

На правах рукописи



Чарушина Ирина Петровна

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

14.02.02 – Эпидемиология

14.01.09 – Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени доктора
медицинских наук

Пермь - 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты:

Фельдблюм Ирина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор.

Воробьева Наталья Николаевна, доктор медицинских наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Брусина Елена Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой эпидемиологии. Департамент охраны здоровья населения Кемеровской области, главный эпидемиолог.

Стасенко Владимир Леонидович, доктор медицинских наук, профессор, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой эпидемиологии.

Волчкова Елена Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой инфекционных болезней.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.128.02 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г.Пермь, ул. Петропавловская, д.26).

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.fcisk.ru ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и в библиотеке ФГБОУ ВО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России (614990, г.Пермь, ул. Петропавловская, д.26), с авторефератом - на сайтах www.fcisk.ru и www.vak.ed.gov.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Землянова Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Оппортунистические инвазивные микозы представляют значительную проблему для здравоохранения, в связи с их ежегодным ростом (Корнишева В.Г., 2013; Brown G., 2012). К наиболее уязвимым категориям относятся иммунокомпрометированные лица с высоким риском развития этих заболеваний. Эпидемия ВИЧ-инфекции способствует формированию популяции людей с повышенной восприимчивостью к грибковым болезням (Покровский В.В., 2016). Наиболее часто у ВИЧ-инфицированных лиц встречаются такие нозологические формы инвазивных микозов, как криптококкоз и кандидоз.

Начиная с 80-х гг. XX столетия наблюдается значительный рост случаев криптококкоза у ВИЧ-инфицированных людей. В мире ежегодно регистрируется около 1 млн. больных, из них умирает 680 тыс. человек. Распространенность заболевания составляет от 0,3 до 0,5 случаев на 100 тыс. населения (Волкова О.Е., 2014). На долю больных криптококкозом приходится от 3 до 8% пациентов с ВИЧ-инфекцией в странах Европы и США. В настоящее время это заболевание входит в число трех наиболее опасных для жизни оппортунистических инфекций у больных СПИДом. Без лечения от криптококкового менингоэнцефалита умирает 100% пациентов (Рахманова А.Г., 2004; Лесовой В.С., 2008).

Наряду с этим, в последние годы во всем мире отмечается увеличение количества больных инвазивным кандидозом (ИК). Ежегодно регистрируется более 400000 случаев этого заболевания. По данным Brown G. et al. (2012), заболеваемость ИК составляет от 2,4 до 29,0 случаев на 100 тыс. населения в год. Летальность среди отдельных групп больных достигает 73%. У пациентов с иммуносупрессией ИК может возникать как внутрибольничная инфекция (Diekema D., 2012; Montagna M.T., 2013; George J., 2016). Развитие инвазивных микозов обуславливает увеличение сроков госпитализации и стоимости лечения в 2-8 раз. Так, каждый случай ИК у госпитализированного пациента приводит к росту расходов на его лечение примерно на 40000 долларов США (Meyer E., 2013; Горбич Ю.Л., 2013; Eggimann Ph., 2015).

Степень разработанности темы исследования. В литературе имеется немало исследований, проводимых в РФ (Бурова С.А., 2014; Нехаев И.В., 2014) и за рубежом (Cleveland A.A., 2012; Lockhart S.R., 2012; Oeser C., 2013), посвященных изучению факторов риска возникновения инвазивных грибковых инфекций у различных категорий пациентов. Ими являются иммунодефицитные состояния, инвазивные вмешательства с

нарушением целостности кожи и слизистых оболочек, использование антибиотиков, глюкокортикостероидов, цитостатиков, системных противогрибковых препаратов и др.

Возбудители грибковых инфекций широко распространены в природе и могут находиться на любых объектах внешней среды, в том числе на предметах больничной обстановки. Инвазивные микозы возникают в результате эндогенного или экзогенного инфицирования. Однако вопросы роли больничной среды в возникновении инвазивных микозов исследованы недостаточно полно. Отсутствуют публикации, отражающие состояние и наличие взаимосвязи контаминации дрожжевыми микромицетами объектов больничной среды стационаров для иммунокомпрометированных больных и колонизации ими госпитализированных пациентов. Среди возможных путей передачи наиболее изученным является искусственный – при введении наркотических препаратов и применении инвазивных медицинских манипуляций. Некоторые авторы выделяют алиментарный, воздушно-капельный и контактно-бытовой пути передачи, однако убедительных доказательств их реализации в доступной литературе отсутствуют (Елинов Н.П., Васильева Н.В., 2010; Хоспентал Д.Р., 2013; George J., 2016).

Многие ученые отмечают большое разнообразие патоморфологических изменений, вызванных микромицетами в различных органах, а также поражение сосудов. Часто наблюдается образование участков некроза, либо гранулем, зависящих от длительности патологического процесса (Хмельницкий О.К., Васильева Н.В., 2005; Константинова А.М., 2010; Voelz K., 2010), однако сочетанное воздействие на организм грибов, бактерий, простейших требует дальнейшего изучения.

Патогенез инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) представлен результатами исследований отечественных и зарубежных авторов, однако данные об отдельных этапах патологического процесса – входных воротах, первичных очагах, механизмах дальнейшего распространения весьма противоречивы (Хмельницкий О.К., 2005; Perlroth J., 2007; Baddley J., 2008; Сергеев А.Ю.; 2008).

Клиническая картина инвазивных грибковых инфекций проявляется большим разнообразием форм и тяжести течения (Климко Н.Н., 2010). Так, криптококкоз может протекать как острое или хроническое заболевание. Клинические проявления его обусловлены выраженностью иммунодефицита пациента и характеризуются поражением ЦНС, легких и других органов (Кэрл А. Кауфман, 2010; Бойко А.Н., 2013).

ИК также имеет множество вариантов клинического течения, когда в патологический процесс вовлекаются практически все органы и ткани. Нередко его

симптомы сходны с таковыми при бактериальном сепсисе, что вызывает значительные трудности в их дифференциальной диагностике.

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

В мире не существует обязательной регистрации инвазивных микозов, поэтому истинная заболеваемость, в том числе среди ВИЧ-инфицированных, не известна. Факторы риска их возникновения у больных с ВИЧ-инфекцией изучены недостаточно. Механизмы формирования эпидемического процесса инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных лиц, госпитализированных в специализированный стационар, исследованы не в полной мере. Имеются доказательства роли инвазивных процедур в развитии ИК, однако убедительные данные о возможности передачи заболевания контактно-бытовым путем в доступной литературе отсутствуют.

Патогенез инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции до конца не изучен. Требуют уточнения вопросы первичной локализации возбудителей, их персистенции и дальнейших путей диссеминации в организме человека.

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

Известно, что своевременное и адекватное применение антимикотических препаратов в значительной степени определяет исход инвазивных грибковых инфекций. Однако, до сих пор терапия остается таковой лишь у 15-40% больных (Климко Н.Н., 2013), что связано во многом с недостатком данных о клинических проявлениях этих заболеваний. В связи с этим, выявление клинических особенностей течения инвазивных микозов (кандидоза, криптококкоза) у ВИЧ-инфицированных лиц на поздних стадиях заболевания является актуальной задачей.

Все вышеизложенное послужило основанием для проведения настоящего исследования.

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

Задачи исследования:

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

Научная новизна.

Впервые изучена распространенность инвазивных микозов (криптококкоза и кандидоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов в специализированных медицинских организациях.

Проведена идентификация медицинских и общественно-поведенческих факторов риска развития инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях.

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

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

Установлена зависимость патоморфологических изменений органов и тканей при ИК у ВИЧ-инфицированных больных от характера сопутствующей микрофлоры. Они проявляются альтеративным воспалением с формированием гнойных очагов при бактериальной инфекции и продуктивным, с формированием гранулем – при туберкулезе.

Уточнены патогенетические закономерности ИК у ВИЧ-инфицированных больных. Первичным очагом и отправной точкой для дальнейшего распространения кандид в кровотоке являются ротоглотка и верхние дыхательные пути. Органами-мишенями становятся легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система.

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

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

Доказано и научно обосновано выделение специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов как учреждения высокого риска возникновения инвазивных микозов. Разработаны основы эпидемиологической диагностики ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных. Доказано, что в больничной среде могут формироваться, длительно циркулировать и передаваться контактно-бытовым путем вновь поступающим в стационар пациентам госпитальные штаммы *C. albicans* с последующим развитием ИК.

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

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

Теоретическая значимость работы. Выявлены особенности клинического течения инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции и патоморфологические изменения органов и тканей в зависимости от характера сопутствующей микрофлоры.

Полученные новые данные расширяют представления о морфологических изменениях и патогенетических механизмах инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания.

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

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

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

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

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

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

Выделение специализированных стационаров для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов в группу медицинских организаций высокого риска возникновения инвазивных микозов диктует необходимость постоянного микробиологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за ИСМП, предусматривающего контроль

циркуляции микромицетов и изучение их свойств, что позволит обеспечить максимальную обоснованность профилактических и противоэпидемических мероприятий.

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

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

Положения, выносимые на защиту:

1. Инвазивные микозы (криптококкоз, кандидоз) у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания характеризуются высокой распространенностью с тенденцией к росту. Факторами риска их развития являются как медицинские (тяжесть состояния пациентов, предшествующее стационарное лечение, оперативные вмешательства, нахождение в ОРИТ и ИВЛ, длительность ВИЧ-инфекции, наличие сопутствующей патологии, степень иммуносупрессии), так и общественно-поведенческие (нахождение в учреждениях ФСИН, отсутствие трудоустройства, зависимость от ПАВ, жилищные условия) факторы.

2. Клинико-патогенетические особенности инвазивных микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции характеризуются развитием тяжелого генерализованного процесса. При криптококкозе возникает манифестная клиническая картина поражения ЦНС и легких в отсутствии признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи. Инвазивный кандидоз протекает как кандидемия или острый диссеминированный кандидоз с поражением легких в виде пневмонии, абсцесса, плеврита, эндокарда и мозговых оболочек при отсутствии в половине случаев высокой лихорадки.

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

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов и обоснованность выводов подтверждается длительным периодом наблюдений, репрезентативным объемом фактического материала, разнообразием современных,

адекватных поставленным задачам, методов исследования. Результаты базируются на открытых проверяемых данных. Для статистической обработки результатов исследования использован встроенный пакет анализа MS Excel, программа Statistica-6.

Результаты работы представлены, доложены и обсуждены на: Всероссийских Конгрессах по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2010, 2015); Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микологии – XIII Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2010); 6 Всероссийском конгрессе по медицинской микологии с международным участием (Москва, 2014); 3 конгрессе евро-азиатского общества по инфекционным болезням с международным участием (Екатеринбург, 2014); ежегодных Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2015, 2016)» (Москва, 2015, 2016); Международном научном конгрессе, посвященном 100-летию ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера «Актуальные вопросы медицины – 21 век» (Пермь, 2016); ежегодных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы инфекционных болезней» (Пермь, 2013, 2014, 2015); конференции «Об организации работы по раннему выявлению и профилактике ВИЧ-инфекции в Пермском крае» (Пермь, 2015); выставке «Медицина и здоровье» (Пермь, 2015), региональной конференции «Итоги работы по профилактике, выявлению и лечению больных ВИЧ-инфекцией за 2017 г» (Пермь, 2018).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования использованы:

1. При разработке методических рекомендаций (Опportunистические микозы: методические рекомендации / соавт. Воробьева Н.Н. – Пермь: ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А.Вагнера Росздрава, 2011. – 35 с.; Микологическое исследование помещений различного функционального назначения. Исследование биологического материала от групп риска на грибы в медицинских организациях: методические рекомендации/ соавт. Александрова Г.А., Крылова И.О., Семериков В.В., Четина О.А., Варецкая Т.А. и др. – Пермь: ФБГОУ ВПО «ЕНИ ПГНИУ», 2012. – 31 с.;

2. При разработке федеральных клинических рекомендаций (Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных пациентов. Клинические рекомендации/соавт. Фельдблюм И.В., Воробьева Н.Н., Чарушин А.О., Баландина С.Ю. и др. – Н.Новгород: Изд-во «Ремедиум Приволжье», 2018. – 40 с.)

