очищення шкіри рук медперсоналу, систематична обробка поверхонь тумбочок, апарату ШВЛ, ліжок, кранів дезінфекційними засобами та провітрювання лікарняних палат (рис. 7.3).

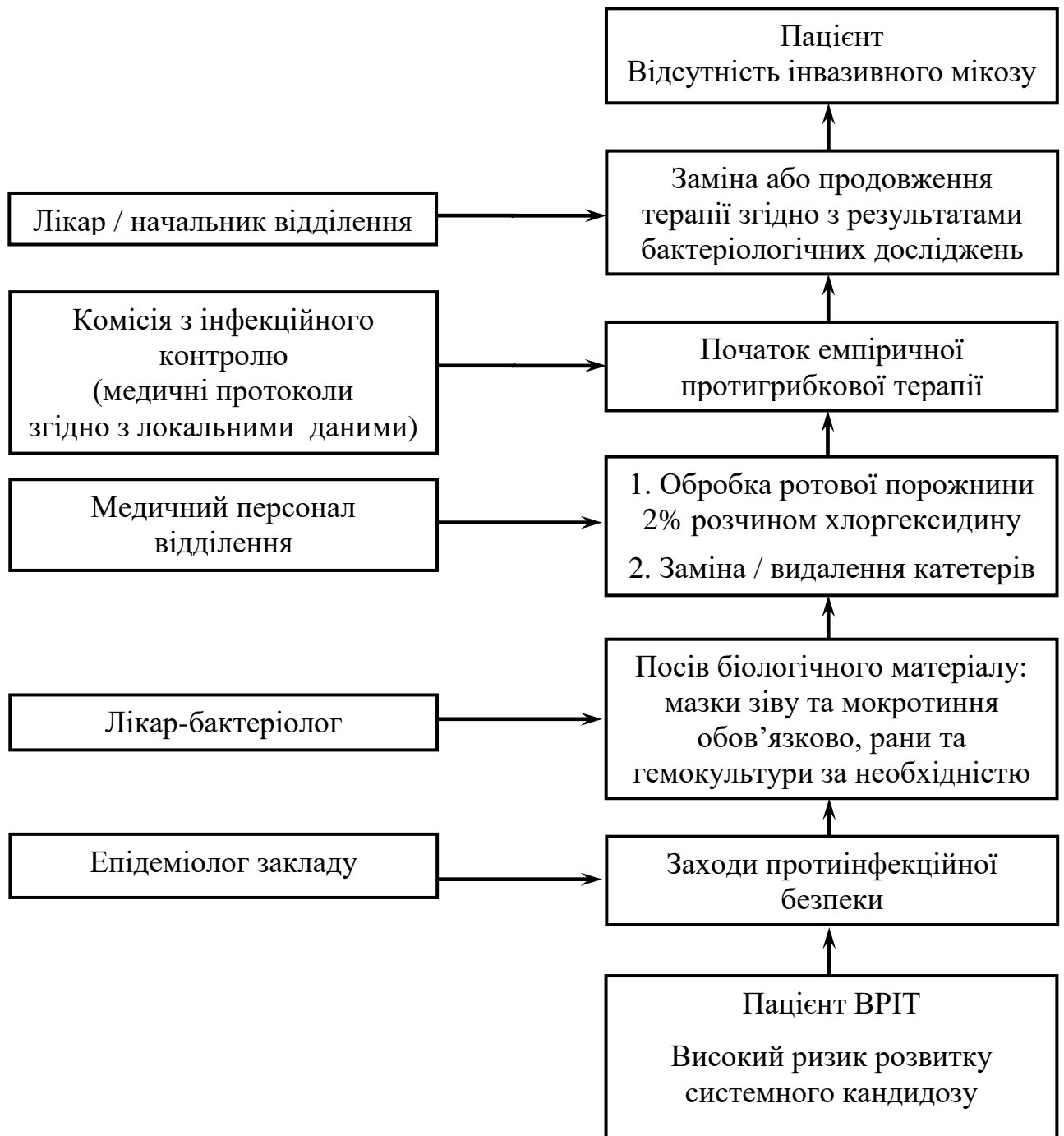


Рис. 7.3. Схеми профілактичних та лікувальних заходів щодо розповсюдження системних кандидозів у пацієнтів ВРІТ

Таким чином, в результаті роботи встановлено видову структуру збудників ВЛІ, частоту індикації та роль грибів роду *Candida* в цій структурі в умовах багатопрофільного стаціонару і ВРІТ. Обґрунтовано роль мікробіологічного моніторингу для заходів профілактики внутрішньолікарняних інфекцій і розроблено конкретні заходи щодо

попередження розповсюдження кандидозної інфекції. Встановлено біологічні особливості культивування різних штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, розкрито питання їх чутливості до найбільш поширених антимікотичних засобів, удосконалено методику лабораторної ідентифікації. Розкрито етіологічну роль дріжджоподібних грибів роду *Candida* в екзогенних шляхах контамінації та визначено, що зниження рівня контамінації в системі лікарня - пацієнт можливе тільки за умов всебічного і одночасного дотримання правил асептики, фунгітерапії і моніторингу ВЛІ із відповідним реагуванням на зміни в його структурі.

Результати роботи мають теоретичне значення, адже в межах лікувального закладу завдяки моніторингу кандидозної інфекції стали доступними адекватні розрахунки емпіричної фунгітерапії, стали відомими штамові особливості біоплівкоутворення та адгезії, чутливості до антимікотиків. Практична цінність роботи полягає в удосконаленні лабораторної діагностики, зокрема модифікації середовища для виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*, розробці профілактичних заходів протидії ВЛІ, викликаних грибами роду *Candida*.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на підставі комплексних санітарно-гігієнічних, епідеміологічних, мікробіологічних досліджень узагальнено та науково обґрунтовано необхідність мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару.

1. Визначено, що упродовж 2008-2015 рр. частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* із різних біоматеріалів хворих ВРІТ перебувала на рівні $6,4 \pm 0,3\%$ та простежувався достовірний ріст за роками ($p < 0,05$). Найбільший відсоток виділення був при дослідженні зіву – $17,2 \pm 1,7\%$, жовчі – $15,6 \pm 2,3\%$, із вмісту гайморової пазухи – $12,7 \pm 3,0\%$.

2. Показано, що частка грибів роду *Candida* у змивах з об'єктів внутрішньолікарняного середовища у відділенні реанімації склала $10,7 \pm 2,5\%$ та для повітря – $16,7 \pm 4,7\%$. Висока питома частка припадала на епідемічно значущі об'єкти: руки медичного персоналу – $13,3\%$ та апарат штучної вентиляції легень – $5,0\%$.

3. Встановлено, що у відділеннях багатопрофільного стаціонару на катетерах із центральних та периферичних вен гриби роду *Candida* були виділені в $12,3\%$ випадків, з уретральних катетерів в $11,5\%$.

4. Визначено, що видовий склад грибів роду *Candida*, виділених з біологічного матеріалу, був представлений 10 видами: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. sake*, *C. lusitaniae* і *C. krusei*, *C. kefir*, *C. guilliermondii*, *C. rugosa*. Частка виду *C. albicans* у крові складала 52% , у харкотинні 87% та інших клінічних матеріалах від хворих – 63% .

5. Встановлено, що виділені штами роду *Candida* характеризувалися такими біологічними властивостями, які свідчили про їх патогенність – здатність до адгезії, схильність до утворення біоплівок та резистентність до антигрибкових препаратів:

- на частку високоадгезивних штамів припадало $30,3\%$, середньоадгезивних – $33,3\%$. Частка високоадгезивних штамів серед

представників *C. non-albicans* у три рази перевищувала таку серед представників *C. albicans*. Високоадгезивні та середньоадгезивні штами були виділені з сечі та з крові.

- найбільшу здатність до утворення біоплівки мали штами, виділені з сечі.

- штами *C. non-albicans* були резистентні до флуконазолу, вориконазолу і амфотерицину у 48%, 26%, 24% випадків відповідно; штами *C. albicans* резистентні до флуконазолу, вориконазолу і амфотерицину у 7%, 8%, і 8% випадків відповідно.