3. Основные положения, изложенные в диссертации, внедрены в учебный процесс кафедр инфекционных болезней, оториноларингологии и эпидемиологии ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России (акты внедрения от 12.03.2018 г., 26.03.2018 г., 17.04.2018 г.).

4. Результаты научных исследований используются в практике деятельности медицинских организаций: Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Пермский краевой центр по борьбе и профилактики СПИД и инфекционных заболеваний, МСЧ № 9 им. М.А. Тверье г.Перми (акты внедрения от 15.03.18, 12.04.18, 07.05.18).

5. Получен патент на полезную модель № 153969 от 13.06.2015 г. Устройство для одновременного забора биологического материала с поверхности и из глубины лакун небных миндалин (соавт. Чарушин А.О., Еловиков А.М., Воробьева Н.Н.).

6. Рационализаторское предложение «Классификация кандидоза у ВИЧ-инфицированных больных» (удостоверение № 2737 от 19.09.2017 г.).

Личный вклад автора. Планирование темы диссертации, постановка целей, формулировка задач и положений, выносимых на защиту, проведены при участии автора. Автор самостоятельно осуществлял обследование, лечение и динамическое наблюдение больных инвазивными микозами в инфекционном стационаре, проводил забор биосубстратов для микологического и молекулярно-генетического исследования, участвовал в заборе проб воздуха и смывов с объектов больничной среды медицинских организаций различного профиля. Автор провел аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автором выполнен статистический анализ полученных результатов, сформулированы выводы, практические рекомендации и положения, выносимые на защиту, написаны тезисы и статьи в журналах, подготовлены выступления на конференциях различного уровня. Личный вклад автора составил более 80%.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 50 научных работ, в том числе 1 монография и 19 статей в изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций.

Структура и объем диссертации. Диссертация объемом 281 страницы включает введение, обзор литературы, 6 глав собственных исследований, заключение, список литературы (284 источника, из них 145 зарубежных), выводы, практические

рекомендации. Работа иллюстрирована 50 рисунками, 37 таблицами, 4 клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении отражена актуальность темы исследования, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость, материалы и методы исследования, представлены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, внедрение их в практику, отражен личный вклад автора, публикации, структура и объем диссертации.

В первой главе «Современные представления об эпидемиологии и клиническом течении инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов (обзор литературы)» представлены систематизированные современные представления об инвазивных микозах (криптококкозе, кандидозе) у ВИЧ-инфицированных людей, их возбудителях, эпидемиологических и клинических проявлениях, существующих методах лабораторной диагностики и лечения. Проанализированы новейшие данные зарубежной и отечественной научной литературы.

Вторая глава посвящена детальному описанию использованных в диссертации материалов и методов исследования. Комплексное клинико-эпидемиологическое исследование проведено в период 2007-2015 гг. на базе кафедр эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО и инфекционных болезней. Клиническими базами для выполнения исследования были Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Краевой центр по борьбе и профилактике СПИД и инфекционных заболеваний, Пермский государственный научно-исследовательский университет, Пермский институт экологии и генетики УРО РАН и 5 медицинских организаций г. Перми. Применен комплекс эпидемиологических, клинических, микробиологических, молекулярно-генетических и статистических методов (Рисунок 1).

Частота встречаемости инвазивных микозов (криптококкоза и кандидоза) у ВИЧ-инфицированных пациентов установлена в ходе экспертной оценки медицинских карт стационарного больного (форма 003/у) этих лиц ($n=114$), госпитализированных в специализированное отделение ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая инфекционная больница» в 2007-2015 гг.

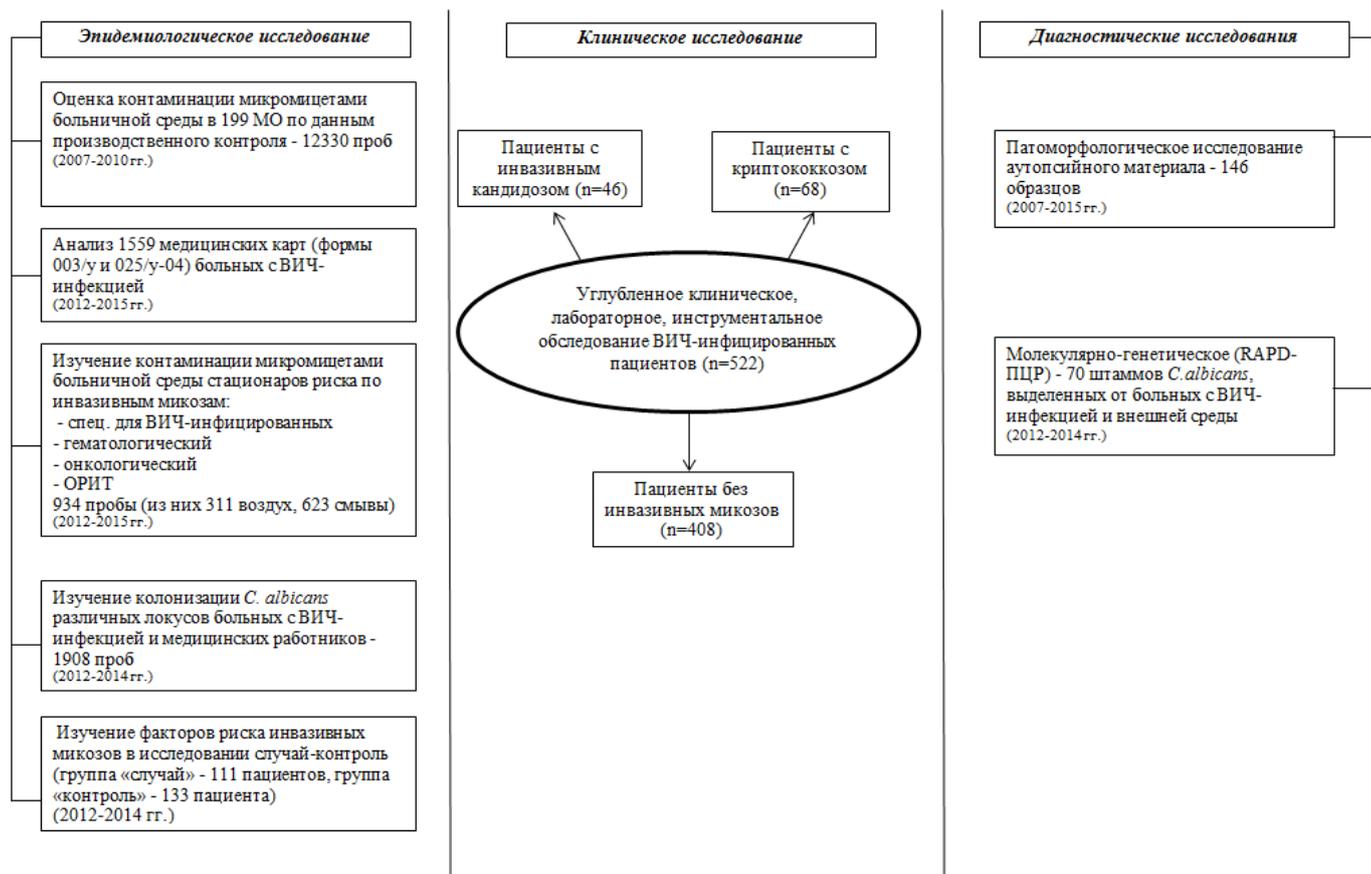


Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Изучение потенциальных факторов вероятного развития инвазивных микозов проведено в исследовании «случай-контроль» в специализированном отделении для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов Пермской краевой клинической инфекционной больницы в 2012-2015 гг. В группу «случай» вошли 111 пациентов с подтвержденными диагнозами ИК (по критериям ESCMID Candida Guidelines 2012 г.) и криптококкоз. Контрольную группу составили 133 пациента без инвазивных микозов. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, территории проживания, стадии ВИЧ-инфекции (4 стадия вторичных заболеваний согласно классификации Покровского В.И. 2001 г.), количеству $CD4^+$ Т лимфоцитов < 350 кл/мкл, отсутствию антиретровирусной терапии (АРТ).

Изучали 2 группы потенциальных факторов развития инвазивных микозов – медицинские (путь заражения ВИЧ-инфекцией и ее длительность, наличие ХОБЛ, сахарного диабета, хронического гепатита С, орофарингеального кандидоза (ОФК), туберкулеза, оперативные вмешательства и стационарное лечение в течение 30 дней до госпитализации, тяжесть состояния пациента, пребывание в ОРИТ, ИВЛ, количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови) и «общественно-

поведенческие» (трудоустройство, условия проживания, нахождение в учреждениях ФСИН, зависимость от психоактивных веществ (ПАВ). При оценке синдрома зависимости от ПАВ учитывали вид зависимости (алкогольная и наркотическая) и клиническая форма зависимости согласно МКБ-10 (активная зависимость с употреблением наркотических веществ внутривенно и период воздержания). Рассчитывали чувствительность и специфичность каждого признака и их сочетаний с использованием четырехпольной таблицы (Покровский В.И., Брико Н.И., 2013).

Для выявления особенностей клинического течения инвазивных микозов проведено углубленное (клиническое, лабораторное, инструментальное) обследование 522 ВИЧ-инфицированных пациентов. Из них с криптококкозом 68 человек, с ИК – 46 человек). Обследование выполнено с обязательным соблюдением этических принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2008) и наличием информированного согласия на обследование.

Исследовано 1784 образца биологического материала, взятого из стерильных (кровь, ликвор) и «нестерильных» локусов (ротовая жидкость, секрет верхних дыхательных путей, вагинальный секрет, кал, моча). Изучена колонизация рук микромицетами 62 медицинских работников. Микологические исследования биологических образцов включали выявление возбудителей инвазивных микозов, определение вида микромицетов и чувствительности к антимикотическим препаратам. Определение вида возбудителя проводили посредством микроскопического исследования культуры (определение ростовых трубок), наличием роста на хромогенном агаре, типирования с помощью биохимической тест-системы Auxacolor-2 (BioRad, США). Оценку чувствительности микромицетов к антимикотическим препаратам проводили диско-диффузионным методом. Для интерпретации результатов использовали стандарты EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Проведено патоморфологическое и гистологическое исследование 146 образцов аутопсийного материала от пациентов, умерших от инвазивных микозов. Гистологические препараты кусочков тканей после парафиновой заливки окрашивали по общепринятым методикам гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, Грамму, Цилю-Нильсену, альциановым синим, муцикармином, проводили ШИК-реакцию.

Эпидемиологическая оценка контаминации больничной среды микромицетами с оценкой многолетней динамики и определением эпидемической тенденции проведена в 199 медицинских организациях различного профиля и организационно-правовых форм

собственности г. Перми в 2007-2010 гг. по данным производственного контроля с использованием журналов регистрации исследований внешней среды (всего 12330 проб, из них 1683 – воздуха, 10647 – смывы).

Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных пациентов в сопоставлении с таковой в стационарах риска по инвазивным микозам (онкологический, гематологический, инфекционный, ОРИТ) проведена в 2012-2015 гг. по результатам производственного контроля и собственных исследований (934 пробы, из них 311 – воздух, 623 – смывы с поверхностей санитарно-технического и медицинского оборудования, постельных принадлежностей, перчаток, вентиляционных решеток, дверных и прикроватных ручек, тумбочек больных, подоконников). В качестве организации сравнения взят родильный дом. Исследование обсемененности микромицетами объектов внешней среды медицинских организаций осуществляли по общепринятым методикам в соответствии с Методическими указаниями МУК 4.2.2942-11. Для изучения контаминации микроорганизмами эпидемиологически значимых поверхностей объектов больничной среды пользовались методы смывов (качественный и количественный). Смывы брали не менее чем с 5 точек поверхности площадью около 100 см² с помощью стерильных ватных тампонов на палочках, вмонтированных в пробки пробирок. Для увлажнения тампонов в пробирки наливали 2 мл 0,1% стерильной пептонной воды с добавлением нейтрализаторов дезинфицирующих растворов. Далее пробирки инкубировали при температуре 37⁰С в течение 18-20 часов. Для выделения микроорганизмов смывы помещали в жидкие питательные среды: среда Кесслера для выделения бактерий группы кишечной палочки; среда накопления для энтерококков и псевдомонад, бульон Сабуро для выделения дрожжевых грибов, агар Чапека для плесневых грибов. После культивирования при 37±1,0⁰С 4-5 дней (бактерий) и 26±1,0⁰С 7-14-21 день (грибов) производили высевы на твердые селективные питательные среды. Количественный подсчет и качественный анализ проводили визуальным осмотром с последующей микроскопией и идентификацией. Окончательный результат представлен в перерасчете колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 дм² поверхности.

Микробиологическое исследование воздуха выполняли аспирационным методом с помощью устройства автоматического отбора ПУ-16 (ЗАО «Химко») в 3-х точках каждого помещения на уровне 1,2 м от пола. Использовали среды в объеме 20 мл для выявления бактерий (желточно-солевой и мясо-пептонный агар), плесневых грибов и дрожжей

(Сабуро и Чапека). Тумблер «объем» ставили в положение 100 л или 250 л для уменьшения погрешности при подсчете (Методические рекомендации. Пермь, 2012 г.). После посева чашки Петри инкубировали в термостате при температуре 25⁰ С (для выявления плесневых и дрожжевых грибов) в течение 5-7 (до 21) дней и при 37⁰С – для выявления общего числа бактерий и золотистого стафилококка в течение 24-48 часов. При подсчете колоний, не превышающих 35, наиболее вероятное число КОЕ равно числу колоний. С увеличением количества колоний в отобранной пробе расчеты производили по формуле: $C=1000P/Q$, где С – концентрация КОЕ в воздухе, Р – вероятное число КОЕ в отобранной пробе, Q – объем отобранной пробы в литрах.

С целью определения механизмов развития внутрибольничного ИК проведено проспективное эпидемиологическое наблюдение за циркуляцией и свойствами *C. albicans*, выделенных от пациентов и в больничной среде при отсутствии в стационаре больных с ИК (благополучный период) и в окружении больных ИК. Активный поиск *C. albicans* в эпидемически благополучный период (2012 г.) проведен на основе экспертизы медицинских карт ВИЧ-инфицированных пациентов, госпитализированных в специализированное отделение ПККИБ. Изучена медицинская документация – 1417 медицинских карт стационарного больного, 142 амбулаторные карты пациентов. Дополнительно организовано специальное обследование 138 ВИЧ-инфицированных пациентов, находившихся на лечении в специализированном стационаре и 76 объектов внешней среды для выявления *C. albicans*. Обследование больных включало клинические, микробиологические и инструментальные методы.

Исследовано 782 образца клинического материала из «стерильных» (ликвор – 22, кровь – 201) и «нестерильных» в норме биосубстратов (ротовая жидкость – 302, секрет верхних дыхательных путей - 95, секрет цервикального канала – 67, моча – 51, кал – 44). В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах исследованы 24 пробы воздуха и 36 смывов с поверхностей предметов (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов, прикроватные ручки, раковины, подоконники). Дополнительно взято 16 смывов с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

В эпидемическом очаге ИК в стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов (июль 2013 г. - октябрь 2014 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения обследован 21 человек, из них 3 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом ИК, вызванным *C. albicans* и 18 пациентов, контактировавших с ними. Изучено 139 проб клинического материала, включая кровь – 29, ликвор – 6, ротовую жидкость –

35, секрет верхних дыхательных путей – 27, мочу – 15, секрет цервикального канала – 13, кал – 14. Аналогично 1 этапу исследования (в эпидемически благополучный период) были отобраны пробы с объектов внешней среды, в их числе 18 проб воздуха, 91 смыв с поверхностей. Взято 42 смыва с рук ВИЧ-инфицированных пациентов. Исследование проводили в динамике: при поступлении больных в стационар и через 8 дней. Диагноз ИК был поставлен в соответствии с критериями EORT/MSG (2008 г.).

Для изучения циркуляции возбудителей криптококкоза на первом этапе (2014 г.) в эпидемически благополучный по криптококкозу период проведено специальное обследование 132 пациентов и 109 объектов внешней среды. Исследовано 468 образцов клинического материала из «стерильных» (ликвор – 19, кровь – 87) и «нестерильных» в норме биосубстратов (ротовая жидкость – 123, секрет верхних дыхательных путей – 114, моча – 65, жидкость цервикального канала – 32, кал – 28). В приемном покое, палатах, столовой, сестринском и процедурном кабинетах изучены 18 проб воздуха и 99 смывов с поверхностей предметов (вентиляционные решетки, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов, раковины, подоконники, раковины, прикроватные ручки, постельные принадлежности больных). Дополнительно исследовано 42 смыва с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

На 2-ом этапе (2015 г.) в рамках проспективного эпидемиологического наблюдения изучена циркуляция *Cryptococcus neoformans* среди пациентов и в больничной среде стационара при нахождении там больных криптококковой инфекцией. Исследованием охвачено 40 человек, из них 6 ВИЧ-инфицированных с доказанным диагнозом генерализованный криптококкоз, и 34 пациента, контактировавших с ними. Аналогично 1 этапу изучено 257 проб клинического материала, включая кровь – 53, секрет верхних дыхательных путей – 48, ротовую жидкость – 46, ликвор – 34, кал – 34, мочу – 27, жидкость цервикального канала – 15. Отобраны пробы с объектов внешней среды, в их числе 15 проб воздуха, 115 смывов с поверхностей и 38 смывов с рук ВИЧ-инфицированных пациентов.

Изучена ферментативная активность 64 штаммов *C. albicans*. Активность фосфолипазы и протеазы оценивали согласно методике Price M.F. (1982), Ruchel R. (1982) в модификации Карпуниной Т.И. (2006). Определение протеиназной активности (ПА) *C. albicans* проводили по следующей методике: засеянные культурой чашки Петри с питательной средой (мясо-пептонный агар с желатиной) термостатировали при $25\pm 1^\circ\text{C}$ в течение трех суток, после чего проводили измерение диаметра выросшей на агаре

колонии *C. albicans* и диаметра зоны разжижения агара вокруг колонии. Коэффициент вирулентности (K_v) рассчитывали по формуле: $K_v=A/D$, где A – среднее значение диаметра зоны разжижения вокруг колонии, D – среднее значение диаметра выросших колоний. Для чистоты эксперимента опыт повторяли трехкратно.

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

Изучены 70 штаммов *C. albicans* с применением молекулярно-генетических методов. Тотальную ДНК выделяли модифицированным методом, предложенным J. Marmur (1999). Генетическое типирование штаммов осуществляли посредством трех методов: на основе детерминации последовательности интронной области 25S рРНК с праймерами CA-INT-L (5'-ATAAGGGAAGTCGGCAAAATAGATCCGTAA) и CA-INT-R (5'-CCTTGGCTGTGGTTTCGCTAGATAGTAGAT) ERIC-ПЦР (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus sequences) с праймером ERIC2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG) и RAPD-ПЦР (Random Amplified Polymorphic DNA) с произвольными праймерами А, 6, 13. Амплификацию проводили на термоциклере DNA Engine Dyad Thermal Cycler («Bio-Rad», США).

Протокол ПЦР для пары CA-INT-L/CA-INT-R был следующим: начальный цикл – 96°C , 2 мин, затем 30 циклов (денатурация – 96°C , 30 сек; отжиг – 60°C , 3 сек; элонгация – 74°C , 30 сек), заключительный цикл – 72°C , 3 мин. Температура и время отжига при проведении ERIC- и RAPD-ПЦР: 45°C – 1 мин и 36°C – 30 сек соответственно. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном геле при напряженности электрического поля 6 В/см. Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гельдокументации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США). Дендрограммы филогенетического родства штаммов построены с применением компьютерного обеспечения Quantity One (версия 4.6.1, «Bio-Rad», США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета «Microsoft Excel 2000» и программы Statistica 6.0. При анализе полученных результатов определяли среднюю арифметическую и ее ошибку ($M\pm m$). Достоверность отличий двух независимых выборок устанавливали по критерию Манна-

Уитни (M-U-test). При $p < 0,05$ делался вывод о наличии статистически значимой разницы между сравниваемыми выборками. Сравнение качественных признаков выполняли с использованием коэффициента ассоциации Фишера (ϕ -критерий) и вычислением χ^2 .

Количественные показатели во всех группах соответствовали критериям нормального распределения Гаусса, их оценка проведена построением гистограмм эмпирического ряда и теоретических кривых нормального распределения. При сравнении полученных данных использовались параметрические и непараметрические методы статистического анализа.

Для оценки достоверности связи между фактором риска и исходом в исследовании типа «случай-контроль» использовали отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом (ДИ) (Брико Н.И., 2013). При оценке статистической значимости ОШ исходили из значений 95% доверительного интервала.

В 3 главе «Криптококкоз у ВИЧ-инфицированных пациентов» изложены результаты исследования криптококкоза. Впервые была определена частота встречаемости криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов в специализированном стационаре, которая составила 5,1 случаев на 1000 госпитализированных больных. При этом отмечался рост заболеваемости за период с 2007 по 2015 гг. более, чем в 20 раз (Рисунок 2).

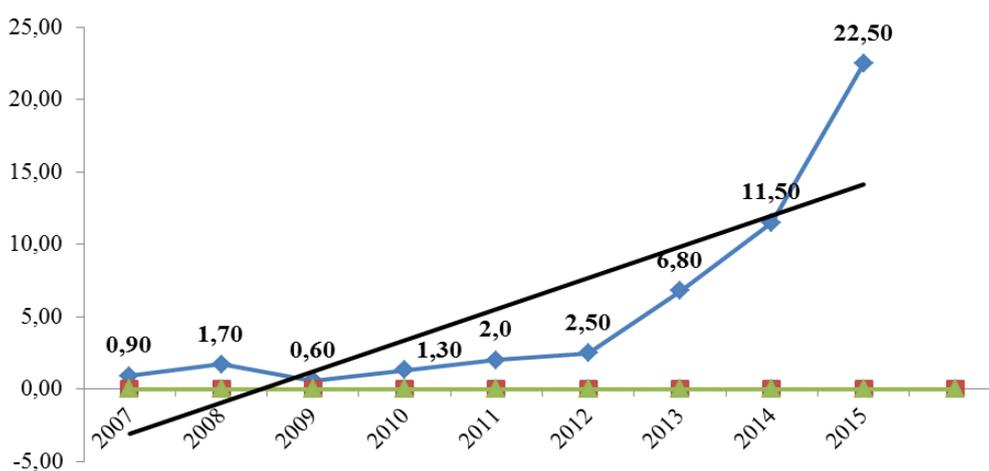


Рисунок 2 – Частота встречаемости криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов за 2007-2015 гг. (случаи на 1000 госпитализированных)

Выявлены «медицинские» и «общественно-поведенческие» факторы риска развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. Среди «медицинских»:

длительность ВИЧ-инфекции на момент развития криптококкоза в среднем 6,5 лет, тяжелое состояние пациентов (ОШ 10.83, ДИ=3.53-33.20), стационарное лечение в течение 30 дней, предшествующих госпитализации (ОШ 2.67, ДИ=1.33-5.35), а также наличие туберкулеза (ОШ 3.71, ДИ=1.44-9.51) и ХОБЛ (ОШ 2.659, ДИ=1.33-5.29); среди «общественно-поведенческих» – неблагоприятные жилищные условия (ОШ 3.21, ДИ=1.16-8.83) и отсутствие трудоустройства (ОШ 2.34, ДИ=1.10-4.98). Наиболее значимыми комбинациями факторов риска являлись: сочетание отсутствия трудоустройства с фактом стационарного лечения в предшествующие госпитализации 30 дней (у 42,6±5,99% обследованных в группе наблюдения); с ХОБЛ (у 35,3±5,79%); с проживанием в неблагоустроенном жилье (у 11,7±3,89%); тяжелое состояние и стационарное лечение в предшествующие госпитализации 30 дней (у 8,8±3,43%).