6. Покращені умови для підвищення індикації грибів роду *Candida* на 10,8% за рахунок використання поживного середовища Сабуро з додаванням дріжджового екстракту та оптимізації режиму культивування.

7. Визначено, що мікробіологічний моніторинг кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару має складатися з досліджень трьох паралельних напрямків: біологічного матеріалу пацієнтів, змивів з рук та одягу медичного персоналу, змивів з об'єктів внутрішньолікарняного середовища відділень.

8. Науково обґрунтовано, що основними гігієнічними заходами щодо профілактики внутрішньолікарняних інфекцій кандидозної етіології є:

- постійний моніторинг об'єктів внутрішнього середовища лікарень (обладнання, рук медичного персоналу, повітря тощо);

- ефективна мікробіологічна діагностика з визначенням чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів та адекватне їх застосування;

- дотримання умов використання внутрішньовенних та сечових катетерів, апарату штучної вентиляції легень;

- гігієна рук медичного персоналу з відповідним мікробіологічним контролем;

- застосування ефективних дезінфекційних та антисептичних засобів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Адгезивні властивості мікроорганізмів та методи їх визначення : метод. рекомендації / МОЗ України, АМН України, Укр. центр наук. мед. інформації та патентно-ліценз. роботи; уклад. Т.П. Осолодченко. К. : Знання України, 2009. 19 с.
2. Антомонов М.Ю., Русакова Л.Т., Пашинская С.Л., Волощук Е.И. Информационная технология расчета интегральных оценок индивидуального и общественного здоровья // Медична інформатика та інженерія. 2016. № 1. С. 47-49.
3. Аравийский Р.А., Клишко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. СПб. : изд. дом СПбМАПО, 2004. 234 с.
4. Белобородова Н.В., Вострикова Т.Ю. Мониторинг грибковых инфекций в ОРИТ // Клинич микробиология и антимикробная химиотерапия. 2009. №1. С. 22-30.
5. Брилис В.И., Брилеве Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 112-114.
6. Бурова С.А. Инвазивные микозы в отделениях интенсивной терапии: обзор литературы (сообщение 1) // Инфекции в хирургии. 2014. Т. 12, №2. С. 12-16.
7. Вальшев А.В., Перунова Н.Б., Бухарин О.В. Механизмы формирования бактериально-грибковых ассоциаций в кишечнике человека // Проблемы медицинской микологии. 2004. № 6 (2). С. 65-69.
8. Веселов А.В., Клишко Н.Н., Кречикова О.И. и др. Активность *in vitro* флюконазола и варикозола в отношении более 10000 штаммов дрожжей: результаты 5-летнего проспективного исследования ARTEMIS Disk в России // Клинич микробиология и антимикробная химиотерапия. 2008. Т. 10. № 4. С. 345-354.
9. Веселов А.В. Эмпирическая превентивная и профилактическая терапия инвазивных микозов: современное состояние // Клиническая

- микробиология и антимикробная химиотерапия. 2009. Т.11, №4. С. 283-370.
10. Веселов А.В. Обзор рекомендаций по терапии и профилактике инвазивного кандидоза у детей. // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2017. Т 19. №2. С. 92-100.
 11. Веткина И.Ф. О необходимости внедрения стандартных подходов к обеспечению инфекционной безопасности в здравоохранении // Заместитель главного врача. 2008. № 7. С. 110-115.
 12. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // Журн. микробиол., эпидемиологии и иммунобиологии. 2005. №2. С. 56-61.
 13. Голубка О.В., Савинова Т.В., Журавльова І.В. та інші. Аналіз чутливості до антимікотиків грибів *Candida albicans* і *Candida non-albicans*, циркулюючих на території Харкова і Харківської області // Biomedical and Biosocial Anthropology. 2012. № 18. С. 80-84.
 14. Голубка О.В. Поширеність кандидозів, загальна характеристика збудника, особливості лабораторної діагностики // Annals of Mechnikov Institute. 2011. №2. С. 51-59.
 15. Голубка О.В., Савинова Е.М., Лошко Г.А., Журавлева И.В. Факторы патогенности грибов рода *Candida* // Клин. и экспериментальная патология. 2011. №4. С. 109-112.
 16. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биопленки и инфекции // Журнал инфектологии. 2010. Т. 2, № 3. С. 4-15.
 17. Доста Н.И. Инфекция мочевыводящих путей // Урогенитальные инфекции : научно-практ. конф. урологов Республики Беларусь. Минск, 2012. С. 21-22.
 18. Елинов Н.П. *Candida* species и кандидемия, состояние проблемы // Проблемы медицинской микологии. 2007. Т3, №1. С. 4-14.
 19. Жупанов А.Б., Сорочан О.П., Ковальчук В.П. та інші.

- Характеристика біологічних властивостей мікрофлори, виділеної з венозних та уретральних катетерів // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 2008. №11. С. 4-6.
20. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Махрова Т.В. Кандиды: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности. 2002. <http://www.medicum.nnov.ru/nmj/2002/1/16.php>
21. Іванова Н.М., Маврот Г.І., Зуєва М.І., Коцар О.В. Вивчення антигрибкових властивостей ліпосомальних тербінафіну та бензоїлпероксиду по відношенню до біоплівки *Candida spp.* // *Дерматологія та венерологія*. 2012. № 1. (55). С. 62.
22. Климко Н.Н., Богомолова Т.С., Колб З.К. и др. Кандидемия у пациентов в стационарах Санкт-Петербурга // *Болезни и возбудители*. 2004. № 1. С. 24-29.
23. Караев З.О., Лебедева Т.Н. Патогенез кандидоза и аллергии к грибам рода *Candida*. Баку : Тебиб, 2007. 215 с.
24. Климко Н.Н., Васильева Н.В., Елинов Н.П. Перечень основных методов и критериев диагностики микозов : метод. рекомендации. СПб : МАПО, 2001. 24 с.
25. Коновалова Т.С., Степаненко В.І., Бобир В.В. та інш. Експериментальні дослідження структурно-морфологічних змін та чутливості окремих видів грибів роду *Candida* до системних антимікотиків триазолового ряду // *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2007. № 1. С. 5-17.
26. Кубась В.Г. Этиология, патогенез и лабораторная диагностика кандидоза // *Микология*. 2010. Режим доступа : <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz3.htm>
27. Лазоришинець В.В., Салманов А.Г., Марієвський В.Ф., Хобзей М.К. Антибіотикорезистентність клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, виділених в хірургічних стаціонарах України в 2010 році // *Здоров'я нації*. 2011. №2 (18). С.162-169.

28. Лакин Г.Ф. Биометрия. изд. четвертое перераб. и доп. М. : Высшая школа, 1990. 352 с.
29. Матвійчук Н.О. Топографія збудників роду *Candida* в ротовій порожнині людини // Клінічна та експериментальна патологія. 2011. Том X, №4 (38). С. 174-175.
30. Медуницын Н.В., Бектимиров Т.А., Елизарова Т.Е. и др. Методы контроля. Микробиологический мониторинг производственной среды: методические указания : МУК 4.2.734-99 / Минздрав России. Москва, 1999.
31. Мокиенко А.В., Пушкина В.А., Самойленко В. А. и др. Биопленки госпитальных экосистем: состояние проблемы и современные подходы к ее решению / под ред. А.В. Мокиенка, В.А. Пушкиной, А.И. Гоженка. Одесса : Интерсервис, 2014. 578 с.
32. Муноз П., Бурилло А., Боуза Э. Критерии назначения противогрибковой терапии при инфекциях, вызванных *Candida spp.* в отделениях интенсивной терапии // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001. Т. 3., № 1. С. 69-78.
33. Мюллер Э.М., Лёффлер В. Микология. М. : Мир, 1995. 343 с.
34. Нікуліна Ю.Ю., Воронкова О.С., Джепа Т.В. та інш. Антибіотикорезистентність та біоплівкоутворення клінічних ізолятів *Candida spp.* // Вісник проблем біології і медицини. 2013. Вип. 3. Т. 2 (103). С. 263-267.
35. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебнопрофилактических учреждений : приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.85. Москва, 1985. 126 с.
36. Пестова Л.А. Кандидемия и острый диссеминированный кандидоз у больных в отделениях интенсивной терапии : автореф. дисс. ... канд. мед. наук : 03.00.21...14.00.37. Санкт-Петербург, 2004. 35 с.
37. Пинегина О.Н., Васильева Н.В., Сатурнова А.В. Видовой состав