Заболевание достоверно чаще развивается при количестве $CD4^+$ Т-лимфоцитов менее 100 клеток/мкл. Кроме этого, выявлено важное значение абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, при их снижении (менее $5,89 \cdot 10^9/\text{дм}^3$ и $0,97 \cdot 10^9/\text{дм}^3$ соответственно) риск развития криптококкоза у ВИЧ-инфицированных больных значительно возрастает.

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

Поражение легких у пациентов с криптококкозом наблюдалось в 38,2% случаев, клиника его неспецифична, проявляется в виде развития пневмонии, причем у половины обследованных лиц имеет место сочетание с туберкулезом, а также с пневмоцистной, бактериальной и кандидозной пневмонией.

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

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

Анализ аутопсийного материала показал, что, несмотря на отсутствие специфических клинических данных, выраженные патоморфологические изменения, характерные для криптококкоза, выявлялись не только в головном мозге и легких, но и в печени, лимфатических узлах, почках, надпочечниках, селезенке, поджелудочной, щитовидной железах и кишечнике. Они представлены формированием множественных фокусов некрозов со скоплениями криптококков во всех органах при отсутствии значимой перифокальной воспалительной реакции со стороны окружающих тканей. Клеточная воспалительная инфильтрация носила характер слабо выраженного продуктивного воспаления (Рисунок 3, 4).

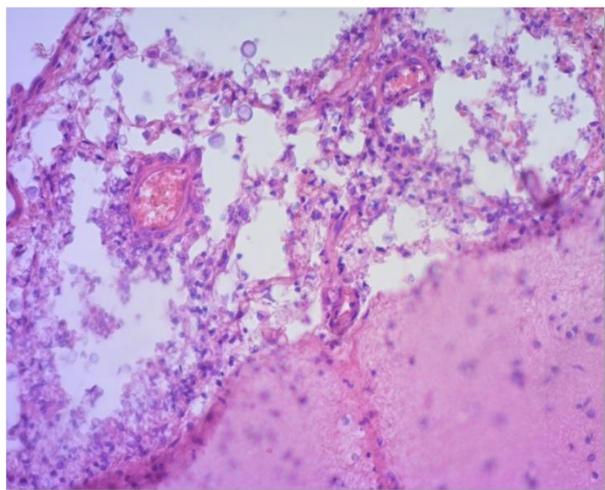


Рисунок 3 – Головной мозг. Окраска гематоксилином и эозином, х 400

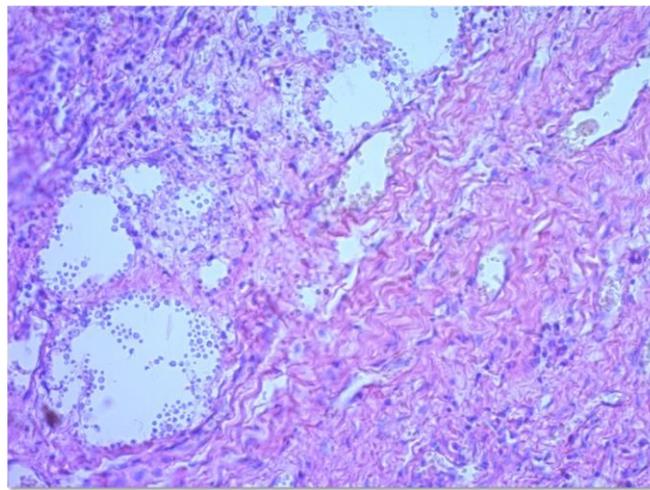


Рисунок 4 – Легкое. Окраска гематоксилином и эозином, х 200

Результаты клинического наблюдения и патоморфологического исследования позволили уточнить некоторые патогенетические закономерности криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. После проникновения возбудителя в организм человека

аэрогенным путем при проживании в неблагоустроенном жилье, криптококки находят в легких благоприятную среду для размножения и развития. Этому способствует наличие у ВИЧ-инфицированных патологии дыхательной системы – туберкулеза и хронической обструктивной болезни легких. На фоне угнетения клеточного иммунитета (снижения уровня $CD4^+$ Т-лимфоцитов, общего количества лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови) в последующем происходит гематогенная диссеминация возбудителя и развитие генерализованного процесса.

Глава 4 «Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных пациентов» посвящена результатам изучения ИК. Установлена частота встречаемости инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных больных, которая составила 3,5 случая на 1000 госпитализированных больных, причем за изучаемый период с 2007 по 2015 гг. отмечается ее рост (в 5 раз) (Рисунок 5).

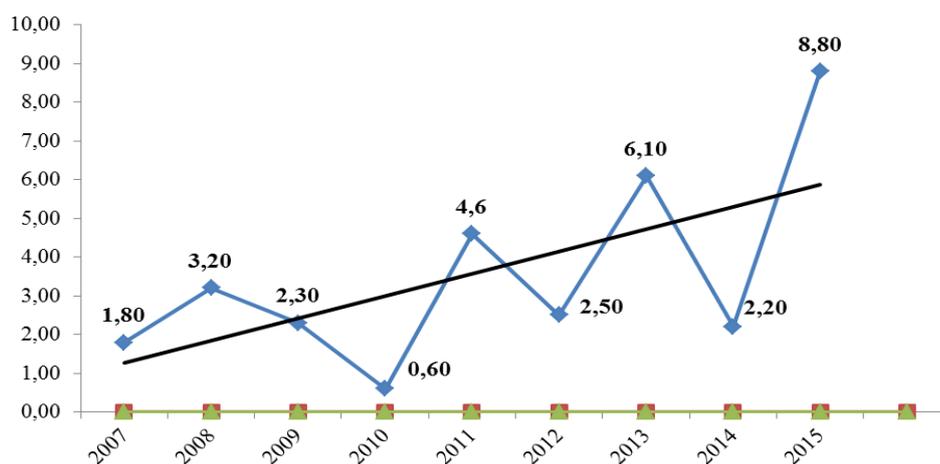


Рисунок 5 – Частота встречаемости ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов за 2007-2015 гг. (случаи на 1000 госпитализированных)

Впервые описаны факторы, ассоциированные с вероятностью риска развития ИК у ВИЧ-инфицированных больных. Ими являются не только медицинские: наличие ОФК (ОШ 2,81; ДИ=1,23-6,45) и туберкулеза (ОШ 3,39; ДИ=1,47-7,79), нахождение в ОРИТ (ОШ 5,35; ДИ=1,97-14,46), ИВЛ (ОШ 5,35; ДИ=1,97-14,46), тяжесть состояния (ОШ 6,18; ДИ=2,49-15,35), предшествующие операции на ЖКТ и стационарное лечение в течение 30 дней до госпитализации (ОШ 2,54; ДИ=1,08-5,95), но и общественно-поведенческие: активная форма зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков ОШ 3,95;

ДИ=1,67-9,33), нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,92; ДИ=1,29-6,61), отсутствие постоянного места работы (ОШ 4,65; ДИ=1,25-17,27).

Обнаружено сочетанное воздействие факторов риска, способствующее возникновению ИК у больных ВИЧ-инфекцией. Частыми комбинациями являются следующие: туберкулез, отсутствие постоянного места работы и нахождение в учреждениях ФСИН; ОФК, активная форма зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы; наличие туберкулеза, активной формы зависимости от ПАВ (внутривенное употребление наркотиков) и отсутствие постоянного места работы. Наиболее вероятен ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов при наличии не менее трех из перечисленных признаков.

В процессе проведенного исследования установлено, что ИК как у ВИЧ-инфицированных, так и ВИЧ-негативных пациентов протекал в виде тяжелого септического процесса с развитием инфекционно-токсического шока у пятой части больных. Летальность составила $45,6 \pm 7,34\%$. Выявлены особенности клинического течения ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях: лихорадка выше $38,0^{\circ}$ отмечалась лишь в половине случаев, в гемограмме реже наблюдался лейкоцитоз, но чаще имела место нейтропения (Таблица 1).

Таблица 1 – Клинические проявления ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов и пациентов без ВИЧ

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

* - по литературным данным

Основными вариантами ИК являлись кандидемия ($67,4 \pm 6,90\%$) и острый диссеминированный кандидоз (ОДК) ($32,6 \pm 6,91\%$) с поражением легких, эндокарда и мозговых оболочек. Нехарактерно для ВИЧ-инфицированных лиц развитие хронического гепато-лиенального кандидоза, отсутствует поражение почек, органов зрения, кожи, подкожной клетчатки и суставов. У большинства пациентов ($82,6\%$) ИК развивается после возникновения ОФК.

Тканевые изменения при ИК на поздних стадиях ВИЧ-инфекции зависят не только от давности заболевания и остроты процесса, но и от характера выявленной микрофлоры. Анализ секционного материала показывает, что преобладает смешанная грибково-бактериальная флора ($72,2\%$). При развитии ИК на фоне бактериальной инфекции наблюдается преимущественно альтеративное (экссудативно-некротическое) воспаление с формированием гнойных очагов. В случаях сочетанного грибкового и туберкулезного поражения наблюдается отграничение очагов с образованием казеозного некроза в центре и продуктивного воспаления вокруг, формирование гранулем. Очаги кандидозного поражения печени и почек пациентов отсутствовали. При этом значительные изменения наблюдали в легких, центральной нервной и сердечно-сосудистой системах (Рисунок 6–8).

В небных миндалинах кандиды проникают все слои органа, глубоко проникая в паренхиму без выраженной ответной клеточной реакции на фоне фолликулярного лимфоидного истощения. Небные миндалины становятся очагом хронической грибковой инфекции (Рисунок 9).

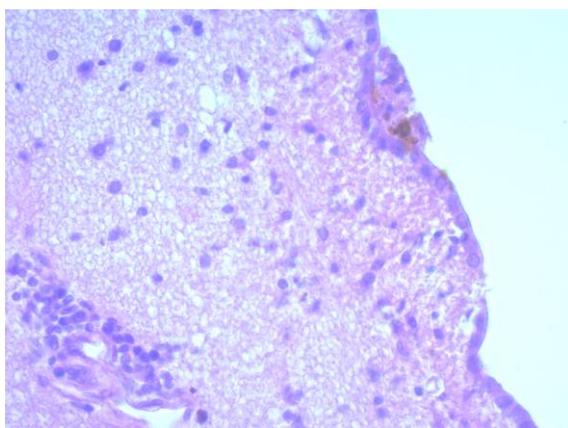


Рисунок 6 – Энцефалит. Окраска гематоксилином и эозином, х 400

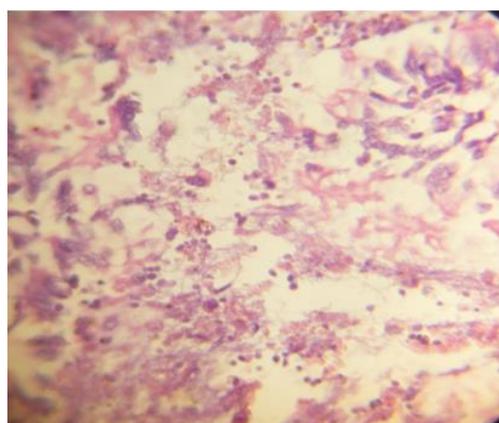


Рисунок 7 – Деструктивная пневмония. Окраска гематоксилином и эозином, х 400

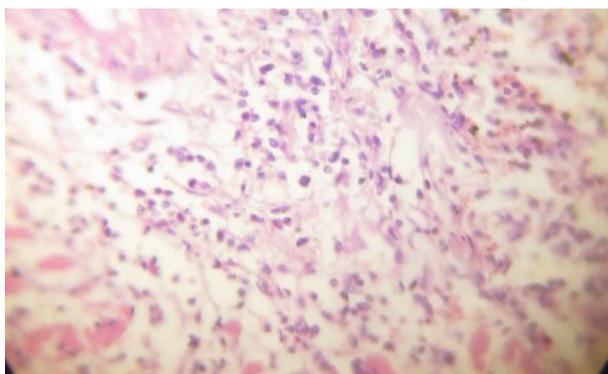


Рисунок 8 – В миокарде рост *C.albicans*.
Окраска гематоксилином и эозином x 400

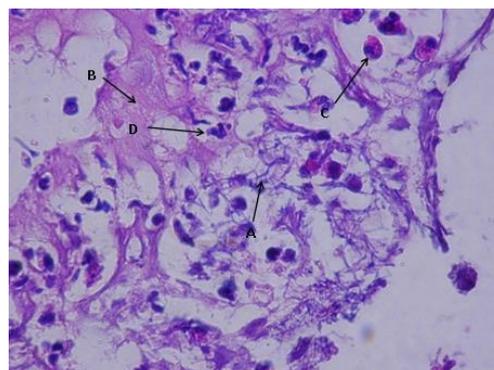


Рисунок 9 – Инвазия грибов *Candida spp.* (A). Окраска гематоксилином и эозином, x 1000

Полученные данные позволили уточнить патогенетические закономерности ИК. У ВИЧ-инфицированных больных первичным очагом и отправной точкой для дальнейшего распространения кандид в кровотоке являются, прежде всего, ротоглотка и верхние дыхательные пути. При дальнейшем течении ИК в виде кандидемии или ОДК органами-мишенями становятся легкие, головной мозг и сердечно-сосудистая система. В этих случаях можно говорить о развитии вторично-септической формы заболевания. Напротив, при попадании возбудителя непосредственно в кровь возникает первично-септическая форма ИК.

С учетом вышеизложенного предложена классификация кандидоза с выделением: кандидозного носительства, локализованных (орофарингеальный кандидоз, вульвовагинит, кандидоз кожи и ее придатков и др.) и генерализованных (первично-септической и вторично-септической) форм.

В главе 5 «Эпидемиологическая оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских и немедицинских организаций» дана эпидемиологическая оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских организаций различного профиля и организационно-правовых форм собственности. Известно, что микробный пейзаж объектов внешней среды медицинских организаций оказывает влияние на эпидемическую обстановку в них и играет немаловажную роль в состоянии здоровья пациентов (Васильева Н.В., 2009; Желтикова Т.М., 2009; Новоселова И.К., 2013). Выявлено не только наличие, но и преобладание грибковой флоры над бактериальной во всех медицинских организациях г. Перми (реанимационного, хирургического, терапевтического, гинекологического, инфекционного, стоматологического профилей), удельный вес ее составил в среднем $69,7 \pm 1,43\%$.

Доля микромицетов в общем количестве положительных проб была наиболее высока в отделениях реанимации и интенсивной терапии (100%). В организациях хирургического, гинекологического, терапевтического, стоматологического и инфекционного профилей доля положительных проб на грибы составила соответственно $79,6 \pm 2,87\%$, $76,0 \pm 8,54\%$, $73,3 \pm 2,33\%$, $62,7 \pm 3,20\%$ и $61,0 \pm 4,39\%$. Интенсивность контаминации больничной среды этих организаций микромицетами колебалась от $68,0 \pm 3,62$ до $75,8 \pm 2,92$ КОЕ/м³ и существенных различий не имела ($t < 2$; $p > 0,05$). Более низким этот показатель был в стоматологических отделениях ($61,1 \pm 2,85$ КОЕ/м³). В инфекционном стационаре показатели интенсивности контаминации больничной среды микромицетами значительно превышали таковые во всех изучаемых организациях ($167,3 \pm 2,89$ КОЕ/м³) ($t > 2$, $p < 0,05$).

Интенсивность обсемененности микромицетами объектов внешней среды в немедицинских организациях была ниже, чем в медицинских – $58,2 \pm 2,50$ против $83,2 \pm 2,80$ КОЕ/м³ ($t > 2$, $p < 0,05$). Уровень и интенсивность обсемененности микромицетами в муниципальных медицинских структурах в 1,5 раза превышали таковые в частных медицинских организациях.

В 6 главе «Уровень и интенсивность контаминации микромицетами больничной среды медицинских организаций высокого риска возникновения инвазивных микозов» представлена сравнительная оценка уровня и интенсивности контаминации микромицетами больничной среды медицинских организаций риска возникновения инвазивных микозов (онкологическое, гематологическое, ОРИТ и специализированное отделение для пациентов с ВИЧ-инфекцией). Выявлена высокая контаминация (от 85 до 100%) объектов больничной среды в этих медицинских организациях, в 4-5 раз превышающая показатели родильного отделения (медицинской организации сравнения). Наиболее высокая степень «грибковой нагрузки» воздуха была в инфекционном стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов ($582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³), при условно-допустимом уровне клеток грибов в воздухе помещений 500 КОЕ/м³ (Sudhakar D., 2014; WHO, 2015). Имело место преобладание плесневых грибов над дрожжевыми в воздухе всех изучаемых отделений: от 2-х раз в инфекционной реанимации до 800 раз в отделении для пациентов с ВИЧ-инфекцией. Интенсивность контаминации оказалась также наиболее высокой в стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных, где она в 2,5 раза превысила пороговые значения. В онкологическом и гематологическом стационарах показатели не превышали пороговых значений и достоверно не отличались

от родильного дома. В микобиоте воздушной среды всех стационаров присутствовали плесневые грибы родов *Aspergillus spp.* и *Penicillium spp.* Отличительными особенностями явилось наличие других микромицетов в зависимости от профиля стационара: в инфекционном – плесневых грибов рода *Cladosporium spp.*, в гематологическом – *Rhizopus spp.*, в ОРИТ хирургии – *Trichoderma spp.*

В смывах с предметов больничной среды медицинских организаций выявлено существенное преобладание дрожжевых грибов. Во всех изучаемых стационарах наиболее интенсивно загрязненными этими микромицетами оказались аппараты ИВЛ, дверные ручки в палатах, тумбочки пациентов и вентиляционные решетки. В отделении для ВИЧ-инфицированных пациентов обнаружено превышение интенсивности контаминации предметов больничной среды: вентиляционных решеток в 3,5 раза по сравнению с онкологией ($23644,9 \pm 2139,0$ против $6812,0 \pm 1394,0$ КОЕ/дм²) и в 34 раза – с гематологией ($682,8 \pm 179,8$ КОЕ/дм²); дверных ручек – в 5 раз в сравнении с онкологией ($4755,0 \pm 1087,0$ против $943,9 \pm 345,1$ КОЕ/дм²) и в 26 раз в сравнении с гематологией ($177,1 \pm 50,2$ КОЕ/дм²). Уровень контаминации грибами рук ВИЧ-инфицированных пациентов был в 11 раз выше, чем у медицинских работников.

Таким образом, больничная среда оказалась наиболее загрязненной микромицетами в специализированном отделении для ВИЧ-инфицированных больных. Это позволяет отнести его к числу наиболее потенциально опасных в плане возникновения инфекций грибковой этиологии, связанных с оказанием медицинской помощи.

7 глава «Механизмы развития эпидемического процесса инвазивных микозов в стационаре для ВИЧ-инфицированных» посвящена изучению механизмов развития эпидемического процесса инвазивных микозов (криптококкоза, кандидоза) в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов.

В рамках проспективного эпидемиологического наблюдения проведено изучение циркуляции микромицетов *Cryptococcus neoformans* среди ВИЧ-инфицированных пациентов и на объектах больничной среды специализированного стационара в разные периоды эпидемиологического благополучия (при нахождении в стационаре пациентов с генерализованным криптококкозом и при отсутствии таковых). На первом этапе исследования при отсутствии в стационаре пациентов с генерализованным криптококкозом эти микромицеты не обнаружены ни в клинических материалах, ни в пробах, отобранных с объектов больничной среды.

На втором этапе исследования при нахождении в стационаре пациентов с криптококкозом, микромицеты *C. neoformans* обнаруживали только в «стерильных в норме» локусах больных (крови и ликворе). В отделяемом из «нестерильных в норме» биотопов (ротовая жидкость, мокрота, моча, кал, секрет цервикального канала) и на коже больных криптококковой инфекцией эти возбудители не выявлены. Криптококки не обнаружены в клиническом материале ни у одного пациента, контактировавшего с больными этим микозом, ни на предметах больничной среды, ни в воздухе.

Таким образом, установлено, что больные криптококкозом не являются источником возбудителя заболевания, а больничная среда – его резервуаром. Очевидно, заражение ВИЧ-инфицированных пациентов происходит вне лечебного учреждения.

Учитывая ведущую этиологическую роль *C. albicans* (86,9±4,97%) в развитии инвазивного кандидоза у ВИЧ-позитивных больных и высокую патогенность этих микромицетов, проведено аналогичное проспективное эпидемиологическое исследование для изучения возможности инфицирования пациентов в специализированном стационаре контактно-бытовым путем с последующим развитием ИК.

На первом этапе в эпидемически благополучный период (отсутствие в стационаре пациентов с ИК) у 83,9±1,6% больных обнаруживали *C.albicans*. Частота встречаемости их в различных локусах составила 40,1±1,75% (в «открытых» – ротоглотка и верхние дыхательные пути чаще, чем в «условно закрытых» – урогенитальный тракт, кишечник). В 19,1±1,96% случаев *C.albicans* выделяли из нескольких локусов одновременно.

Средний уровень контаминации *C. albicans* объектов больничной среды (36,8±3,53%) существенно не отличался от уровня колонизации больных (40,1±1,75%) ($t < 2$; $p > 0,05$). Наиболее контаминированными оказались дверные ручки и тумбы в палатах - 41,2±5,24% и 30,3±6,01% соответственно. Интенсивность контаминации этих предметов составила 284,4±26,4 КОЕ/дм² и 117,4±9,16 КОЕ/дм² соответственно. При исследовании рук ВИЧ-инфицированных в 50,0±2,65% проб обнаружены *C.albicans*, интенсивность контаминации 8,75±1,23 КОЕ/дм².

В эпидемическом очаге ИК колонизация ВИЧ-инфицированных пациентов, контактировавших с больными, составила 100%. Отмечался рост уровня колонизации кандидами как «открытых», так и «условно закрытых» локусов ($t > 2$, $p < 0,05$). Темп прироста показателей колебался от 11,6% до 76,5%. Значительно возросла (с 19,1±1,96% до 57,1±10,8%) доля пациентов, у которых *C. albicans* выделялись из 2-х и более локусов

одновременно ($t=3,4$, $p<0,05$). Доля пациентов, у которых *C. albicans* обнаружены на руках, выросла на 29% (Рисунок 10).

Установлено наличие связи с уровнем контаминации объектов больничной среды *C.albicans*, который в эпидемических очагах ИК составил $47,3\% \pm 2,06$ и превысил показатель контаминации в эпидемически благополучный период - $36,8 \pm 3,53\%$ ($t>2$, $p<0,05$).



Рисунок 10 – Уровень колонизации ВИЧ-инфицированных пациентов и контаминации объектов больничной среды *C.albicans* в эпидемически благополучный период и в очагах ИК

Темпы прироста уровня контаминации предметов больничной среды, с которыми непосредственно контактируют ВИЧ-инфицированные пациенты (тумб, дверных и прикроватных ручек), колебались от 45,6 до 83,3%, темпы прироста интенсивности их контаминации составили в среднем 39,4%. Интенсивность колонизации рук ВИЧ-инфицированных больных в очагах ИК в 4 раза превысила таковую у пациентов в эпидемически благополучный период (Рисунок 11).