- микрооранیزмов, образование биопленок и колонизации центральных и венозных уретральных катетеров // Проблемы медицинской микологии. 2013. № 4. С. 81-86.
38. Пинегина О.Н., Выборнова И.В. Определение чувствительности биопленок *Candida spp.* к антимикотикам // Проблемы медицинской микологии. 2013. Т. 15, №2. С. 112.
39. Про затвердження Державних санітарних норм та правил «Дезінфекція, передстерилізаційне очищення та стерилізація медичних виробів в закладах охорони здоров'я : наказ МОЗ України № 552 від 11.08.2014. Режим доступу : <http://zakon.rada.gov.ua/go/z1067-14>
40. Про затвердження методичних рекомендацій «Хірургічна та гігієнічна обробка рук медичного персоналу» : наказ МОЗ України № 798 від 21.09.2010. Режим доступу : http://old.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20100921_798.html
41. Про організацію контролю та профілактики післяопераційних гнійнозапальних інфекцій, спричинених мікроорганізмами, резистентними до дії антимікробних препаратів : наказ МОЗ України № 236 від 04.04.2012. Режим доступу : <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/z0912-12>
42. Реброва Р.Н. Грибы рода *Candida* при заболеваниях негрибковой этиологии. М. : Медицина, 1989. 128 с.
43. Резніченко Н.О. Сучасна діагностика грибів роду *Candida* // Буковинський медичний вісник. 2005. Vol. 9, №3. Р. 158-161.
44. Резолюція учасників круглого столу по раціональній антибактеріальній терапії захворювань дитячого віку (24.02.2010) // Здоров'я України. 2010. №1. С. 21.
45. Рибалкін М.В., Філімонова Н.І., Стрілець О.П., Стрельников Л.С. Біотехнологічне обґрунтування режиму культивування грибів роду *Candida* // Укр. біофарм. журн. 2015. Т. 36, № 1. С. 74-77.
46. Романова Ю.М., Алексеева Н.В., Смирнова Т.А. и др. Способность

- к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* // Журн. микробиол., эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. № 4. С. 38-42
47. Руденко А.В. Мікози: актуальність проблеми, лабораторна діагностика // Лабораторна діагностика. 2003. №2. С. 50-58.
48. Салманов А. Дезінфекція та стерилізація стоматологічного інструментарію // Організація роботи та забезпечення медичного закладу. 2012. № 3. С. 53-58.
49. Салманов А.Г., Марієвський М.Ф. Проблема антибіотикорезистентності та їх шляхи вирішення в Україні // Внутрішньолікарняні інфекції та механізми резистентності їх до антимікробних препаратів : матер. міжнародної науково-практ. конф., м. Київ, 29-30 вересня 2011 р. К., 2011. С. 7-11.
50. Салманов А. Профілактика внутрішньо-лікарняних інфекцій у відділеннях хірургічного профілю // Журнал заступника головного лікаря. 2015. № 4. С. 14-25.
51. Салманов А. Роль головної медичної сестри у профілактиці внутрішньолікарняних інфекцій // Управління закладом охорони здоров'я. 2012. № 5. С. 1-6.
52. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика и лечение. Руководство для врачей. М. : ТриадаХ, 2000. 45 с.
53. Сердюк А.М. Інформаційне повідомлення про створення громадської організації "Українська Асоціація громадського здоров'я" // Одеський медичний журнал. 2017. № 2. С. 82.
54. Серняк Ю.П., Фуксзон А.С., Роцин Ю.В., Криштопа, М.В. Проблема катетер-ассоциированных инфекций мочевого тракта и бактериальных биологических пленок в современной урологии. // Здоровье мужчины. 2005. №2. С. 40-44.
55. Сидоренко С.В. Клиническое значение *Pseudomonas aeruginosa* //

- Клиническая фармакология и терапия. 2003. Т. 12, № 2. С. 1-7.
56. Собкова Ж.В., Коломієць В.Б., Савицький О.Ф., Росада М.О., Сурмашева О.В. Циркуляція грибів роду *Candida* у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару // Вісник проблем біології та медицини. 2017. №2. С. 136-139.
57. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть1) // Therapia. 2014. №11-12(93). С. 13-15.
58. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть2) // Therapia. 2014. №1(94). С. 13-16.
59. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть3) // Therapia. 2014. №2(95). С. 24-27.
60. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть4) // Therapia. 2014. №3(96). С. 19-23.
61. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. *Candida spp.* как возбудители нозокомиальных инфекций и их роль в биопленкообразовании // Биопленки госпитальных экосистем: состояние проблемы и современные подходы к ее решению. Одесса, 2014. С. 340-376.
62. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В., Рощенко Л.О., Коломієць В.Б. Изучение эпидемиологических факторов инфекций, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida* в условиях многопрофильного стационара // Фармакотерапія інфекційних захворювань : матер. науково-практ. конф. Київ, 2014. С.56-57.
63. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б. Изучение этиологической значимости *Candida spp.* в структуре возбудителей внутрибольничных инфекций в ОРИТ многопрофильного

- стаціонара // XVII Кашкинские чтения : материалы конференции. Санкт-Петербург, 2014. С. 130.
64. Собкова Ж.В., Марієвський В.Ф., Покас О.В. Чутливість до антимікотиків штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з біологічного матеріалу пацієнтів багатопрофільного стаціонару // Актуальні проблеми внутрішньолікарняних інфекцій: антибіотикорезистентність, дезінфекція та стерилізація : матер. міжнародної науково-практ. конф. К., 2014. С. 57-58.
65. Собкова Ж.В., Покас О.В. Видовой состав и чувствительность к антимикотикам *Candida spp.*, выделенных у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии // Медицинские новости. 2014. № 8(239). С.79-82.
66. Собкова Ж.В., Покас О.В., Синетар Е.О. Утворення біоплівки клінічними штамми грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу // Профілактична медицина. 2015. №1-2(24). С. 38-41.
67. Собкова Ж.В., Покас О.В., Філоненко Г.В. Характеристика біоплівкоутворення і адгезивних властивостей клінічних ізолятів грибів роду *Candida* // Наукові доповіді НУБІП України. 2017. №2(66). Режим доступу : <http://journals.uran.ua/index.php/2223-1609/article/view/104302>
68. Собкова Ж.В., Полищук О.И. Динамика выделения и видовой состав дрожжеподобных грибов рода *Candida*, изолированных от больных многопрофильного стационара // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013. № 2 (8). С.155-158.
69. Собкова Ж.В., Поліщук О.І., Фастова О.О., Мачерет Я.Ю. Частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу пацієнтів багатопрофільного стаціонару // Клінічна та експериментальна патологія. 2011. №4(38). С.195.
70. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломієць В.Б. Етиология кандидозных инфекций в многопрофильном стационаре // Імунологія