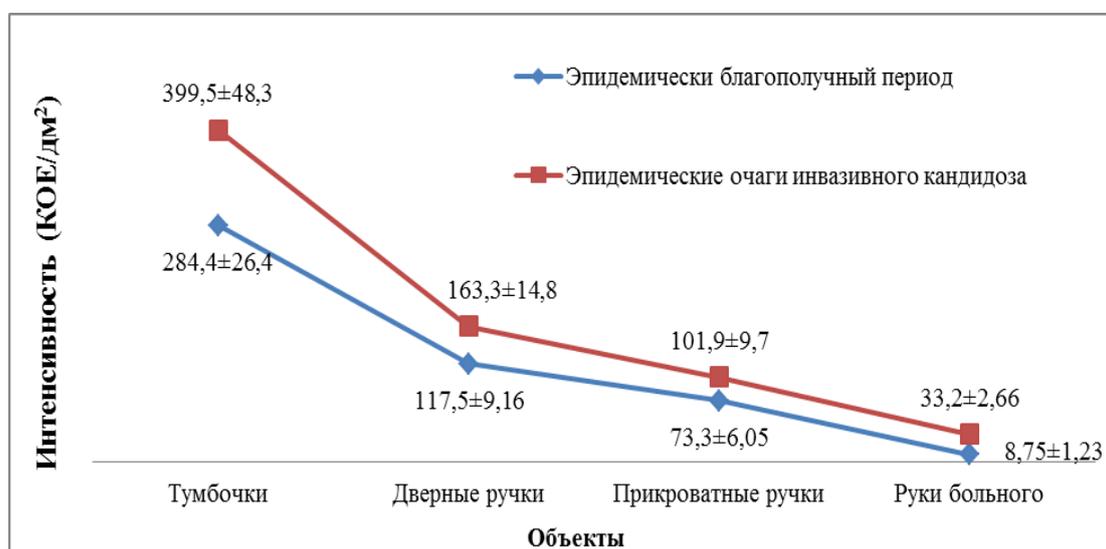


Рисунок 11 – Интенсивность колонизации рук ВИЧ-инфицированных пациентов и контаминации объектов больничной среды *C.albicans* в эпидемически благополучный период и в очагах ИК

Изучена ферментативная активность кандид, выделенных из внешней среды и от ВИЧ-инфицированных пациентов. ФЛА обнаружена у $54,7 \pm 6,22\%$ изолятов, ПА – у $65,6 \pm 5,93\%$. Треть изучаемых штаммов *C.albicans* ($29,7 \pm 5,71\%$) обладала одновременно ФЛА и ПА, что свидетельствует о большей их патогенности. Результаты исследования установили значительно более высокую ФЛА *C.albicans* (Кв $2,5 \pm 0,15$), выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов по сравнению со штаммами от пациентов без ВИЧ-инфекции (Кв у них не превышал 0,9) ($t > 10$, $p < 0,05$), установленные другими авторами (Карпунина Т.И., 2005, 2006). Кроме этого обнаружено, что ФЛА штаммов, выделенных от пациентов с доказанным диагнозом ИК, превышала таковую у пациентов без него (Кв $2,73 \pm 0,19$ против $2,28 \pm 0,09$ соответственно; $t > 2$, $p < 0,05$).

Проведено изучение 70 штаммов *C. albicans*, полученных как от пациентов, так и из внешней среды. С помощью молекулярно-генетических методов установлено, что у ВИЧ-инфицированных людей выделяются *C. albicans* разных генотипов. Наблюдается существенное преобладание *C. albicans* генотипа А в различных комменсальных (зев) и транзиторных (кожные покровы) локусах, которые чаще всего явились причиной ОФК и ИК. Кроме того, в отличие от других, представители именно этой группы контаминировали с предметами окружающей среды. Культуры *C. albicans* генотипа D были малочисленными, обнаруживались только в экологических биотопах пациентов без клиники заболевания. Они не контаминировали предметы больничной среды и проявляли наименьшую активностью экзоферментов (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение штаммов *C. albicans*, относящихся к различным генотипам по 25S рРНК, с учетом источника выделения

| Источник выделения | Число штаммов (n/%) | | | | |
|---------------------------|---------------------|---------|--------|---------|--------|
| | Общее | Генотип | | | |
| | | А | В | С | D |
| Пациенты всего | 45 | 20/44,5 | 6/13,3 | 10/22,2 | 9/20,0 |
| - зев | 26 | 9/34,6 | 3/11,5 | 8/30,8 | 6/23,1 |
| - кожные покровы | 15 | 8/53,3 | 2/13,3 | 2/13,3 | 3/20,0 |
| - кровь | 4 | 3/75,0 | 1/25,0 | - | - |
| Предметы больничной среды | 25 | 21/84,0 | 1/4,0 | 3/12,0 | - |
| Всего | 70 | 41/58,6 | 7/10,0 | 13/18,6 | 9/12,8 |

Выполнено специальное исследование, направленное на оценку длительности циркуляции *C. albicans* в стационаре и определение эпидемиологических связей. Анализ 38 штаммов, выделенных в два этапа из разных локусов пациентов в 2014 г., показал, что при поступлении у 11-и человек во всех материалах обнаружены культуры одного генотипа, у 3-х человек – культуры разных генотипов. Через неделю у 50% обследуемых пациентов наблюдали изменение генотипа кандид. При этом, в пяти случаях к уже имеющимся присоединились штаммы, принадлежащие к другому генотипу, а в 2-х – произошла полная смена культур.

В результате сравнительного анализа все культуры *C. albicans* были распределены в 9 геномогрупп, которые включали идентичные или близкородственные изоляты. 30 изолятов представляли индивидуальные геномоварианты (Рисунок 12).

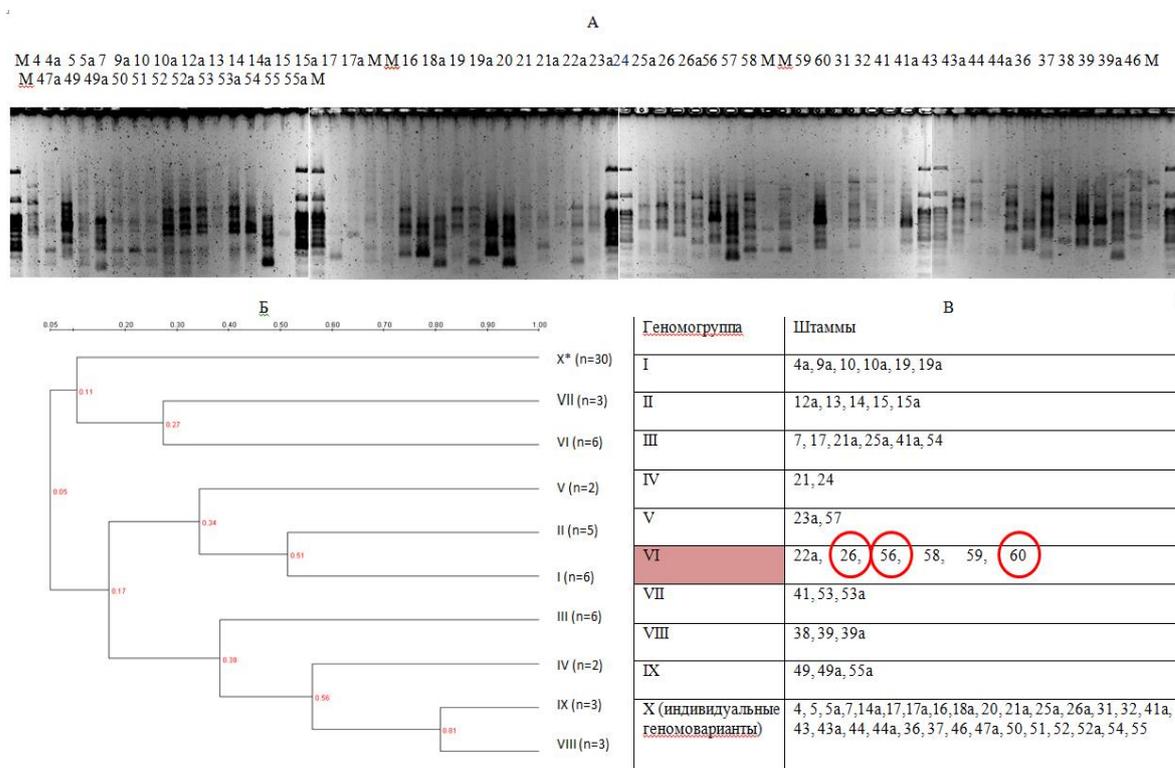


Рисунок 12 – Пример анализа продуктов гер-ПЦР с использованием праймера ERIC2: А – электрофореграммы: М – маркер молекулярных масс 1kb+1,5 kb+3kb; №№ – нозокомиальные изоляты *C. albicans*, выделенные в 2014 г.; Б – дендрограмма филогенетического родства штаммов из разных геномогрупп, построенная на основе метода невзвешенного попарного арифметического среднего UPGMA, * – в анализ взят один из штаммов X геномогруппы; В – распределение изолятов в геномогруппы

В состав геномогрупп IV и VII входили штаммы, полученные только с предметов больничной среды стационара и рук пациентов, в остальных – присутствовали изоляты, выделенные как с объектов больничной среды, так и из нестерильных локусов (зев)

обследованных больных. Особый интерес представляла геномогруппа VI, в составе которой были изоляты, выделенные из крови пациента Г. с инвазивным кандидозом (№ 60), а также из зева больного Д. и с предметов больничной среды в этой же палате (№№ 26, 56).

Кроме того, сравнительный анализ ДНК *C. albicans*, выделенных в разные сроки, показал, что штамм, изолированный в 2013 г. из крови пациентки П. с диагнозом инвазивный кандидоз и культуры геномогруппы VI (2014 г.) полностью идентичны и относятся к генотипу А на основе типирования 25S рРНК (Рисунок 13). Таким образом, инвазивный кандидоз у двух больных, госпитализированных в разное время, вызван одним и тем же штаммом *C. albicans*. Кроме того, этот же штамм циркулировал во внешней среде стационара более 1 года и являлся причиной ОФК других пациентов, которые не были связаны между собой вне лечебного учреждения.

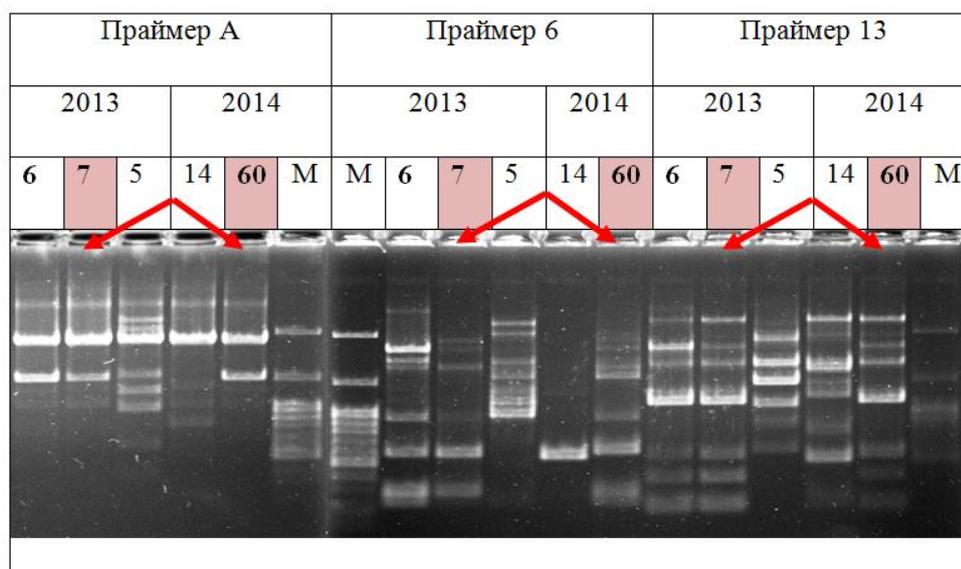


Рисунок 13 – Электрофореграммы продуктов RAPD-ПЦР с использованием праймеров А, 6, 13; М – маркеры молекулярных масс 100 б и 1kb; №№ – изоляты *C. albicans*, выделенные от больных

Таким образом, сформулирована концепция развития внутрибольничного ИК. ВИЧ-инфицированные пациенты с носительством или различными формами кандидоза являются источником *C. albicans*, которые контаминируют предметы больничной среды и передаются контактно-бытовым путем вновь поступающим в стационар пациентам, вызывая различные виды кандидозной инфекции, включая инвазивный кандидоз. В

больничной среде могут формироваться и длительно циркулировать госпитальные штаммы *C. albicans*, обладающие высокой ферментативной активностью.

Появление признаков «эпидемического неблагополучия» по ИК в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных (увеличение показателей колонизации «открытых» – верхние дыхательные пути, ротоглотка и «условно закрытых» – кишечник, урогенитальный тракт локусов; числа пациентов с массивной колонизацией двух и более локусов; уровня и интенсивности контаминации объектов больничной среды кандидами с высокой ферментативной активностью) требует безотлагательного проведения диагностических, лечебных и противоэпидемических мероприятий в очаге.

Важнейшими направлениями профилактики ИК у ВИЧ-инфицированных пациентов являются:

- выявление кандидозного носительства, диагностика и лечение пациентов с локализованными формами кандидоза как источников возбудителя ИК; проведение в рамках микробиологического мониторинга бактериологического исследования отделяемого стерильных и «нестерильных» локусов больных для выявления кандид, их видовой идентификации и изучения активности экзоферментов (фосфолипазы и протеазы);

- ранняя диагностика ИК на основе факторов риска и клинических проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов, своевременная и адекватная антимикотическая терапия с учетом вида выделенного возбудителя;

- строгое соблюдение правил асептики, стандартов проведения инвазивных процедур, оптимальный уход за мочевыми и сосудистыми катетерами, рациональное применение антибактериальных препаратов;

- проведение эффективных дезинфицирующих мероприятий, которые позволяют исключить инфицирование через предметы и поверхности, окружающие больного.

Успешное решение проблемы внутрибольничного ИК не представляется возможным без совершенствования системы эпидемиологического надзора на основе регулярного микробиологического мониторинга пациентов, объектов больничной среды, эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.

Выводы:

1. Инвазивные микозы у пациентов с ВИЧ-инфекцией на поздних стадиях заболевания в 2007-2015 гг. характеризуются высокой распространенностью с тенденцией

к росту. Частота встречаемости криптококкоза составила 5,1 случая на 1000 госпитализированных больных со средним темпом прироста 203,0%, ИК – 3,5 случая на 1000 госпитализированных со средним темпом прироста 41,5%.

2. Факторами риска возникновения инвазивных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания являются:

– при криптококкозе – продолжительность ВИЧ-инфекции более 6 лет, предшествующее стационарное лечение в течение 30 дней (ОШ 2.67, ДИ=1.33-5.35), наличие туберкулеза (ОШ 3.71, ДИ=1.44-9.51) и ХОБЛ (ОШ 2.659, ДИ=1.33-5.29), тяжелое состояние пациентов (ОШ 10.83, ДИ=3.53-33.20), неблагоприятные жилищные условия (ОШ 3.21, ДИ=1.16-8.83) и отсутствие трудоустройства (ОШ 2.34, ДИ=1.10-4.98);

– при инвазивном кандидозе – нахождение в ОРИТ (ОШ 5,35, ДИ=1,97-14,46), оперативные вмешательства на органах брюшной полости, предшествующее стационарное лечение в течение 30 дней (ОШ 2,54, ДИ=1,08-5,95), применение ИВЛ (ОШ 5,35, ДИ=1,97-14,46), тяжелое состояние пациентов (ОШ 6,18, ДИ=2,49-15,35), наличие ОФК (ОШ 2,81, ДИ=1,23-6,45) и туберкулеза (ОШ 3,39, ДИ=1,47-7,79); нахождение в учреждениях ФСИН (ОШ 2,92, ДИ=1,29-6,61), отсутствие трудоустройства (ОШ 4,65, ДИ=1,25-17,27) и наличие синдрома зависимости от ПАВ (ОШ 3,95, ДИ=1,67-9,33).

3. Типичным проявлением криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов является развитие острого генерализованного процесса с манифестной клинической картиной поражения ЦНС (менингоэнцефалит у всех больных) и легких ($38,2 \pm 5,89\%$ случаев), обусловленного проникновением возбудителя азрогенным путем с последующей диссеминацией, в отсутствие признаков нарушения со стороны внутренних органов и кожи. Патоморфологические изменения характеризуются наличием множественных фокусов некрозов со скоплениями криптококков без значимой перифокальной воспалительной реакции со стороны окружающих тканей не только в головном мозге и легких, но и в печени, лимфатических узлах, почках, надпочечниках, селезенке, поджелудочной и щитовидной железах и кишечнике.

4. Инвазивный кандидоз у ВИЧ-инфицированных больных возникает на фоне выраженного иммунодефицита ($CD4^+$ Т-лимфоцитов меньше 200 клеток/мкл), протекает в виде тяжелого генерализованного процесса, при отсутствии у половины больных высокой лихорадки. Первичными очагами для дальнейшей гематогенной диссеминации кандид являются ротоглотка и верхние дыхательные пути. Органами-мишенями становятся легкие, сердечно-сосудистая система и головной мозг. Основными клиническими

вариантами являются кандидемия и острый диссеминированный кандидоз. Не характерно развитие хронического гепато-лиенального кандидоза, поражение почек, органов зрения, кожи, подкожной клетчатки и суставов. Патоморфологические изменения при инвазивном кандидозе обусловлены характером сопутствующей микрофлоры: при сочетании с бактериальной инфекцией они выражаются в форме экссудативно-некротического воспаления с формированием гнойных очагов, при комбинации с туберкулезным поражением наблюдается отграничение очагов с образованием казеозного некроза и гранулем. В небных миндалинах кандиды пенетрируют в паренхиму без выраженной ответной клеточной реакции и становятся очагом хронической грибковой инфекции.

5. Установлен высокий уровень контаминации микромицетами объектов внешней среды медицинских организаций различного профиля (реанимационного, хирургического, терапевтического, гинекологического, инфекционного, стоматологического), выявлено преобладание грибковой флоры ($69,9 \pm 1,24\%$) над бактериальной. Уровень и интенсивность обсемененности микромицетами больничной среды муниципальных медицинских организаций в 1,5 раза превышали таковые в учреждениях частных форм собственности. Наиболее контаминированными оказались отделения для пациентов групп риска возникновения инвазивных микозов: ОРИТ, гематологическое, онкологическое, где доля обсемененных объектов внешней среды достигала $92,8 \pm 3,75\%$ против $20,0 \pm 1,15\%$ в родильном отделении. В воздухе преобладали плесневые грибы, а в смывах – дрожжевые. Наиболее загрязненными объектами явились вентиляционные решетки, дверные ручки, тумбочки пациентов и аппараты ИВЛ.

6. Наиболее контаминированной микромицетами оказалась больничная среда специализированного отделения для ВИЧ-инфицированных больных. Интенсивность контаминации воздуха составила $582,0 \pm 109,1$ КОЕ/м³ и превысила таковую в гематологическом, онкологическом и хирургическом отделениях в 5-40 раз. Выявлены достоверные различия и в интенсивности контаминации предметов больничной среды. Степень грибковой нагрузки зависела от тяжести больных, наличия у них инвазивного кандидоза и длительности нахождения в отдельных помещениях стационара.

В этиологической структуре микромицетов, выделенных из клинического материала пациентов (44,5%) и объектов внешней среды стационара (84,0%) преобладали *C. albicans* генотипа А, которые длительно циркулировали (более 1 года) в больничной среде.

7. Разработаны основы предэпидемической диагностики внутрибольничного инвазивного кандидоза. Установлены предвестники возникновения случаев инвазивного кандидоза: высокий уровень колонизации *C.albicans* (преимущественно генотипа А) пациентов (до 100%) и контаминации больничной среды ($47,3\pm 2,06\%$), увеличение колонизации не только «открытых» (ротоглотка, верхние дыхательные пути), но и «условно закрытых» (урогенитальный тракт и кишечник) локусов ВИЧ-инфицированных пациентов, рост числа пациентов с массивной колонизацией 2-х и более локусов одновременно (с $19,1\pm 1,96\%$ до $57,1\pm 10,8\%$), циркуляция штаммов *C. albicans* с высокой фосфолипазной активностью.

8. Доказана возможность инфицирования пациентов *C. albicans* с последующим развитием инвазивного кандидоза в специализированном стационаре для ВИЧ-инфицированных контактно-бытовым путем. Установлено, что выделенные из клинического материала пациентов и смывов с объектов внешней среды общего назначения немедицинского профиля *C. albicans* имеют единый генетический профиль, свидетельствующий о внутрибольничном инфицировании пациентов. Ведущими факторами передачи в реализации контактно-бытового пути заражения явились дверные и прикроватные ручки, тумбочки в палатах и руки больных.

9. Сформулирована концепция развития внутрибольничного инвазивного кандидоза. Даны рекомендации по совершенствованию его клинико-эпидемиологической диагностики и профилактики на основе выявленных клинико-патогенетических особенностей заболевания у ВИЧ-инфицированных, внедрения в систему эпидемиологического надзора за ИСМП микробиологического мониторинга пациентов и объектов больничной среды на микромицеты с использованием молекулярно-генетических методов.

Практические рекомендации.

1. Необходимо включить в стандарты проведения микробиологического мониторинга в стационарах высокого риска развития инвазивных микозов контроль за содержанием микромицетов в воздушной среде медицинских организаций с нормированием показателей в зависимости от класса чистоты помещений.

2. Особое внимание следует уделить контролю за контаминацией микромицетами больничной среды медицинских организаций с пребыванием больных групп высокого

риска возникновения инвазивных микозов, прежде всего специализированного стационара для ВИЧ-инфицированных больных.

3. Ввести обязательную регистрацию инвазивных микозов.

4. Для врачей-эпидемиологов медицинских организаций – проведение микробиологического мониторинга пациентов, объектов больничной среды, эффективности дезинфицирующих мероприятий с оценкой устойчивости микрофлоры к используемым дезинфицирующим препаратам.

5. Для врачей-клиницистов:

– выявление кандидозного носительства, диагностика и лечение больных с локализованными формами кандидоза как источников возбудителя ИК.

– проведение обязательного регулярного микологического исследования отделяемого стерильных и «нестерильных» локусов больных для выявления кандид, их видовой идентификации и изучения активности экзоферментов (фосфолипазы и протеазы).

– проведение ранней диагностики ИК и криптококкоза на основе учета факторов риска и клинических проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов, своевременной и адекватной антимикотической терапии с учетом вида выделенного возбудителя.

– проведение санитарно-просветительной работы среди населения (прежде всего контингентов с иммуносупрессией) по профилактике инвазивных микозов.

6. Для ВУЗов – необходимо осуществлять подготовку студентов, профессиональную переподготовку и повышение квалификации специалистов различного профиля с учетом новых данных об инвазивных микозах.

**СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ
В научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК
Министерства образования и науки Российской Федерации**

1. Чарушина, И.П. Клинико-морфологические особенности диссеминированного криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева, Н.В. Зотова // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т.13. – № 2. – С. 29-33.

2. Чарушина, И.П. Значение лечебно-диагностической помощи больным инвазивными микозами в улучшении качества жизни / И.П. Чарушина // Проблемы управления здравоохранением. – 2011. – № 4 (59). – С. 67-68.