- та алергологія. 2014. Дод. №1. С. 93-94.
71. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б., Францишко А.А., Латышенко С.В., Костенко И.Г. Изучение микробного пейзажа внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара. Роль дрожжеподобных грибов рода *Candida* // Сучасні аспекти військової медицини: збірник наукових праць. К., 2014. №21. С. 478-487.
72. Собкова Ж.В., Сурмашева Е.В., Никонова Н.А. Кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре – современные проблемы // Довкілля та здоров'я. 2014. №3. С. 55-59.
73. Собкова Ж.В., Сурмашева О.В., Ніконова Н.О. Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньо-лікарняної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару. К. : Укрмедпатентінформ, 2017. 4 с. (Інформаційний лист ДУ «ІГЗ ім. О.М. Марзєєва НАМНУ», №103-2017).
74. Собкова Ж.В., Сурмашова Е.В., Росада М.О. Внутрибольничная кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі : збірник тез. конф. Одеса, 2014. С. 85-88.
75. Собкова Ж.В., Філоненко Г. В., Сурмашева О. В., Росада М. О. Вивчення видового складу мікроорганізмів в біоплівках на судинах та сечових катетерах у багатoproфільному стаціонарі // Науковий журнал «ScienceRise: Biological Science». 2017. №2(5). С. 38-42.
76. Собкова Ж.В., Францішко А.А., Філоненко Г.В., Росада М.О., Міхєнкова А.І. Розробка та використання модифікованого середовища Сабуро для виділення штамів *Candida* з біологічного матеріалу від хворих // Вісник Вінницького національного медичного університету. 2017. №1. Ч 2, (Т.21). С. 323-326.
77. Сурмашева Е.В., Михиенкова А.И., Росада М.А., Собкова Ж.В., Горбатенко К.М. Санитарно-гигиеническая оценка микологического

- состояния воздуха в общественных и жилых помещениях, профилактические мероприятия // Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: Состояние и пути решения проблем : матер. пленума. Москва, 2013. С. 353-355.
78. Трихліб В.І., Ткачук С.І., Костенко І.Г., Латищенко С.В., Собкова Ж. В., Рощенко Л.О., Францишко А.А., Коломієць В.Б. Чинники розвитку ранової інфекції та мікрофлора з інфікованих ран при бойовій травмі // Сучасні аспекти військової медицини : збірник наукових праць. К., 2015. №22. С. 108-119.
79. Федорова Т.М., Кашинцева И.А. Методические указания по микробиологическому контролю в аптеках. Утверж. 29 декабря 1984 г. Министерством здравоохранения СССР за № 3182-84. М., 1984. 14 с.
80. Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Поспелова А.В. Изучение характера взаимоотношений *Candida albicans* и *Lactobacillus plantarum* при совместном культивировании на поверхности плотной питательной среды // Совр. проблемы науки и образования. 2006. № 2 С. 60-61.
81. Шулутко У.М., Буланов А.Ю., Клясова Г.А. Катетер-ассоциированная инфекция мочевыводящих путей: факторы риска и методы профилактики // Вестник интенсивной терапии. 2005. №4. С. 73-77.
82. Aiketerini M., Flevari M. Treatment of invasive candidiasis in the elderly: a review // Clin. Interv. Aging. 2013. Vol. 8. P. 1199-1208
83. Alberty C., Brun-Buisson Ch., Burchardi H. Epidemiology of sepsis and infection in JCU patient from an international multicentre cohort study // Intensiv Care Med. 2002. Vol. 28, № 2. P. 108-121.
84. Alberti C., Bouakline A., Ribauad P. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in hematology patients // J Hosp Infect. 2001. Vol. 48. P. 198-206.

85. Alendrup M.C., Sulim S., Holm E. Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia // *Clin. Microbiol.* 2011. Vol. 49. P. 3300-3308.
86. Almirante B., Rodriguez D., Park B. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003 // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. P. 1829-1835.
87. Anaissie E.J., Rex Uzun J.H., Vartivarian O. S. Predictors of adverse outcome in cancer patients with candidemia // *The Amer. J. of Medicine.* 1999. Vol.104. P. 238-245.
88. Arima H., Ashida H., Danno G. Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis* // *Biosci Biotechnol Biochem.* 2002. Vol. 66. P. 1009-1014.
89. Auler M.E., Morreira D., Rodrigues F.F. Biofilm formation on intrauterine devices in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis // *Med Mycol.* 2010. Vol. 48. P. 211-216.
90. Bachmann S.P. In vitro activity of caspofungin against *Candida albicans* biofilms // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. Vol. 46. P. 3591-3596.
91. Baillie G.S., Douglas L.J. Effect of growth rate on resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998. Vol. 42. P. 1900-1905.
92. Baillie G.S., Douglas L.J. Iron-limited biofilms of *Candida albicans* and their susceptibility to amphotericin B // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998. Vol. 42. P. 2146-2149.
93. Banerjee S.N., Emori T.G., Culver D. et al. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infection in the United States // *Am. J. Med.* 1991. Vol. 91. P. 86.
94. Beck-Sague C.M., Jarvis W.R. System Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States // *J. Inf. Dis.* 1993. Vol. 167. P. 1247-1251.

95. Blot F., Schmidt E., Nitenberg F. et al. Earlier positivity of central venous versus peripheral blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 36. P. 105-109.
96. Bokor-Bratiã M.B. Oral candidiasis-adhesion of *non-albicans Candida* species // *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke : Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad.* 2008. Vol. 114. P. 69-78.
97. Bross J., Tablot G.H., Maislin G. et al. Risk factors for hospital candidemia: a case-control study in adults without leukemia // *Am. J. Med.* 1989. Vol. 87. P. 614-620.
98. Brun-Buisson C., Abroug F., Legrand P. et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis : critical level of quantitative tip cultures // *Archives of Internal Medicine.* 1987. Vol. 147. P. 873-877.
99. Calderone R.A. *Candida* and Candidiasis. 4th Edition. Washington : ASM Press, 2002. Ch. 2. P. 15-27.
100. Chandra J. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro // *J. Dent. Res.* 2001. Vol. 80. P. 903-908.
101. Coenye A., De Prijck K., Nailis H., Nelis H.J. Prevention of *Candida albicans* biofilm formation // *The Open Mycology Journal.* 2011. Vol. 5. P. 9-20.
102. Cooley JD., Wong W.C., Jumper C.A., Straus D.C. Correlation between the prevalence of fungi and sick building syndrome // *Occup Environ Med.* 1998. Vol. 55, № 9. P. 579-584.
103. Cooper I. Microbial biofilms: case reviews of bacterial and fungal pathogens persisting on biomaterials and environmental substrata // *FORMATEX.* 2010. P. 807-817.
104. Cordeiro R.A., Raimunda S.N., Brilhante R.S.N. et al. Isolation of pathogenic yeasts in the air from hospital environments in the city of Fortaleza, northeast Brazil // *Braz J Infect Dis.* 2010. Vol. 14, № 1. P. 30-34.
105. CLSI. Referens Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition. CLSI document

- M27-A2[ISBN 1-56238-469-4]. CLSI, Pennsylvania, USA 2002.
106. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents // *Nat Rev Drug Discov.* 2003. №2. P. 114-122.
 107. Dean D.A., Burchard K.W. Surgical perspective on invasive *Candida* infections // *World J. Surg.* 1998. Vol. 22. P. 127-134.
 108. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // *Clin. Microbiol.* 2002. Vol. 15. P. 167-193.
 109. Donlan R.M. Biofilms and device-associated infections // *Emerg Infect Dis.* 2001. Vol. 7. P. 277-281.
 110. Douglas H.S.P. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro // *Infect. Immun.* 1994. Vol. 62. P. 915-921.
 111. Edmond M., Wallace S., McClish D. et al. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three – year analysis // *Clin Infect Dis.* 1999. Vol. 29. P. 239-244.
 112. Emara, M., Ahmad S., Khan Z. et al. *Candida auris* candidemia in Kuwait, 2014 // *Emerg Infect Dis.* 2015. Vol. 21(6). P. 1091-1092.
 113. Fabian W.P., Raponem T., Miller S.L., Hernandez M.T. Total and culturable airborne bacteria and fungi in arid region flood-damaged residences // *J Aerosol Sci.* 2000. Vol. 31. P. 35-36.
 114. Flevari A. Treatment of invasive candidiasis in the elderly: a review // *Clin. Interv. Aging.* 2013. Vol. 8. P. 1199-1208.
 115. Gangneux J.P., Bousseau A., Cornillet A. et al. Control of fungal environmental risk in French hospitals // *J Mycol Méd.* 2006. Vol. 16. P. 204-211.
 116. Gautret P., Rodier M.N., Kauffmann-Lacroix C., Silvain A.B. Clustering of *Candida parapsilosis* blood stream infections in the hospital of Poitiers, France: a retrospective study // *J. de Mycologie Medicale.* 2000. Vol. 10. P. 197-202.
 117. Hare M.J. Sabouraud agar for fungal growth // *Laboratory Protocols in Fungal Biol.* 2013. P. 211-216.

118. Hayes J.R., English R.R., Carr L.E. et al. Multiple-antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from commercial poultry production environments // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. Vol. 70, N 1. P. 6005-6011.
119. Hogan D.A., Kolter K. *Pseudomonas* – *Candida* interactions: an ecological role for virulence factors // *Science*. 2002. Vol. 296. P. 2229-2232.
120. Hoog G. S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi. 2nd edition. 2000. 1160 p.
121. Hooton T.M., Bradley S.F., Cardenas D.D. et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults. international clinical practice guidelines from the infectious diseases society of America // *Urinary Catheter Guidelines*. 2010. Vol. 50, № 1. P. 625-663.
122. Horn D.L., Neofytos D., Anaissie E.J. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry // *Clin. Infect. Dis.* 2009. Vol. 48. P. 1695-1703.
123. Jenkinson H.F., Douglas L.J. Interactions between *Candida* species and bacteria in mixed infections // *Polymicrobial Diseases* / K.A. Brogden, J.M. Guthmiller (eds.). ASM Press, 2002. P. 357-373.
124. Kao A.S., Brandt M.E., Pruitt W.R. et al. The Epidemiology of candidemia in two United States cities: result of a population-based active surveillance // *Clin Infec Dis.* 1999. Vol. 29. P. 1164-1170.
125. Kauffmann C.A., Vazquez J.A., Sobel J.D. et al. Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized // *Clin. Inf. Dis.* 2000. Vol. 30. P. 1-18.
126. Khardori N., Yassien M. Biofilms in device-related infections // *J Ind Microbiol.* 1995. Vol. 15. P. 141-147.
127. Klevens R.M., Edwards J.R., Richards C.L. Estimating health care-associated infections and death in U.S. hospitals, 2002 // *Public Health Rep.* 2007. Vol. 122, № 2. P. 160-166.
128. Kojic EM., Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices // *Clin*

- Microbiol Rev. 2004. Vol. 17. P. 255-267.
129. Kuhn D.M. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins // Antimicrob. Agents Chemother. 2002. Vol. 46. P. 1773-1780.
 130. Kuhn D.M. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces // Infect. Immun. 2002. Vol. 70. P. 878-888.
 131. Kumamoto C.A. *Candida* biofilms // Curr Opin Microbiol. 2002. Vol. 5. P. 608-611.
 132. Lamfon H., Porter S.R., McCullough M., Pratten J. Susceptibility of *Candida albicans* biofilms grown in a constant depth film fermentor to chlorhexidine, fluconazole and miconazole // J Antimicrob Chemother. 2004. Vol. 53. P. 383-385.
 133. Lawrence E.L., Turner I.G. Materials for urinary catheters: a review of their history and development in the UK // Med Eng Phys. 2005. Vol. 27. P. 443-453.
 134. Levy M.M., Fink M.P., Marchal J.S. et al. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS/ International Sepsis Definition Conference // Crit Care Med. 2003. Vol. 31. P. 1250-1256.
 135. Lewis R.E. Lack of catheter infection by the *efg1/efg1 cph1/cph1* double-null mutant, a *Candida albicans* strain that is defective in filamentous growth // Antimicrob. Agents Chemother. 2002. Vol. 46. P. 1153-1155.
 136. Lundstrom T.D., Sobel J. Nosocomial candiduria: a review // Clin. Inf. Dis. 2001. Vol. 32. P. 1602-1607.
 137. Magee P.T. Genome mapping and gene discovery in *Candida albicans* // ASM News. 1998. Vol. 64, № 9. P. 505-511.
 138. Maenza J.R., Merz W.G. *Candida albicans* and related species. 2nd ed. // Infectious diseases / S.L. Gorbach, J.G. Bartlett, N.R. Blacklow (eds.). Saunders, Philadelphia, 1998. P. 2313-2322.

139. Mah T.F.C., O'Toole G.A. Mechanisms of biofilmresistance to antimicrobial agents // Trends Microbiol. 2001. Vol. 9. P. 34-39.
140. Miceli M.H., Diaz J.A., Lee S.A. Emerging opportunistic yeast infections // Lancet. Infect. Dis. 2011. Vol. 11 (2). P.142-151.
141. Miliãeviã G., Mikov M., Goloãorbin-Kohn S. The importance of genus *Candida* in human samples // Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad. 2008. № 114. P. 79-95.
142. Moscato U. Hygienic management of air conditioning systems // Ann Ig. 2000. Vol. 12. P. 155-174.
143. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003 // Am. J. Infect. Control. 2003. Vol. 31. P. 481-498.
144. Nikawa H. The role of saliva and serum in *Candida albicans* biofilm formation on denture acrylic surfaces // Microb. Ecol. Health Dis. 1996. Vol. 9. P. 35-48.
145. Nucci M., Marr K.A. Emerging fungal diseases // Clin Infect Dis. 2005. Vol. 41. P. 521-529.
146. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Ann Rev Microbiol. 2000. Vol. 54. P. 49-79.
147. Pantoja L., Couto M., Junior N. et al. Fungal biodiversity of air in hospitals in the city of Fortaleza, Ceara, Brazil // Rev Bras Promoç Saude, Fortaleza. 2012. Vol. 25, № 2. P. 192-196.
148. Pappas P.G., Rex J.H., Sobel J.D. Practice guidelines for the treatment of candidiasis // Clin. Inf. Dis. 2004. Vol. 38. P. 161 - 189.
149. Pappas P., Kauffman C., Andes D. et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of America // Clin Infect Dis. 2016. Vol. 62. P. 1-50.
150. Parkar S.G., Flint S.H., Brooks J.D. Evaluation of the effect of cleaning regimes on biofilms of thermophilic bacilli on stainless steel // J Appl

- Microbiol. 2004. Vol. 96. P. 110-116.
151. Pfaller M.A., Diekema D.J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem // *Clinical Microbiology Reviews*. 2007. Vol. 20. P. 133-163.
 152. Ramage G., Martínez J.P., López-Ribot J.L. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem // *FEMS Yeast Res*. 2006. Vol. 6. P. 979-986.
 153. Ramage G., Rajendran R., Sherry L., Williams C. Fungal biofilm resistance // *Int. J. of Microbiol*. 2012. Vol. 12. P. 347-351.
 154. Ramage G. In vitro pharmacodynamic properties of three antifungal agents against preformed *Candida albicans* biofilms determined by time-kill studies // *Antimicrob. Agents Chemother*. 2002. Vol. 46. P. 3634-3636.
 155. Ramage G. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms // *Antimicrob. Agents Chemother*. 2001. Vol. 45. P. 2475-2479.
 156. Ramage G. The filamentation pathway controlled by the Efg1 regulator protein is required for normal biofilm formation and development in *Candida albicans* // *FEMS Microbiol*. 2002. Vol. 214. P. 95-100.
 157. Ramage G., Bachmann S., Patterson T. F. et al. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms // *J Antimicrob Chemother*. 2002. Vol. 49. P. 973-980.
 158. Rangel-Frausto M.S., Houston A.K., Bale M.J., Wenzel R.P. An experimental model for study of *Candida* survival and transmission in human volunteers // *European J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 1994. Vol. 13 (7). P. 590-595.
 159. Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D. Practice guidelines for the treatment of candidiasis // *Clin. Infect. Dis*. 2000. Vol. 30. P. 662-678.
 160. Romeo O., Criseo G. Morphological, biochemical and molecular characterisation of the first Italian *Candida africana* isolate // *Mycoses*. 2008. Vol. 52. P. 454-455.

161. Richardson M.D., Warnock D.W. Fungal Infection: Diagnosis and Management. 3rd Edition. Blackwell Publishing, 2003. 129 p.
162. Rios J., Camargos P., Correa L., Romanelly R. Fluconazole prophylaxis in preterm infants: a systematic review // Braz. J Infect Dis. 2017. Vol. 21(3). P. 333-338.
163. Ruping M.J.G.T., Vehreschild J.J., Cornely O.A. Antifungal treatment strategies in high risk patients// Mycoses. 2008. Vol. 51, Suppl. 2s. P. 46-51.
164. Santosaningsih D., Erikawati D., Santoso S. et al. Intervening with healthcare workers' hand hygiene compliance, knowledge, and perception in a limited-resource hospital in Indonesia: a randomized controlled trial study // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2017. Vol. 6. P. 23.
165. Schneeweiss S., Carver P., Datta K. et.al. Short-term risk of liver and renal injury in hospitalized patients using micafungin: a multicenter cohort study. // J Antimicrob Chemother. 2016. Vol. 71. P. 2938-2944.
166. Shin J.H. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of blood-stream isolates with isolates from other sources // J. Clin. Microbiol. 2002. Vol. 40. P. 1244-1248.
167. Skillman L.C. The role of exopolysaccharides in dual species biofilm development // J. Appl. Microbiol. 1999. Vol. 85. P. 13-18S.
168. Sudbery P., Gow N., Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans* // Trends Microbiol. 2004. Vol. 12. P. 317-324.
169. Sutherland I.W. The biofilm matrix – an immobilised but dynamic microbial environment // Trends Microbiol. 2001. Vol. 9. P. 222-227.
170. Tenke P., Kovacs B., Bjerklund J. et al. European and Asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections // Int J Antimicrob Agents. 2008. Vol. 31. P. 68-78.
171. The Yeasts. A taxonomic study. 4th revised and enlarged edition / C.P. Kurtzman, J.W. Fell (eds.). Elsevier, 1998, 2d Impression, 1999. P. 454-573, 782-784.
172. Tobulic S., Kratzer C., Lassnigg A., Presterl E. Antifungal susceptibility of *Candida albicans* in biofilms // Mycoses. 2011. Vol. 55. P. 199-204.

173. Tortorano A., Kibbler C., Peman J. et al. MECMM Working Group on Candidemia. Epidemiology of candidemia in Europe // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2004. Vol. 23. P. 317-322.
174. Trautner B.W., Darouiche R.O. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection // *Am. J. Infection Control*. 2004. Vol. 32. P. 177-183.
175. Uppuluri P., Chaturvedi A.K., Srinivasan A. et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle // *PLoS Pathog*. 2010. Vol. 6(3): e1000828.
176. Vinsent J.L., Bihari G.J., Suter H.V. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe (EPIC) // *JAMA*. 1998. Vol. 274. P. 639-644.
177. Vincent O.L., Sakr Y., Sprung C.L. et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study // *Crit Care Med*. 2006. Vol. 34, № 2. P. 344-353.
178. Viscoli C., Girmenia C., Marinus A. et al. Surveillance study of fungemia in cancer patients in Europe. Invasive Fungal Infections Cooperative Group (IFIG of EORTC) Trends in Invasive Fungal Infections Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on *Candida* species // *Clin Inf. Dis*. 1999. Vol. 20. P.1526-1530.
179. Watnick P., Kolter R. Biofilm, city of microbes // *Bacteriol*. 2000. Vol. 182. P. 2675-2679.
180. Wey S.B., Mori M., Pfaller M.A. Risk factors for hospital-acquired candidemia: a matched case-control study // *Arch. Intern. Med*. 1989. Vol. 149. P. 2349.
181. Whiteway M., Bachewich C. Morphogenesis in *Candida albicans* // *Annu. Rev. Microbiol*. 2007. Vol. 61. P. 529-553.
182. Wingard J.R. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens on oncology patients // *Clin. Inf. Dis*. 1995. Vol. 20. P.115-125.
183. Zheng X., Wang Y., Wang Yu. Hgc1, a novel hypha-specific G1 cyclin-related protein regulates *Candida albicans* hyphal morphogenesis // *EMBO J*. 2004. Vol. 23. P. 1845-1856.

ДОДАТОК А

Таблиця А.1

Кількість виділених культур дріжджоподібних грибів роду *Candida*

		2008 рік	2009 рік	2010 рік	2011 рік	2012 рік	2013 рік	2014 рік	2015 рік
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Зів, мигдалини, ротова порожнина	кількість зразків	372	380	319	452	423	460	491	503
	кількість позитивних зразків	64	95	37	44	65	93	95	98
	частота виділення, %	17,2	25,0	11,6	9,7	15,4	20,2	19,3	19,5
Ніс	кількість зразків	378	377	184	308	323	239	347	358
	кількість позитивних зразків	2	4	0	4	4	5	5	9
	частота виділення, %	0,5	1,1	0,0	1,3	1,2	2,1	1,4	2,5
Вухо	кількість зразків	66	86	94	89	45	86	158	175
	кількість позитивних зразків	7	9	5	2	4	9	7	9
	частота виділення, %	10,6	10,5	5,3	2,2	8,9	10,5	4,4	5,1
Вміст гайморової пазухи	кількість зразків	10	16	26	14	11	10	22	34
	кількість позитивних зразків	0	1	5	4	1	1	3	5
	частота виділення, %	0,0	6,3	19,2	28,6	9,1	10,0	13,6	14,7
Жовч	кількість зразків	63	92	114	120	124	119	123	133
	кількість позитивних зразків	2	15	9	23	18	25	24	27
	частота виділення, %	3,2	16,3	7,9	19,2	14,5	21,0	19,5	20,3

Продовження табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Сеча	кількість зразків	805	951	1036	712	1408	1573	1634	1649
	кількість позитивних зразків	31	29	20	38	65	72	66	70
	частота виділення, %	3,9	3,0	1,9	5,3	4,6	4,6	4,0	4,2
Вміст кісти нирки, сечового міхура	кількість зразків	57	75	110	42	37	32	34	47
	кількість позитивних зразків	1	1	2	0	0	0	1	2
	частота виділення, %	1,8	1,3	1,8	0,0	0,0	0,0	2,9	4,3
УГВ	кількість зразків	805	1001	1275	870	1012	1197	941	963
	кількість позитивних зразків	51	88	83	34	67	65	51	56
	частота виділення, %	6,3	8,8	6,5	3,9	6,6	5,4	5,4	5,8
Вміст черевної порожнини	кількість зразків	51	45	48	41	40	80	103	131
	кількість позитивних зразків	2	1	0	0	2	5	4	7
	частота виділення, %	3,9	2,2	0,0	0,0	5,0	6,3	3,9	5,3
Рана	кількість зразків	123	145	144	143	169	258	293	313
	кількість позитивних зразків	0	0	7	13	6	12	12	14
	частота виділення, %	0,0	0,0	4,9	9,1	3,6	4,7	4,1	4,5
Всього		5,9± 0,5	7,7± 0,5	5,0± 0,4	5,8± 0,4	6,5± 0,4	7,0±0,4	6,5± 0,7	6,9± 1,3

ДОДАТОК Б

Таблиця Б.1

Структура бактеріальних та грибкових асоціацій,
провокуючих внутрішньо-лікарняні інфекції

Вид асоціації	кров	сеча	мокротиння	зів	рана	вухо, гайморові	пазухи	ліквор
<i>S.aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i>			+					
<i>S. aureus</i> + <i>S. mitis</i>			+					
<i>S. aureus</i> + <i>P. mirabilis</i>			+					
<i>S. aureus</i> + <i>Acinetobacter</i> spp.			+		+			
<i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i>			+					
<i>S. aureus</i> + <i>K. oxytoca</i>			+					
<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>			+			+		
<i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterococcus</i> spp.		+	+					
<i>P. aeruginosa</i> + <i>S. epidermidis</i>			+					
<i>P. aeruginosa</i> + <i>Trichosporon</i> spp.		+						
<i>Enterococcus</i> spp. + <i>E. coli</i>		+	+					
<i>Enterococcus</i> spp. + <i>K. pneumoniae</i>					+			+
<i>E. coli</i> + <i>S. saprophyticus</i>			+					
<i>K. oxytoca</i> + <i>S. saprophyticus</i>			+					
<i>K. pneumoniae</i> + <i>S. epidermidis</i>			+					
<i>Acinetobacter</i> spp. + <i>Corinebacter</i> spp.		+						
<i>S. saprophyticus</i> + <i>Corinebacter</i> spp.		+				+		
<i>Neisseria</i> spp. + <i>S. mitis</i>			+					
<i>C. albicans</i> + <i>C. sake</i>	+							
<i>C. albicans</i> + <i>E. coli</i>		+	+	+				
<i>C. albicans</i> + <i>S. aureus</i>			+		+			

Продовження табл. Б.1

<i>C. albicans</i> + <i>P. aeruginosa</i>			+		+		
<i>C. albicans</i> + <i>S. epidermidis</i>	+		+				
<i>C. albicans</i> + <i>S. saprophyticus</i>		+	+		+	+	
<i>C. albicans</i> + <i>S. mitis</i>			+				
<i>C. albicans</i> + <i>Enterococcus</i> spp.	+	+			+		
<i>C. albicans</i> + <i>K. pneumoniae</i>			+				
<i>C. albicans</i> + <i>Acinetobacter</i> spp.		+					
<i>C. albicans</i> + <i>P. mirabilis</i>		+					
<i>C. albicans</i> + <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i>			+				
<i>C. albicans</i> + <i>S. aureus</i> + <i>P. mirabilis</i>			+				
<i>C. albicans</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>P. aeruginosa</i>			+				
<i>C. tropicalis</i> + <i>S. epidermidis</i>		+					
<i>C. glabrata</i> + <i>E. coli</i>		+					

Примітка: + - встановлена наявність асоціації

ДОДАТОК В

Таблиця В.1

Адгезивна активність грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу

№ штаму	Культура	Біоматеріал	Значення ІАМ, од
366	<i>C. tropicalis</i>	сеча	5,0±2,1
4	<i>C. albicans</i>	сеча	6,2±2,0
258	<i>C. tropicalis</i>	сеча	2,5±0,9
248	<i>C. albicans</i>	сеча	3,7±1,3
259	<i>C. albicans</i>	сеча	4,2±2,1
404	<i>C. glabrata</i>	сеча	2,5±1,0
396	<i>C. glabrata</i>	мокротиння	1,7±0,9
391	<i>C. albicans</i>	мокротиння	3,1±1,0
378	<i>C. albicans</i>	мокротиння	2,2±1,1
376	<i>C. albicans</i>	мокротиння	1,9±0,9
408	<i>C. krusei</i>	мокротиння	4,4±2,3
163	<i>C. sake</i>	мокротиння	5,8±2,6
280	<i>C. albicans</i>	мокротиння	3,3±1,3
356	<i>C. krusei</i>	кров	5,8±2,4
1	<i>C. albicans</i>	кров	5,6±3,1
168	<i>C. lusitaniae</i>	кров	4,1±2,0
155	<i>C. albicans</i>	кров	3,8±1,0
156	<i>C. albicans</i>	кров	3,9±2,1
125	<i>C. parapsilosis</i>	кров	3,9±1,6
122	<i>C. sake</i>	кров	3,9±1,2
375	<i>C. albicans</i>	зів	2,7±0,9
373	<i>C. albicans</i>	зів	2,2±0,8
362	<i>C. tropicalis</i>	зів	4,2±2,0
361	<i>C. albicans</i>	зів	2,0±0,8
360	<i>C. albicans</i>	зів	4,4±2,1
400	<i>C. albicans</i>	зів	2,6±0,9
401	<i>C. albicans</i>	зів	2,3±0,9
394	<i>C. albicans</i>	зів	1,2±0,4
384	<i>C. albicans</i>	зів	1,4±0,6
402	<i>C. albicans</i>	зів	1,0±0,6
393	<i>C. albicans</i>	зів	1,0±0,5
374	<i>C. albicans</i>	зів	2,1±1,2
368	<i>C. albicans</i>	зів	2,1±0,8

ДОДАТОК Г

Список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації

1. Собкова Ж.В., Коломієць В.Б., Савицький О.Ф., Росада М.О., Сурмашева О.В. Циркуляція грибів роду *Candida* у внутрішньому середовищі багатопрофільного стаціонару // Вісник проблем біології та медицини. 2017. №2. С. 136-139. (Отримання первинних матеріалів, накопичення та обробка інформації, обробка отриманих результатів).

2. Собкова Ж.В., Францішко А.А., Філоненко Г.В., Росада М.О., Міхієнкова А.І. Розробка та використання модифікованого середовища Сабуро для виділення штамів *Candida* з біологічного матеріалу від хворих // Вісник Вінницького національного медичного університету. 2017. №1. Ч 2, (Т.21). С. 323-326. (Основна ідея, отримання первинних матеріалів, обробка отриманих результатів).

3. Собкова Ж.В., Сурмашева Е.В., Никонова Н.А. Кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре – современные проблемы // Довкілля та здоров'я. 2014. №3. С. 55-59 (Отримання первинних матеріалів, накопичення та обробка інформації, обробка отриманих результатів).

4. Собкова Ж.В., Покас О.В. Видовой состав и чувствительность к антимикотикам *Candida* spp., выделенных у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии // Медицинские новости. 2014. № 8(239). С.79-82. (Отримання первинних матеріалів, дослідження чутливості мікроорганізмів, підготовка до публікації).

5. Собкова Ж.В., Філоненко Г. В., Сурмашева О. В., Росада М. О. Вивчення видового складу мікроорганізмів в біоплівках на судинах та сечових катетерах у багатопрофільному стаціонарі // Науковий журнал «ScienceRise: Biological Science». 2017. №2(5). С. 38-42. (Отримання первинних матеріалів, обробка отриманих результатів).

6. Собкова Ж.В., Покас О.В., Філоненко Г.В. Характеристика

біоплівкоутворення і адгезивних властивостей клінічних ізолятів грибів роду *Candida* // Наукові доповіді НУБІП України. 2017. №2(66). Режим доступу : <http://journals.urau.ua/index.php/2223-1609/article/view/104302> (*Основна ідея, отримання первинних матеріалів, статистична обробка, аналіз показників ступеня утворення біоплівок та адгезії, підготовка до публікації*).

7. Собкова Ж.В., Полищук О.И. Динамика выделения и видовой состав дрожжеподобных грибов рода *Candida*, изолированных от больных многопрофильного стационара // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013. № 2 (8). С.155-158. (*Отримання первинних матеріалів, обробка отриманих результатів*).

8. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. *Candida* spp. как возбудители нозокомиальных инфекций и их роль в биопленкообразовании // Биопленки госпитальных экосистем: состояние проблемы и современные подходы к ее решению. Одесса, 2014. С. 340-376. (*Накопичення та обробка інформації, аналіз показників ступеня утворення біоплівок, написання розділу роботи*).

9. Собкова Ж.В., Покас О.В., Синетар Е.О. Утворення біоплівок клінічними штамами грибів роду *Candida*, виділених з різного біологічного матеріалу // Профілактична медицина. 2015. №1-2(24). С. 38-41. (*Основна ідея, отримання первинних матеріалів, статистична обробка, аналіз показників ступеня утворення біоплівок, підготовка до публікації*).

10. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б., Францишко А.А., Латышенко С.В., Костенко И.Г. Изучение микробного пейзажа внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара. Роль дрожжеподобных грибов рода *Candida* // Сучасні аспекти військової медицини : збірник наукових праць. К., 2014. №21. С. 478-487. (*Отримання первинних матеріалів, обробка отриманих результатів і підготовка публікації до друку*).

11. Трихліб В.І., Ткачук С.І., Костенко И.Г., Латышенко С.В., Собкова Ж. В., Рощенко Л.О., Францишко А.А., Коломієць В.Б. Чинники розвитку

ранової інфекції та мікрофлора з інфікованих ран при бойовій травмі // Сучасні аспекти військової медицини : збірник наукових праць. К., 2015. №22. С. 108-119. *(Отримання первинних матеріалів, обробка отриманих результатів).*

12. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть1) // Therapia. 2014. №11-12(93). С. 13-15. *(Підготовка матеріалу до публікації).*

13. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть2) // Therapia. 2014. №1(94). С. 13-16. *(Підготовка матеріалу до публікації).*

14. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть3) // Therapia. 2014. №2(95). С. 24-27. *(Підготовка матеріалу до публікації).*

15. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В. Кандиды. Свойства и роль в этиологии заболеваний человека (Часть4) // Therapia. 2014. №3(96). С. 19-23. *(Підготовка матеріалу до публікації).*

16. Собкова Ж.В., Поліщук О.І., Фастова О.О., Мачерет Я.Ю. Частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* з біологічного матеріалу пацієнтів багатопрофільного стаціонару // Клінічна та експериментальна патологія. 2011. №4(38). С.195. *(очна форма).*

17. Сурмашева Е.В., Михиенкова А.И., Росада М.А., Собкова Ж.В., Горбатенко К.М. Санитарно-гигиеническая оценка микологического состояния воздуха в общественных и жилых помещениях, профилактические мероприятия // Приоритеты профилактического здравоохранения в устойчивом развитии общества: Состояние и пути решения проблем : матер. пленума. Москва, 2013. С. 353-355. *(очна форма).*

18. Собкова Ж.В., Рощенко Л.О., Коломієць В.Б. Этиология кандидозных инфекций в многопрофильном стационаре // Імунологія та алергологія. 2014. Дод. №1. С. 93-94. *(очна форма).*

19. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Покас О.В., Рощенко Л.О., Коломієць

В.Б. Изучение эпидемиологических факторов инфекций, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida* в условиях многопрофильного стационара // Фармакотерапія інфекційних захворювань : матер. науково-практ. конф. Київ, 2014. С.56-57. (очна форма).

20. Собкова Ж.В., Марієвський В.Ф., Покас О.В. Чутливість до антимікотиків штамів дріжджоподібних грибів роду *Candida*, виділених з біологічного матеріалу пацієнтів багатoproфільного стаціонару // Актуальні проблеми внутрішньолікарняних інфекцій: антибіотикорезистентність, дезінфекція та стерилізація : матер. міжнародної науково-практ. конф. К., 2014. С. 57-58. (очна форма).

21. Собкова Ж.В., Сурмашова Е.В., Росада М.О. Внутрибольничная кандидозная инфекция в многопрофильном стационаре // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі : збірник тез. конф. Одеса, 2014. С. 85-88. (очна форма).

22. Собкова Ж.В., Костенко И.Г., Рощенко Л.О., Коломиец В.Б. Изучение этиологической значимости *Candida* spp. в структуре возбудителей внутрибольничных инфекций в ОРИТ многопрофильного стационара // XVII Кашкинские чтения : материалы конференции. Санкт-Петербург, 2014. С. 130. (очна форма).

23. Собкова Ж.В., Сурмашева О.В., Ніконова Н.О. Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару. К. : Укрмедпатентінформ, 2017. 4 с. (Інформаційний лист ДУ «ІГЗ ім. О.М. Марзєєва НАМНУ», №103-2017).

ДОДАТОК Д

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Начальник Національного військово-
медичного клінічного центру «ГВКГ»

МО України генерал-майор м/с

Казмірчук А.П.

"19" 02 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару
1. Установа-розробник, поштова адреса, П.І.Б. авторів: Державна Установа «Інститут Громадського Здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», Собкова Ж.В., д. мед. н. Сурмашева О.В., к. біол. н. Ніконова Н.О.
2. Джерело інформації (назва, рік видання метод. рекомендацій, інформ. листа, посилання на патент, наукову статтю, монографію): Інформаційний лист №103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару» / Ж.В. Собкова, О.В. Сурмашева, Н.О. Ніконова. – К.: Укрмедпатентінформ, 2017 р. – 4с.
3. Назва лікувально-профілактичного закладу: Національний військово-медичний клінічний центр «ГВКГ» МО України.
4. Термін впровадження: початок – 2018 р.
завершення – 2019 р.
5. Загальна кількість спостережень: 180
6. Ефективність впровадження (відповідно до критеріїв, викладених в джерелі інформації): удосконалення протиепідемічних заходів ВЛІ
8. Зауваження, пропозиції:

Заступник начальника Національного
Військово-медичного клінічного центру «ГВКГ»,
головний хірург МО України, п-к м/с

І.П. Хоменко

Начальник клініки невідкладної
медичної допомоги, інтенсивної терапії,
анестезіології, реанімації та детоксикації,
Головного військово-
медичного клінічного центру «ГВКГ»,
п-к м/с

В.М. Мельник

ЗАТВЕРДЖУЮ

Начальник Української військово-медичної академії МО України

д.мед.н., професор

полковник медичної служби

В.Л. САВИЦЬКИЙ

16 лютого 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції/заяви/впровадження: Інформаційний лист №103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару».
2. Установа, що пропонує впровадження: Державна Установа «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України»
3. Джерело інформації: Інформаційний лист №103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару»/ Ж.В.Собкова, О.В.Сурмашева, Н.О.Ніконова. – К.: Укрмедпатентінформ, 2017р. – 4с.
4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри військово-профілактичної медицини УВМА при підготовці і викладанні курсу лекцій та проведенні практичних занять з епідеміології та бактеріології.
5. Де і коли впроваджено: кафедра Військово-профілактичної медицини Української військово - медичної академії, 25.01.2018р.
6. Термін впровадження: з 25.01.2018р. по 25.05.2018 р. Протокол засідання кафедри №189 від 25 січня 2018 року.
7. Зауваження, пропозиції: Відсутні

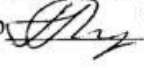
16 лютого 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Начальник кафедри військово-профілактичної медицини УВМА

полковник медичної служби

А.А, КОЖОКАРУ

«Затверджую»
 Проректор з наукової роботи
 НМУ імені О.О. Богомольця
 професор  Т.М. Черенко
 «19» _____ 12 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Інформаційний лист № 103 - 2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару».

2. Запропоновано: Державною Установою «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України».

3. Джерело інформації: Інформаційний лист № 103 - 2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару»/ Ж.В. Собкова, О.В. Сурмашева, Н.О. Ніконова. – К.: Укрмедпатентінформ, 2017 р. – 4 с.

4. При проведенні яких робіт впроваджена пропозиція: пропозиція впроваджена у навчальний процес при підготовці і викладанні курсу лекцій та проведенні практичних занять.

5. Де і коли впроваджено: кафедра гігієни та екології № 3 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

6. Термін впровадження: 04.09.2017 р. – 01.12.2017 р. Протокол засідання кафедри № 10 від 07.12. 2017 р.

7. Ефективність впровадження: розширення бази знань лікарів-інтернів, а також студентів щодо заходів профілактики внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатoproфільного стаціонару.

8. Зауваження та пропозиції: Відсутні.

Відповідальний за впровадження

завідувач кафедри гігієни та екології № 3, д. мед. н., професор

доцент кафедри, к. мед. н.
 доцент кафедри, к. мед. н.



С.І. Гаркавий

І.І. Ткаченко

І.М. Філатова

“ ЗАТВЕРДЖУЮ ”

Перший проректор НМАПО імені П.Л.Шупика
(керівник установи, в якій
впроваджена пропозиція)

д.м.н, проф., член-кор. НАМН України Вдовиченко Ю.П.
лютого

2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження : Інформаційний лист №103-2017 «Проведення мікробіологічного моніторингу та профілактичних заходів внутрішньолікарняної кандидозної інфекції в умовах багатопрофільного стаціонару»
2. Установа, що пропонує впровадження:- Державна Установа «Інститут Громадського Здоров'я ім.О.М.Марзєєва НАМН України»

3. Джерело інформації:- Укрмедпатентінформ

педагогічний процес кафедри мікробіології,

4. Впроваджено в :-----
епідеміології та інфекційного контролю(цикли
спеціалізації, ПАЦ, ТУ)

2018

2020

5. Термін впровадження: з----- по -----

6. Загальна кількість спостережень

7. Зауваження, пропозиції:-----

Необхідно доповнити мікробіологічний моніторинг результатами молекулярно-біологічних досліджень(ПЛР)

14 лютого

-----2018 р.

Відповідальний за впровадження
Професор кафедри, д.м.н Кирик Д.Л.