3. Изучение контаминации микромицетами объектов внешней среды в медицинских организациях г. Перми / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, В.В. Семериков, С.А. Лукьянцева // Дезинфекция. Антисептика. – 2012. – Т.3. – № 2(10). – С. 22-28.

4. Чарушина, И.П. Характеристика микробного пейзажа на/в объектах внешней среды медицинского учреждения инфекционного профиля / И.П. Чарушина, И.В. Фельдблюм // Проблемы медицинской микологии. – 2012. – Т.14. – № 3. – С. 64-67.

5. Чарушина, И.П. Клинико-морфологическая характеристика криптококкоза при ВИЧ-инфекции / И.П. Чарушина, Н.В. Зотова // Журнал инфектологии. – 2012. – Т 4. – № 4. – С. 65-70.

6. Состояние контаминации микромицетами объектов внешней среды инфекционного стационара / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, В.В. Семериков, Г.А. Александрова, О.А. Четина, С.Ю. Баландина, Н.А. Метелкина // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 4. – С. 39-42.

7. Особенности клинического течения инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, Н.Н. Воробьева, С.Б. Ляпустин, А.Г. Земсков // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 4. – С. 43-46.

8. Чарушина, И.П. Диагностика и лечение криптококкового менингоэнцефалита у ВИЧ инфицированных пациентов / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева, С.Б. Ляпустин // Лечение и профилактика . – 2013. – № 4 (8). – С. 58-61.

9. Сравнительная оценка интенсивности контаминации микромицетами объектов внешней среды инфекционного стационара / **И.П. Чарушина**, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – Т. 16. – № 2. – С. 31-34.

10. Чарушина, И.П. Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов больничной среды отделений реанимации и интенсивной терапии инфекционного и хирургического стационаров / И.П. Чарушина, И.В. Фельдблюм, С.Ю. Баландина // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – Т. 16. – № 3. – С. 83-86.

11. Характеристика контаминации микромицетами объектов больничной среды стационара гематологического профиля / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 4. – С. 35-38.

12. Чарушина, И.П. Сравнительный анализ микобиоты стационаров различного профиля / И.П. Чарушина // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т. 17. – № 1. – С. 47-51.

13. Чарушина, И.П. Оппортунистические инвазивные микозы у ВИЧ-инфицированных пациентов / И.П. Чарушина // Пермский медицинский журнал. – 2015. – Т. 32. – № 1. – С. 71-77.

14. Сравнительная оценка эффективности дезинфицирующих средств при проведении текущей дезинфекции в стационаре для ВИЧ-инфицированных / **И.П. Чарушина**, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова, Н.И. Маркович // Вестник Пермского университета. – 2017. – № 1. – С. 99-103.

15. Факторы риска вероятного развития инвазивного кандидоза у ВИЧ-инфицированных / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, А.О. Чарушин, Н.Н. Воробьева, Ю.А. Жебелева // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2017. – №1. – С. 40-45.

16. Эпидемиолого-микробиологическая характеристика культур *Candida albicans*, циркулирующих в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, М.В. Кузнецова, А.В. Максимова, С.Ю. Баландина, В.А. Демаков, И.В. Фельдблюм // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т. 62. – № 4. – С. 246-251.

17. Сравнительная оценка обсемененности грибами *Candida albicans* пациентов и объектов больничной среды стационара для ВИЧ-инфицированных при регистрации случаев инвазивного кандидоза и в благополучный период / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова, Л.Н. Смирнова, Н.И. Маркович // Профилактическая и клиническая медицина. – 2017. – № 1(62). – С. 5-9.

18. Характерные клинические проявления орофарингеального кандидоза у пациентов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции / **И.П. Чарушина**, А.О. Чарушин, А.М. Еловигов, Н.Н. Воробьева // Российская оториноларингология. – 2017. – № 4 (89). – С. 97-101.

19. Клинико-микробиологическая характеристика орофарингеального кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов на поздних стадиях заболевания / **И.П. Чарушина**, А.О. Чарушин, А.М. Еловигов, Н.Н. Воробьева, Г.Г. Катрецкая // Вестник оториноларингологии. – 2017. – № 82(6). – С. 7-10.

В других изданиях

20. Чарушина, И.П. Церебральный криптококкоз у ВИЧ-инфицированных / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева // Инфекционные болезни: материалы II Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – М., 2010. – С. 359.

21. Чарушина, И.П. Особенности клиники криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева, И.В. Фельдблюм // Научная сессия (2010). Пермская государственная медицинская академия им. академика Е.А. Вагнера: материалы научной сессии. – Пермь, 2010. – С. 107-108.
22. Чарушина, И.П. Значение ранней диагностики генерализованного криптококкоза для продления жизни ВИЧ-инфицированных пациентов / И.П. Чарушина // Актуальные проблемы медико-социальной реабилитации. Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. – Пермь, 2010. – С. 239-240.
23. Чарушина, И.П. Генерализованный криптококкоз при ВИЧ-инфекции / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева // Проблемы медицинской микологии. Материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (XIII Кашкинские чтения). – СПб., 2010. – С. 142.
24. Чарушина, И.П. Клинико-диагностическая характеристика генерализованного криптококкоза у ВИЧ-инфицированных пациентов / И.П. Чарушина // Вестник Пермского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. – Пермь, 2010. – С. 16-17.
25. Риск развития инвазивного кандидоза / **И.П. Чарушина**, Н.Н. Воробьева, И.В. Фельдблюм, Л.С. Патракова // Инфекционные болезни: материалы III Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – М., 2011. – Т. 9. – С. 399.
26. Чарушина, И.П. Своевременная лечебно-диагностическая помощь больным инвазивными микозами – основа улучшения качества жизни пациентов / И.П. Чарушина // Качество жизни. Медико-социальные аспекты: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. – Пермь, 2011. – С. 236-238.
27. Чарушина, И.П. Инвазивный кандидоз при ВИЧ-инфекции / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева // Проблемы медицинской микологии: материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (XIV Кашкинские чтения). – СПб., 2011. – Т. 13. – № 2. – С. 118.
28. Чарушина, И.П. Сравнительная оценка контаминации микромицетами объектов внешней среды в медицинских организациях г.Перми / И.П. Чарушина, С.А. Лукьянцева // Инфекционные болезни: материалы IV Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – М., 2012. – Т.10. – С. 417.

29. Широта распространения плесневых грибов в стационаре инфекционного профиля / **И.П. Чарушина**, В.В. Семериков, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина // Проблемы медицинской микологии: материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (XV Кашкинские чтения). – СПб., 2012. – Т. 14. – № 2. – С. 127-128.

30. Чарушина, И.П. Уровень контаминации больничной среды ЛПУ микромицетами / И.П. Чарушина // Актуальные вопросы клинической медицины: материалы научной сессии ПГМА им. Ак. Е.А. Вагнера. – Пермь, 2012. – С. 63-65.

31. Изучение обсемененности грибами объектов больничной среды инфекционного стационара / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, В.В. Семериков, С.Ю. Баландина // Инфекционные болезни: материалы 5 Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – М., 2013. – С. 440-441.

32. Чарушина, И.П. Анализ эффективности антимикотиков у ВИЧ-инфицированных с криптококковым менингитом / И.П. Чарушина, С.Б. Ляпустин // Клиническая неврология. Опыт, достижения, перспективы: сборник тезисов к 120-летию первой в России кафедры для усовершенствования врачей неврологов. – СПб., 2013. – С. 116-117.

33. Сравнительная характеристика обсемененности грибами объектов больничной среды различных медицинских организаций г.Перми / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова, Н.Н. Воробьева // Инфекционные болезни: материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – М., 2014. – С. 338.

34. Чарушина, И.П. Современные особенности криптококкоза / И.П. Чарушина, Н.Н. Воробьева, Н.В. Зотова // Успехи медицинской микологии: материалы 6 Всероссийского конгресса по медицинской микологии с международным участием. – М., 2014. – Т. 13. – С. 240-241.

35. Сепсис различной этиологии у ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, Н.Н. Воробьева, С.Б. Ляпустин, Т.А. Варецкая // Журнал инфектологии: материалы 3 евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – Екатеринбург, 2014. – Т. 6. – № 2. – С. 110.

36. Чарушина, И.П. Обсемененность объектов больничной среды *Candida spp.* / И.П. Чарушина, С.Ю. Баландина, Г.А. Александрова // Проблемы медицинской

микологии: материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (XVII Кашкинские чтения). – СПб., 2014. – Т. 16. – №. 2. – С. 42.

37. Чарушина, И.П. Инвазивные грибковые инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов: клиника, диагностика, лечение / И.П. Чарушина // Вестник Пермского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. – Пермь, 2015. – № 3 (61). – С. 29-31.

38. Чарушина, И.П. Клинико-морфологическая характеристика криптококкоза на поздних стадиях развития ВИЧ-инфекции / И.П. Чарушина, Ф.А. Шилова, Ф.З. Сапегина // Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека: сборник научных трудов Всероссийской конференции с международным участием (6 научные чтения, посвященные памяти О.К.Хмельницкого). – СПб., 2015. – С. 369-372.

39. Об эффективности дезинфектантов, применяемых в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, В.В. Семериков, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии: материалы научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы». – Пермь, 2015. – № 16. – С. 96-98.

40. Микробиота помещений онкологического отделения и инфекционного стационара для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, В.В. Семериков, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии: материалы научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука и практика: достижения, инновации, перспективы». – Пермь, 2015. – № 16. – С. 98-100.

41. Особенности клиники орофарингеального кандидоза в ЛОР-практике / **И.П. Чарушина**, А.О. Чарушин, А.М. Еловиков, Н.Н. Воробьева // Материалы XIX съезда оториноларингологов России. – Казань, 2016. – С. 391-392.

42. Особенности микробиоты объектов больничной среды онкологического стационара / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина, Н.М. Коза // Медицина в Кузбассе. – 2016. – Т. XV. – № 4. – С. 57-62.

43. Характеристика ферментативной активности штаммов *Candida albicans*, выделенных от пациентов и объектов больничной среды в стационаре для ВИЧ-инфицированных / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина, Н.Н. Воробьева // Инфекционные болезни: материалы VIII Ежегодного

Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – М., 2016. – С. 302-303.

44. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Candida albicans*, выделенных в стационаре для ВИЧ-инфицированных пациентов / **И.П. Чарушина**, И.В. Фельдблюм, М.В. Кузнецова, А.О. Чарушин // Инфекционные болезни: материалы IX Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – М., 2017. – С. 306-307.

45. Чарушина, И.П. Трудности диагностики глубоких микозов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции / И.П. Чарушина, Ф.А. Шилова // Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека: сборник научных трудов Всероссийской конференции с международным участием (7 научные чтения, посвященные памяти О.К. Хмельницкого). – СПб., 2017. – С. 221-224.

46. Распространенность микромицетов в больничной среде стационаров и методы их ликвидации / **И.П. Чарушина**, Г.А. Александрова, С.Ю. Баландина, В.В. Семериков // Материалы научной конференции, посвященной 100-летию кафедры физиологии растений и микроорганизмов ПГНИУ. – Пермь, 2017. – С. 52-55.

Список сокращений:

АМП – антимикотические препараты

АРТ – антиретровирусная терапия

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИК – инвазивный кандидоз

ПАВ – психоактивные вещества

ОДК – острый диссеминированный кандидоз

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОФК – орофарингеальный кандидоз

ОШ – отношение шансов

ПА – протеиназная активность

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ФЛА – фосфолипазная активность

ФСИН – федеральная служба исполнения наказаний

ХГС – хронический гепатит С

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ESCMID – European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Научное издание

Чарушина Ирина Петровна

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

14.02.02 – Эпидемиология

14.01.09 – Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Подписано в печать 29.06.2018. Формат 60×90/16.

Усл. печ. л. 2,0. Тираж 100 экз. Заказ № .

Отпечатано в типографии издательства

Адрес: