

**ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)**

ФИЛИНА ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА

«Характеристика грибов рода *Candida*, выявляемых у ВИЧ-
инфицированных пациентов»

14.01.09- инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Заведующая кафедры
инфекционных болезней
МПФ, доктор медицинских наук,
профессор Волчкова Е.В.

Научный консультант: профессор
кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии МПФ,
профессор, доктор медицинских
наук Несвижский Юрий
Владимирович.

Москва- 2018 год

Оглавление

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБОВ РОДА CANDIDA ВХОДЯЩИХ В БИОТОПЫ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ТЕРМИНАЛЬНОГО ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ НА СТАДИИ 3, 4А, 4Б, 4В.	10
1.1 Видовой состав и биологические свойства грибов рода <i>Candida</i>	10
1.2 Эпидемиология кандидоза. Видовой спектр грибов рода <i>Candida</i> в составе микрофлоры различных биотопов у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В.	15
1.3 Спектр фунгицидных препаратов, применяемых у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В.	18
1.4 Антимикотикорезистентность <i>Candda spp.</i> , выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов к фунгицидным препаратам используемым в настоящее время.	23
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.	28
2.1 Общая характеристика обследуемых пациентов.	28
2.2 Характеристика специальных методов лабораторного исследования мазков из ротоглотки и образцов фекалий на <i>Candida spp.</i> у обследованных ВИЧ-инфицированных пациентов.	43
2.2.1 Лабораторные методы исследования культур <i>Candida spp.</i> , выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов.	43
2.2.2 Идентификация <i>Candida spp.</i> методом ПЦР-РВ, «АмплиСенс <i>C. albicans</i> / <i>C. glabrata</i> / <i>C. krusei</i> -МУЛЬТИПРАЙМ-FL».....	44
2.2.3 Идентификация <i>Candida spp.</i> методом INTEGRAL SYSTEM YEASTS plus.	48
2.2.4 Идентификация <i>Candida spp.</i> при помощи КАНДИДАтест21	51
2.2.5 Изучение морфологических особенностей возбудителей инвазивного кандидоза	51

2.2.6 Диско-диффузионный метод определения чувствительности - CLSI M44-A	51
2.3 Статистическая обработка результатов	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	55
3.1 Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении <i>Candida spp.</i> , выделенных из различных биотопов (ротоглотка, кишечник) от ВИЧ-инфицированных пациентов.	59
ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.	86
ВЫВОДЫ.	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

Микозы, вызванные грибами рода *Candida*, являются значимой проблемой для практического здравоохранения, особенно для пациентов с ВИЧ инфекцией [122].

Грибы рода *Candida*, составляя значительную часть биоценоза макроорганизма [57], взаимодействуют с другими видами условно-патогенных микроорганизмов и представителями нормофлоры. В микробных сообществах грибы рода *Candida* не только испытывают антагонистическое давление со стороны представителей нормальной микрофлоры, но зачастую образуют ассоциации с другими микроорганизмами, которые, наоборот, способствуют колонизации биотопов грибковой флорой. Однако вопрос об изменении биологических свойств грибов рода *Candida* у пациентов с ВИЧ инфекцией остается недостаточно изученным. В этой связи актуальным представляется изучение особенностей видового состава и биологических характеристик грибов рода *Candida* у пациентов с ВИЧ инфекцией с различной степенью иммунодефицита.

По мере увеличения числа инфицированных ВИЧ и длительности их заболевания, нарастает число больных сопутствующими заболеваниями [2, 63].

Представители рода *Candida* являются типичными возбудителями оппортунистических инфекций и многократно усиливают свой патогенный потенциал в условиях нарушений в иммунной системе хозяина [128], вследствие чего могут не только ухудшать прогноз основного заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов, но и быть причиной летального исхода [60].

Вместе с тем, нарастающая антимикотикорезистентность *Candida* spp. у ВИЧ-инфицированных пациентов, нередко получающих длительное время антифунгальные препараты, как с профилактической, так и с лечебной целью [22] обуславливают необходимость разработки эффективных схем лечения на основе изучения устойчивости *Candida* spp. к противогрибковым препаратам, на видовом

и генетическом уровнях [17].

В последнее время отмечена тенденция к увеличению случаев non-albicans кандидозов, хуже поддающихся лечению.[16, 46]. По данным зарубежных авторов, длительное лечение ВИЧ-инфицированных пациентов препаратами азолового ряда также приводит к изменению видового состава *Candida spp.* и характеризуется постепенным нарастанием non-albicans видов, особенно *Candida glabrata*. Данная тенденция является одной из причин рефрактерного кандидоза слизистых оболочек у пациентов с развитой иммуносупрессией и низким количеством CD4 [50, 75].

По мнению авторов, в большинстве ситуаций проведения видовой идентификации вместе с локальными данными по чувствительности возбудителей достаточно для выбора антимикотической терапии. Таким образом, целенаправленное определение чувствительности может быть необходимым для оптимизации терапии при недостаточном ответе к проводимой антифунгальной терапии [17, 141].

Представленные данные свидетельствуют о скудной и разрозненной информации, касающейся изучения композиции представителей рода кандиды у ВИЧ-инфицированных пациентов в различных микробиотах (полость рта, кишечник) и чувствительности *Candida spp.* к антимикотикам, как в России, так и за рубежом.

Таким образом, для разработки эффективных схем лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов, необходимо изучение устойчивости *Candida spp.* к противогрибковым препаратам на видовом и генетическом уровнях.

Цель исследования.

Изучение и анализ видового и штаммового дрейфа грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, с орофарингеальным кандидозом на фоне антимикотической терапии.

Задачи исследования.

- Анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, на фоне антимикотической терапии.
- Установить характер взаимодействия *C. albicans* с другими видами грибов данного рода у ВИЧ-инфицированных пациентов.
- Проанализировать влияние антимикотического лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов на видовой и штаммовый состав *Candida* spp.
- Определить чувствительность штаммов *Candida* spp. к различным антимикотикам.
- По анализу чувствительности *Candida* spp. к различным антимикотикам определить возможный альтернативный вариант лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Научная новизна исследования.

1. Впервые охарактеризован видовой состав грибов рода *Candida* выделенных от пациентов с ВИЧ-инфекцией на стадии 3, 4А, 4Б, 4В в различных биотопах макроорганизма.

2. Впервые с помощью диско-диффузионного метода и определения минимальной ингибирующей концентрации изучена чувствительность грибковой флоры *in vitro* к фунгицидным препаратам ряда фармакологических групп, используемым в настоящее время для лечения пациентов с ВИЧ-инфекцией.

3. Разработаны показания для применения фунгицидных препаратов ряда фармакологических групп в комплексном лечении кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

4. Проведена клиническая и микробиологическая оценка эффективности стандартных схем антифунгальной химиотерапии, применяемой в настоящее время для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты диссертационного исследования расширяют теоретические представления о биологических свойствах грибов рода *Candida*, выделенных из разных биотопов тела человека при ВИЧ-инфекции. Определен спектр антимикотиков в отношении грибов рода *Candida*, изолированных у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 4 А, Б, В. Полученные данные могут быть использованы при выборе эффективных препаратов для эмпирической терапии больных кандидозом. Собранная в результате исследования коллекция чувствительных и резистентных к противогрибковым препаратам изолятов *Candida* spp. от пациентов с ВИЧ-инфекцией депонирована в Российскую коллекцию патогенных грибов.

Методология и методы исследования.

Данная диссертационная работа – клиничко-лабораторное исследование

Объекты исследования – фекалии и образцы из ротоглотки ВИЧ-инфицированные пациенты на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, находившихся на стационарном лечении в ИКБ №2 с апреля 2015- по апрель 2017гг.

Для выполнения работы использовали микробиологические, биохимические, молекулярно-генетические и статистические методы.

Положения, выносимые на защиту.

- Выявлено изменение видового состава грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов (2015 и 2017гг.).
- Установлено подавление *S. albicans* других видов грибов данного рода у ВИЧ-инфицированных пациентов.
- Антимикотическое лечение кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов приводит к изменению видового и штаммового состава *Candida* spp.
- Установлена различная чувствительность штаммов *Candda* spp. к антимикотическим препаратам.

- По анализу чувствительности *Candida spp.* к различным антимикотикам определены возможные альтернативные варианты лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов, в частности, итраконазолом и нистатином.

Степень достоверности и апробация результатов диссертационного исследования.

Степень достоверности результатов, полученных при проведении исследования, подтверждается достаточным и репрезентативным объёмом выборки выполненных исследований, подтверждена адекватными методами статистической обработки данных. Методы математической обработки полученных результатов соответствуют поставленным задачам. Материалы диссертационного исследования представлены на конференциях и конгрессах:

Научно-практической конференция ‘Актуальные проблемы микробиологической безопасности: вопросы микологии’, в рамках 7 Общероссийской конференции с международным участием “Неделя медицинского образования- 2016” (Москва, сентябрь 2016г);

IV всероссийской научно-практической конференции с международным участием “Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания” (Сочи, 1 – 4 ноября 2017);

Межфакультетской студенческой конференции с международным участием «Интеграция специалистов здравоохранения, клинических психологов и социальных работников: наука и практика» (г. Москва, 4 декабря 2015 г.);

VI Всероссийской научно –практической конференции с международным участием молодых ученых и специалистов «Окружающая среда и здоровье. Гигиена и экология урбанизированных территорий», посвященная 85-летию ФГБУ «НИИ ЭЧ и ГОС ИМ. А.Н. Сысина» Минздрава России, (Москва ,13 – 14 сентября 2016 г.);

Материалах IX, X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва, 2017 г., 2018;

28 th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Madrid, Spain, from 21 - 24 April 2018).

По теме диссертации опубликованы 11 научных работ, в т. ч. 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в которых полностью отражены результаты диссертационного исследования.

Личный вклад диссертанта. Автор лично провел клиническое обследование ВИЧ инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В и сбор биологического материала. Автором также самостоятельно выполнены все микробиологические исследования по теме диссертации, проведена статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 119 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания методов и материалов исследования, результатов работы, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения. Диссертация содержит 13 рисунков, 15 таблиц и 9 диаграмм и 10 фоторафий, а также 3 клинических примера. В работе использованы 50 отечественных и 103 иностранных источников литературы.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. ХАРАКТЕРИСТИКА ГРИБОВ РОДА CANDIDA ВХОДЯЩИХ В БИОТОПЫ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ТЕРМИНАЛЬНОГО ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ НА СТАДИИ 3, 4А, 4Б, 4В.

1.1 Видовой состав и биологические свойства грибов рода *Candida*.

Грибы рода *Candida* — это аэробные одноклеточные, относящиеся к условно-патогенным микроорганизмам [47]. Классификация грибов рода *Candida* представлена на рис 1.:

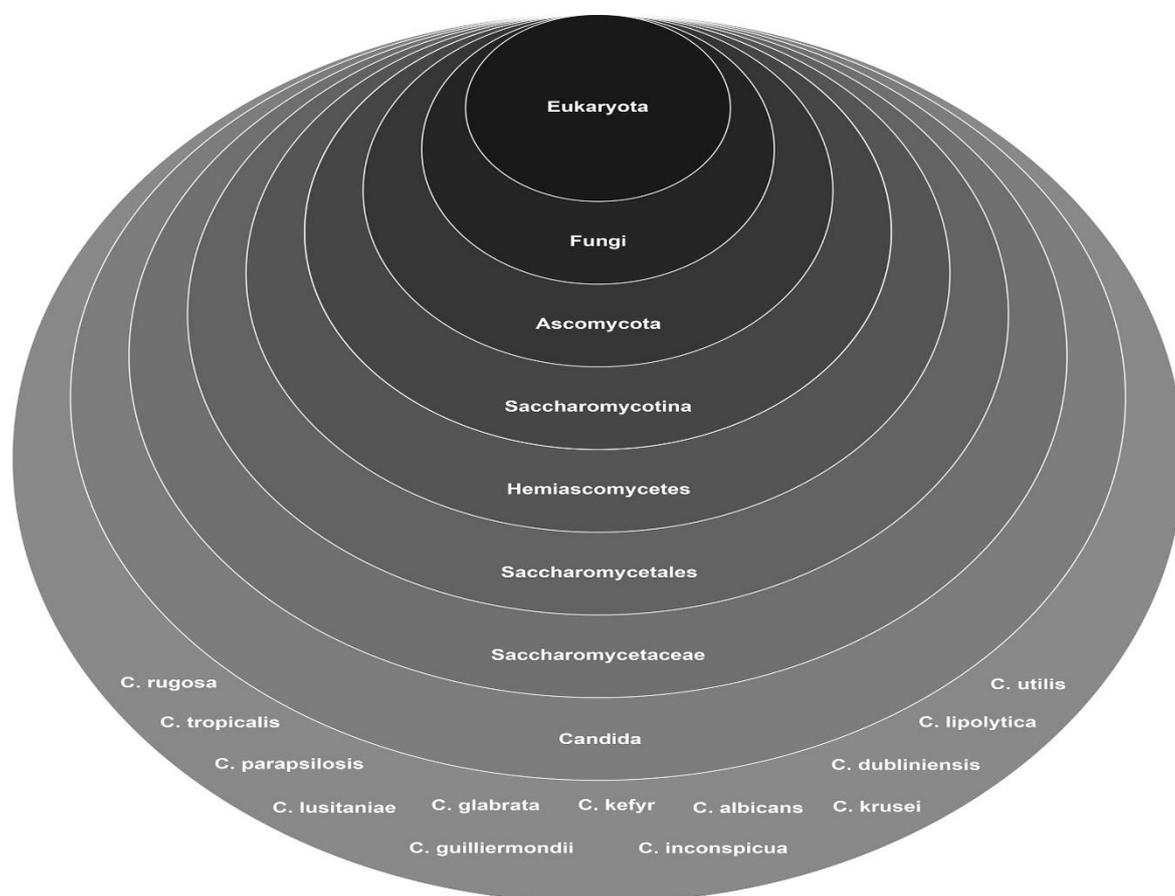


Рисунок 1. Классификация грибов рода *Candida*.

На сегодняшний день известно более 200 видов грибов рода *Candida*. К наиболее часто встречающимся относят виды: *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, [37]. Реже встречаются: *C. rugosa*, *C. inconspicua*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. kefir*, *C. dubliniensis* [28].

Грибы рода *Candida* отличаются способностью образовывать псевдомицелий, представляющий собой нити из удлиненных клеток, а также бластоспоры или клетки-почки, сидящие на перетяжках псевдомицелия и споры с плотной двойной оболочкой — хламидоспоры. Представители рода *Candida* имеют сложное строение: 5-6-слойную клеточную стенку, оформленное ядро и органеллы. Проникновению гриба в эпителиальную клетку способствует фосфолипаза, которую содержит их клеточная стенка. Так, при гистологическом исследовании биоптатов слизистой ЖКТ обнаружено глубокое проникновение и размножение грибов рода *Candida*, как в поверхностных, промежуточных, так и в базальных клетках эпителиального слоя пищеварительного тракта [116].

Факторы патогенности грибов рода *Candida* представлены ниже [63, 114]

- способность к адгезии на органах и клетках организма хозяина;
- токсигенность за счет синтеза гемолизина и эндотоксинов;
- синтез гидролитических энзимов, вызывающих повреждение тканей хозяина и облегчающий проникновение в них псевдомицелия (секретируемые аспартилпротеиназы и фосфолипазы), [56];
- трансформация в псевдомицелий, инвазирующий ткани хозяина;
- способность потенцировать аллергические реакции и иммуномодуляторные эффекты, снижающие естественную антимикробную резистентность макроорганизма
- спонтанная фенотипическая изменчивость, которая играет важную роль в процессах адаптации грибов к различным анатомическим нишам макроорганизма и приобретения резистентности к антимикотикам;
- подавление облигатной микрофлоры слизистых оболочек хозяина и формирование микст-инфекции.

Совокупность факторов патогенности *Candida* spp. способствует многократному усилению их инвазивного потенциала в условиях нарушения системы антимикробной резистентности хозяина и изменениях в их микроокружении [67, 84]. Среда с пониженной кислотностью потенцирует

грибы *Candida* к появлению вегетирующих форм с образованием псевдомицелия, увеличивающего повреждение слизистых оболочек [13]. Так, у ВИЧ-инфицированных пациентов, для которых характерна ахлоргидрия, грибы *Candida* могут вызывать кандидоз желудка, в то время как у здоровых людей без нарушения иммунитета, эта локализация встречается крайне редко [117].

По современным представлениям, в условиях здорового организма, основным «местом обитания» *Candida* spp. является кишечник. Так, исследование, проведенное у взрослых здоровых добровольцев, показало, что *C. albicans* присутствует в орофарингеальной зоне у 17–75% из них [54, 58, 76]. При исследовании состава микрофлоры кишечника здоровых людей нескольких стран Европы присутствие грибов обнаружено в 20-80% [84], в кале — у 65–80% [6]. Также *Candida* spp. выделяется из других биотопов, в частности, урогенитального тракта [102].

Процесс колонизации *Candida* spp. организма человека отчасти регулируется факторами иммунитета [41]. Главное место в этом занимают мононуклеарные фагоциты (моноциты и макрофаги) и полиморфноядерные лейкоциты [70]. Важным компонентом защиты от инвазии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) также является система местного иммунитета слизистой кишечника. Клеточная часть этой системы включает интраэпителиальные лимфоциты, препятствующие транслокации возбудителя через слизистую оболочку и концентрации в пейеровых бляшках. Секреторные IgA и IgM, которые вырабатывают В-лимфоциты кишечника также уменьшают способность грибов к адгезии.

Нормальные гистохимические, биохимические и физиологические процессы в ЖКТ, поддержание кислотно-ферментативного барьера, полноценная перистальтическая активность, своевременная регенерация эпителиоцитов также являются защитными факторами, препятствующими проникновению грибковой флоры во внутреннюю среду организма [107]. Роль кислого желудочного содержимого в предотвращении внедрения грибов в слизистую также считается доказанной [117].

Установлена важная роль нормальной микрофлоры в ограничении роста популяции *Candida*. Населяющие биотопы макроорганизма индигенные микробы, вырабатывают перекиси и короткоцепочечные жирные кислоты, которые обладают антибактериальной активностью и предотвращают внедрение патогенных микроорганизмов и избыточное размножение условно–патогенной флоры, в т.ч. кандид. Наиболее выраженными антагонистическими свойствами обладают бифидобактерии, лактобациллы и эшерихии [127].

Так, у больных микробной экземой в зеве был зарегистрирован антагонизм между *Candida spp.* и стрептококками. Они выростали в зеве почти у половины (42,3%) больных экземой только при отсутствии *Candida spp.* и практически не высевались в их присутствии. Разнообразная микробная флора слизистой зева наблюдалась у больных с экземой в 2,1 раза чаще на фоне отсутствия *Candida spp.* (30,8% против 14,6%) ($p < 0,05$). Примечательно, что лечение антибактериальными препаратами приводит к быстрой смене количественного и качественного состава микробного сообщества с преобладанием некоторых видов микробов, в том числе *Candida spp.* Лишаясь конкурентов и антагонистов, грибы *Candida* получают возможность адгезии, ускоренного роста и колонизации [120].

В исследование, посвященному анализу изменений кишечной микробиоты, [151] у пациентов с язвенной болезнью, получающих терапию первой линии для эрадикации хеликобактерной инфекции (ингибиторы протонной помпы в сочетании с двумя антибактериальными препаратами – амоксициллин и кларитромицин), показал заметное ухудшение характеристик кишечного микробиоценоза и, в том числе, увеличение количества *Candida spp.* и другой условно-патогенной микробиоты. У таких пациентов колонизация ЖКТ *Candida spp.* возросла до 30%, то есть у каждого третьего пациента в фекалиях определяли данный оппортунистический микроорганизм.

В микробных сообществах макроорганизма грибы рода *Candida* не только испытывают антагонистическое давление со стороны представителей нормальной микрофлоры, но зачастую образуют ассоциации с другими микроорганизмами, которые, наоборот, способствуют колонизации биотопов грибковой флорой. По

данным различных исследований [152] *Candida* обнаруживается совместно с Rotavirus – 45,5%; *Staphylococcus aureus* – 10%; *Klebsiella pneumoniae* – 10%. Исследования, проведенные у больных с экземой, показали, что характерной особенностью биотопов слизистой пищеварительного тракта у них является ассоциация стафилококка и *Candida* spp. (85,4%), в то же время при наличии *Candida* spp. стафилококки в зеве выявлялись в 1,5 раза чаще (85,4% против 57,7%) ($p < 0,05$), чем без них, причем в обоих случаях идентифицировался *S. aureus*. Интересен факт увеличения частоты встречаемости грибов рода *Candida* в слепой кишке и в фекалиях соответственно в 1,9 и 1,5 раза ($p < 0,05$) в присутствии *S. Aureus* [131]. По данным отечественного исследования [151] у 8 из 12 пациентов с хеликобактерной инфекцией наблюдалось увеличение представительства грибов в кишечнике в сочетании как минимум трех представителей условнопатогенной микробиоты.

Примечательно, что формирование ассоциативных сожительства микроорганизмов способствует не только поддержанию определенного уровня условно-патогенных бактерий, но и повышению экспрессии факторов вирулентности у отдельных представителей. Так, среди представителей рода *Candida*, выделенных из ассоциаций у детей с ВИЧ инфекцией, 39,3% грибов обладали гемолитической и 71,4 % — липазной активностью, в то время как у ВИЧ-негативных детей данные грибы проявляли гемолитическую и липолипазную активность в 7,8 % и 21,3% соответственно ($p < 0,01$). Целый ряд исследований выявил способность дрожжевых грибов рода *Candida* потенцировать рост клебсиелл. При этом штаммы *C. Albicans*, выделенные в ассоциации с *S. Aureus*, в 56,3% случаев также обладали более высокой адгезивностью [131]. Представленные данные показывают крайнюю нестабильность микробиоты макроорганизма и значительное влияние на неё самых различных факторов, снижающих естественные защитные механизмы и усиление патогенных свойств представителей рода *Candida*. Всё перечисленное в совокупности определяет необходимость изучения изменчивости свойств грибов рода *Candida* у пациентов с выраженной иммуносупрессией, т.е. у пациентов с

ВИЧ-инфекцией.

1.2 Эпидемиология кандидоза. Видовой спектр грибов рода *Candida* в составе микрофлоры различных биотопов у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В.

Россия по темпам прироста числа ВИЧ-инфицированных пациентов занимает одну из лидирующих позиций в мире [133]. На 30 июня 2017 года количество зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан России составило 1 167 581. Отмечается, что за последние пять лет, с 2012 по 2017 год, в нашей стране появилось полмиллиона (495 тысяч) новых случаев ВИЧ. 259 156 ВИЧ-позитивных людей к 2017 году умерли, общее число живущих с ВИЧ, по данным Роспотребнадзора, составило 908 425 россиян.

За первые полгода 2017-го центры СПИД в российских регионах зафиксировали 52 766 новых случаев ВИЧ среди граждан РФ, исключая выявленных анонимно, а также иностранных граждан. Прирост составил 3,3%, по сравнению с аналогичным периодом 2016 года [123].

Количества смертей среди ВИЧ-инфицированных в Российской Федерации возрастает год от года по данным Роспотребнадзора [123, 139, 145]. По мере увеличения числа инфицированных ВИЧ и длительности их заболевания, нарастает число больных сопутствующими заболеваниями [138, 145]. Так, одно из первых мест в структуре оппортунистических заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов занимают кандидозы различной локализации [103], которые в 10–13% случаях становятся причиной гибели пациентов данной группы [115, 148], а орофарингеальный кандидоз является самым распространенным оппортунистическим заболеванием у ВИЧ-инфицированных пациентов не получающих АРТ (34,6-50,4%) [63, 73, 146]

Термин «кандидоз» подразумевает патологический процесс, в основе которого лежит избыточный рост *Candida spp.* первично в ЖКТ и вторично в других системах организма (на слизистой оболочке гениталий, бронхов, в

паренхиматозных органах) [23, 49]. *Candida spp.* могут вызывать поражение слизистых полости рта, стоматит, гингивит, орофарингит, эзофагит, кандидоз желудка, толстой кишки, кожи, интритриго, паронихии, хронический кандидоз кожи и слизистых, кандидозный вульвовагинит, кандидозный баланопостит, поражение глаз, а также генерализованный кандидоз с вовлечением респираторного тракта, почек, эндокарда, реже головного мозга [102, 105, 110, 112].

У ВИЧ-инфицированных пациентов наиболее часто встречаются три клинических формы кандидоза кожи и слизистых: орофарингеальный кандидоз, кандидозный эзофагит и кандидозный вульвовагинит [33, 38, 86].

Орофарингеальный и вульвовагинальный кандидоз являются наиболее распространенными формами кандидоза [85, 137].

У 90% людей с ВИЧ-инфекцией, не получающих необходимого лечения, манифестируют проявления орофарингеального кандидоза [147], причем 60% имеют по крайней мере 1 эпизод данного заболевания, тогда как более частые рецидивы, по данным различных источников, имеют 50-60%. [18, 19, 101, 27, 30, 44, 45, 68, 83, 95, 96]. Кандидоз пищевода встречается реже (10 -20%), но является основной причиной заболеваний пищевода у ВИЧ-инфицированных лиц [31, 80, 99]. Вагинальный кандидоз отмечен у 27-60% женщин с ВИЧ-инфекцией, однако следует отметить, что у 75% всех женщин детородного возраста развивается вагинальный кандидоз [71, 91].

Кандидозный стоматит входит в число первых клинических проявлений ВИЧ-инфекции [74, 109, 118]; им страдает большинство больных с диагнозом СПИД, не получающих лечения. Кандидозный стоматит может развиваться за месяцы и годы до других, более тяжелых, оппортунистических инфекций и служит не только диагностическим критерием ВИЧ-инфекции, но и показателем ее прогрессирования [15, 33, 35].

Орофарингеальный кандидоз и кандидоз пищевода также распространены у ВИЧ-инфицированных пациентов [8, 35, 130, 136]. Подавляющее большинство

случаев заболеваний данной локализации вызваны *Candida albicans* [51, 63], однако, как было отмечено ранее, отмечается тенденция к нарастанию заболеваний, вызванных non-*albicans* видами [12, 54, 62, 90]. Возникновение орофарингеального кандидоза и кандидоза пищевода являются индикатором снижения иммунитета и чаще всего наблюдается у пациентов с числом Т лимфоцитов (CD4) <200 клеток / мм³ [4, 6], при этом, для кандидоза пищевода характерно обычно более выраженное снижение CD4 [8, 35].

Напротив, вульвовагинальный кандидоз, включая рецидивирующее течение, распространен у здоровых взрослых женщин и не предполагает ВИЧ-инфекции. По данным зарубежных исследований, хотя вульвовагинальный кандидоз и более распространен среди ВИЧ-инфицированных женщин, по сравнению с ВИЧ-отрицательными женщинами, связь скорости колонизации *Candida spp.* с показателями CD4 не является очевидной [2, 79]. В перекрестном исследовании 833 ВИЧ-инфицированных и 427 ВИЧ-неинфицированных женщин годовая заболеваемость вагинальным кандидозом в 2 группах была одинаковой (9%) [78].

Из более 200 видов известных дрожжеподобных грибов рода кандиды 20 были описаны как возбудители кандидоза [142], наиболее частым из которых у ВИЧ-инфицированных пациентов является *C. albicans* (до 62% случаев) [58]. Среди других видов (*C. non-albicans*) доминирующими признаны *C. glabrata* (46,4%), *C. parapsilosis* (24,7%), *C. tropicalis* (13,9%), *C. krusei* (5,5%) [150].

По данным многоцентрового исследования, проведенного в 25 различных медицинских учреждениях Европы, грибы рода *Candida* занимают восьмое место среди микроорганизмов, вызывающих сепсис, а в США, по данным схожего исследования – четвертое место [8, 21].

Следует отметить, что в последнее время отмечена тенденция к увеличению случаев non-*albicans* кандидозов, хуже поддающихся лечению [16, 46, 64]. Например, данные отечественного исследования [106], включающего 6 летний период мониторинга грибковых инфекций в ОРИТ свидетельствуют о существенном увеличении доли non-*albicans* видов грибов рода *Candida*,

выделенных из крови и отделяемого нижних дыхательных путей пациентов. В 2002 г. группа non-albicans видов составляла 25%, в 2003 г. – 46%, в 2004 г. – 58%, в 2005 г. – 49,5%, в 2006 г. – 68%, в 2007 г. – 54%. Если в 2002 г., в начале анализируемого периода 75% всех грибов выделенных из крови и отделяемого нижних дыхательных путей были представлены *C. albicans*, то в конце периода т.е. в 2006 и 2007 гг., доля *C. Albicans* не превышала 32 и 45% соответственно [106].

По данным европейского исследования кандидемии, связанные с катетеризацией сосудов вызывались *C. parapsilosis* в 73% случаев, в 8% случаев – *C. albicans*, в 19% – другими кандидами [72].

По данным зарубежных авторов, длительное лечение ВИЧ-инфицированных пациентов препаратами азолового ряда также приводит к изменению видового состава *Candida spp.* и характеризуется постепенным нарастанием non-albicans видов, особенно *Candida glabrata*. Данная тенденция является одной из причин рефрактерного кандидоза слизистых оболочек у пациентов с развитой иммуносупрессией и низким количеством CD4 [50, 75]. В тоже время, в ряде работ установлено, что отдельные штаммы грибов рода *Candida*, поражающие людей с ВИЧ-инфекцией, не отличаются от таковых у пациентов с иммуносупрессией иной этиологии [69]. Однако в отечественной литературе, исследований, касающихся данного вопроса в настоящее время нет.

Представленные данные свидетельствуют о скудной и разрозненной информации, касающейся изучения композиции представителей рода кандиды у ВИЧ инфицированных пациентов в различных микробиотах (полость рта, кишечник) и чувствительности *Candida spp.* к антимикотикам в России.

1.3 Спектр фунгицидных препаратов, применяемых у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В.

В настоящее время, как России, так и за рубежом, существуют руководства,

содержащие четкие рекомендации лечения кандидоза [1, 32, 121], которые представлены таблице 1.

Таблица 1.

Рекомендации лечения заболеваний, вызванных грибами рода *Candida* в России и США.

	Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых. Москва 2014	Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents U.S. Department of Health and Human Services 2016
<i>Кандидозный стоматит</i>	<p><i>Схема выбора:</i> Флуконазол, 100 мг внутрь 1 раз в сутки до достижения клинического эффекта.</p> <p><i>Альтернативные схемы:</i> Нистатин, 500 000 ЕД внутрь 5 раз в сутки. Кетоконазол, 200 мг внутрь 1 раз в сутки.</p>	<p><i>Схема выбора:</i> (Продолжительность терапии: 7-14 дней) Флуконазол 100 мг внутрь 1 раз в сутки;</p> <p><i>Альтернативные схемы:</i> Клотримазол 10 мг внутрь 5 раз в сутки; Минказол: наносить на поверхность слизистой оболочки над собачьей ямкой один раз в день; Раствор для перорального приема итраконазола 200 мг внутрь ежедневно; Позаконазол пероральная суспензия 400 мг внутрь в течение одного дня, затем 400 мг ежедневно; Нистатин-суспензия 4-6 мл 4 раза в день</p>
<i>Кандидозный эзофагит</i>	<p><i>Схема выбора:</i> Флуконазол, 400 мг в первые сутки, далее 200 мг в сутки внутрь в течение 2 — 3 недель.</p> <p><i>Альтернативные схемы:</i></p>	<p><i>Схема выбора:</i> Флуконазол 100 мг (до 400 мг) внутрь или внутривенно ежедневно; Раствор для перорального приема итраконазола 200 мг внутрь</p>

	<p>Итраконазол, 100 — 200 мг 2 раза в сутки в течение 2 — 3 недель.</p> <p>Амфотерицин В, 0,3 — 0,7 мг / кг в сутки в / в капельно в течение 5 — 7 суток.</p>	<p>ежедневно;</p> <p><i>Альтернативные схемы:</i></p> <p>Вориконазол 200 мг внутрь или внутривенно;</p> <p>Исавуконазол 200 мг внутрь в качестве нагрузочной дозы, затем 50 мг внутрь ежедневно;</p> <p>Исавуконазол 400 мг внутрь в качестве нагрузочной дозы, затем 100 мг внутрь ежедневно;</p> <p>Исавуконазол 400 мг внутрь один раз в неделю;</p> <p>Каспофунгин 50 мг внутривенно ежедневно;</p> <p>Микафунгин 150 мг внутривенно ежедневно;</p> <p>Anidulafungin 100 мг внутривенно для одной дозы, затем 50 мг внутривенно ежедневно;</p> <p>Амфотерицин В дезоксихолат 0,6 мг / кг внутривенно ежедневно;</p> <p>Амфотерицина В липосомальный 3-4 мг / кг внутривенно ежедневно</p>
--	---	---

Таким образом, несмотря на различия альтернативных схем лечения, препаратом выбора при лечении кандидозного стоматита является флуконазол, 100 мг внутрь 1 раз в сутки. Однако варьирует продолжительность лечения, в России рекомендовано применять препараты азолового ряда до достижения клинического эффекта, что может значительно продлевать сроки введения альтернативных схем лечения в условиях резистентности *Candida spp.* к флуконазолу. За рубежом для местной терапии применяют, например, пастилки с клотримазолом или суспензию нистатина или амфотерицина В. В нашей стране

такие лекарственные формы не зарегистрированы, в качестве альтернативных препаратов предлагается нистатин 500 000 ЕД внутрь 5 раз в сутки, что является малоэффективным, учитывая отсутствие системного действия нистатина; кетоконазол, 200 мг внутрь 1 раз в сутки. При лечении кандидозного эзофагита препаратом выбора также является флуконазол 400 мг в первые сутки, далее 200 мг в сутки внутрь в течение 2–3 недель. В качестве альтернативных препаратов предлагаются итраконазол, 100–200 мг 2 раза в сутки в течение 2–3 недель; амфотерицин В, 0,3–0,7 мг/кг в сутки внутривенно капельно в течение 5–7 суток; вориконазол, с учетом рекомендуемой насыщающей дозы [121]. В случае инвазивных форм кандидоза требуется назначение резорбируемых антифунгальных средств или внутривенное введение амфотерицина [150], однако лечение избыточного роста грибов рода кандиды в кишечнике не требует назначения таковых [150].

Шевяков М.А. и соавт. в своей работе показали, что терапия флуконазолом, может подавлять рост *Candida spp.* в кишечнике: до 1/3 пациентов полностью saniруются, а у остальных 2/3 пациентов полной деконтаминации кишечника от дрожжеподобных грибов не происходит, однако происходит снижение степени контаминации ЖКТ более чем в 6 раз. Вероятнее всего, это связано с тем, что около 80% активных метаболитов флуконазола выводятся из организма с мочой, а в просвете кишечника данный антифунгальный препарат накапливается в малых количествах [149]. В то же время нельзя забывать о банальной видовой или штаммовой резистентности к антимикотическим препаратам [65, 143].

При обследовании ВИЧ-инфицированных пациентов в другом исследовании, флуконазол-резистентный орофарингеальный кандидоз был выявлен в 38,4 % случаев, интересно, что к амфотерицину В были чувствительны все выделенные грибковые патогены в обследованной группе пациентов [129].

Для лечения перианального кандидоза рекомендовано местное применение мазей и кремов, содержащих антифунгальные средства, например, натамицина или др.

Однако только местная терапия не предотвращает рецидивов заболевания,

поскольку не может осуществить деконтаминацию основного резервуара кандидозной инфекции – кишечника [150].

Следовательно, основу лечения кандидоза составляют препараты – производные триазола, имидазола и полиеновые антибиотики. Между тем в действующих рекомендациях [1, 32, 121] отсутствуют четкие указания на преимущества антимикотиков разных групп в зависимости от локализации патологического процесса.

Полиены – антимикотики природного происхождения, которые в зависимости от концентрации могут оказывать как фунгистатическое, так и фунгицидное действие. Наиболее часто используемыми препаратами полиенов являются нистатин и амфотерицин В. Нистатин не токсичен, при местном применении практически не всасывается в кровь, что ограничивает область его применения при поверхностных микозах. При внутривенном введении амфотерицин распределяется в большинстве органов и на 90% связывается с белками плазмы крови, но при местном применении не всасывается в системный кровоток. Основным недостатком данного препарата является высокая нефро- и гепатотоксичность.

Триазолы – лекарственные средства как для местного, так и для системного применения. Среди них для лечения кандидозов различной локализации чаще всего используют флуконазол, итраконазол, вориконазол. Флуконазол хорошо всасывается из ЖКТ, его биодоступность – 90%. Проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что важно при лечении менингита, вызванного грибковой флорой, но он гепатотоксичен. Вориконазол – препарат системного действия, эффективен в отношении штаммов, рефрактерных к лечению флуконазолом, однако он нефро- и гепатотоксичен, что необходимо учитывать в связи с часто встречающимся среди ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусными гепатитами [111]. Итраконазол применяется как местно, так и системно, способен накапливаться в органах, но плохо проникает через ГЭБ. Учитывая широкое применение в настоящее время АРТ, для лечения основного заболевания у пациентов с ВИЧ-инфекцией [9, 24, 87, 89], необходимо принимать

во внимание наличие лекарственных взаимодействий итраконазола с ингибиторами протеаз (ритонавир и т.д.). Из производных имидазола наиболее употребим кетоконазол, который оказывает как фунгистатическое, так и фунгицидное действие. Хорошо абсорбируется, особенно в ЖКТ. В крови связывается с белками и эритроцитами. При наружном и интравагинальном применении практически не всасывается. Может оказывать нефро- и гепатотоксическое действие.

Эхинокандины – это новая и высокоэффективная группа противогрибковых лекарственных средств [82]. В настоящее время в России используют три основных препарата этой группы: каспофунгин, микафунгин и анидулафунгин. К этим препаратам также развивается резистентность, однако она имеет иной механизм, отличный от известного для азолов [3]. Он связан с мутацией гена FKS1, который отвечает за синтез большой субъединицы (1,3)- β -D-глюкансинтазы [3]. Тематические исследования показали, что причиной возникновения устойчивости грибов к эхинокандинам является избыточная экспрессия белков-насосов, а также изменение или избыточная экспрессия генов ERG3 и ERG11 [108].

Представленные данные демонстрируют необходимость дальнейшего изучения эффективности различных схем лечения фунгицидными препаратами на фоне иммуносупрессии, в частности у пациентов с ВИЧ.

1.4 Антимикотикорезистентность *Candida spp.*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов к фунгицидным препаратам используемым в настоящее время.

Основной проблемой лечения кандидоза является растущее в последнее время число антимикотикорезистентных штаммов *Candida. spp.*

Первые упоминания о появлении устойчивости *Candida spp.* к группе азоловых противогрибковых препаратов появились еще в 90-х годах у ВИЧ-инфицированных пациентов с сопутствующим инвазивным кандидозом [46].

Оксман и соавторы при исследовании инвазивного кандидоза в двух многопрофильных центрах в США обнаружили, что около 19% *Candida spp.* были устойчивы к флуконазолу, причем каждый третий штамм имел приобретенную устойчивость [59]. Большинство исследователей считает, что на сегодняшний день одной из ведущих причин упорного рецидивирующего течения кандидоза является именно селекция в макроорганизме резистентных штаммов *Candida spp.* Это обуславливает трудности подбора противогрибковой терапии [65, 143].

Устойчивость грибов к действию антимикотиков может быть, как природной, так и приобретенной, которая формируется в процессе лечения микозов. К механизмам природной устойчивости относится, в первую очередь, отсутствие мишени действия противогрибкового препарата. Механизмы приобретенной устойчивости включают в себя мутации, которые впоследствии приводят к появлению новых штаммов грибов, чувствительность которых к антимикотикам заметно снижается. Данному механизму зачастую способствует длительное лечение.

Механизмы формирования антимикотикорезистентности грибов в значительной степени зависят от группы применяемых препаратов. Резистентность грибов к полиеновым антибиотикам развивается очень медленно и обусловлена рядом сложных генетических мутаций, которые в конечном итоге приводят к изменению биосинтеза компонентов мембраны [42, 94, 98]. В настоящее время механизмы устойчивости грибов к полиенам изучены недостаточно, однако имеющиеся данные позволяют предполагать, что резистентность связана с уменьшением количества эргостерола в мембране и увеличением количества его аналогов у устойчивых штаммов [140].

Устойчивость *C. albicans* к имидазолам и триазолам связана с накоплением мутаций гена ERG11, кодирующего стерол-14-деметилазу [20, 100]. В результате ген цитохрома перестает связываться с азолами, но остается доступным для естественного субстрата – ланостерола. При этом перекрестная устойчивость развивается ко всем азолам.

К причинам антимикотикорезистентности дрожжевых грибов можно

отнести формирование биопленки, образование которой происходит в несколько этапов [81]. В условиях снижения защитных механизмов организма первоначально дрожжевые грибы прикрепляются и колонизируются на поверхности слизистой оболочки. Затем происходит их разрастание и распространение, что позволяет грибам формировать микроколонии в базальных слоях слизистых оболочек. Потом идет формирование и рост псевдогиф и обширных гиф, а также продукция компонентов внеклеточного матрикса, и только после этого происходит диссеминация дрожжевых клеток от биопленки и образование новых сайтов. Биопленка многократно снижает эффективность лечения кандидоза, в зависимости от степени ее зрелости [5, 43, 52, 88].

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее частым возбудителем орофарингеального кандидоза является *C. albicans*, однако у 10-33% больных выделяются штаммы, не принадлежащие к этому виду [14, 48, 61, 108]. Non-albicans виды обнаруживаются, главным образом, от больных с низким уровнем CD4+ лимфоцитов, а также от больных интенсивно леченных азоловыми препаратами ранее [4].

Следует отметить, что чувствительность грибов рода *Candida* к имеющимся в антимикотикам достаточно хорошо предсказуема на основе видовой идентификации возбудителя [39, 66, 141].

Тем не менее, некоторые штаммы не соответствуют данным правилам. Например, *C. albicans* в большинстве случаев чувствительна ко всем основным антимикотикам, однако резистентность данного вида *Candida* к азолам описана у штаммов, выделенных от большого количества пациентов с ВИЧ-инфекцией, страдающих рецидивирующим орофарингеальным кандидозом, а также от пациентов с тяжелыми формами инвазивного кандидоза [113, 129], а также от здоровых лиц [149]. В связи с этим определение чувствительности грибов *Candida* spp. к азолам все чаще используется для выбора тактики лечения пациентов с кандидозом, особенно в тех случаях, когда эмпирическая антимикотическая терапия оказалась неэффективной [7].

Также не следует забывать о том, что кандидозная инфекция зачастую

вызвана наличием одновременно разных штаммов (*C. albicans* в сочетании с другими), что затрудняет оценку *in vitro* чувствительности к лекарственным препаратам [104, 119, 127]. Большинство этих штаммов представлено *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, причем у детей доля видов, не относящихся к *C. albicans*, достигает 50%, а у взрослых, в среднем, до 87 % [73, 119].

В связи с довольно частым выявлением штаммов *Candida* spp., устойчивых к наиболее используемым лекарственным препаратам, возникает необходимость этиологического подбора последних. По данным исследования видового состава и чувствительности к антимикотикам *Candida* spp., выделенных у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, чувствительность к антимикотикам грибов *Candida* spp. частично предсказуема на основе видовой идентификации [141]. По мнению авторов, в большинстве ситуаций проведения видовой идентификации вместе с локальными данными по чувствительности возбудителей достаточно для выбора антимикотической терапии. Таким образом, целенаправленное определение чувствительности может быть необходимым для оптимизации терапии при недостаточном ответе к проводимой антифунгальной терапии [141].

По мнению некоторых зарубежных авторов [92], перед началом лечения необходимо тщательно анализировать чувствительность выделенных штаммов. В особенности это касается *C. albicans* - вида, у которого наиболее часто отмечается резистентность к антимикотикам [25]. В целях прогноза эффективности лечения кандидоза необходимо определение чувствительности каждого выделенного штамма к одной, заранее известной, концентрации антимикотика (метод Оддса) [10, 11]. Так, применение этого метода у ВИЧ-инфицированных лиц с орофарингеальным кандидозом при испытании на чувствительность к кетоконазолу помогло предсказать неэффективность данного препарата в 75% случаев [10, 11].

Наиболее часто используемыми препаратами для лечения орофарингеального кандидоза у ВИЧ-инфицированных являются флуконазол, итраконазол и кетаконазол. В связи с появлением резистентных к флуконазолу

штаммов *Candida* sp. у пациентов с ВИЧ-инфекцией [10, 31, 32, 53, 77] возникает проблема их эффективного лечения другими препаратами, одним из которых чаще всего является итраконазол. Однако установлено [106], что при лечении резистентного к флуконазолу кандидоза длительно и большими дозами итраконазола у пациентов могут выявляться штаммы, резистентные к обоим азолам; однако только 30% штаммов резистентных к флуконазолу оказались не чувствительны к итраконазолу. По данным другого исследования, среди штаммов, резистентных к флуконазолу, не было выявлено штаммов одновременно устойчивых к итраконазолу[10].

При лечении ВИЧ-инфицированных пациентов с орофарингеальным кандидозом наиболее эффективными оказались водные препараты итраконазола, чем капсульные[11], причем добавление циклодекстрана улучшало клинический эффект лечения итраконазолом.

В настоящее время для лечения флуконазол-резистентных форм кандидоза у ВИЧ-инфицированных больных предложен вориконазол, препарат из группы триазолов - успешно прошедший все этапы клинических испытаний [126].

Приведённые литературные данные свидетельствуют, что в большинстве ситуаций проведение видовой идентификации вместе с локальными данными по чувствительности возбудителей, необходимо для выбора антимикотической терапии. В тоже время в отечественной литературе мы не встретили данных основанных на клинико-лабораторных исследованиях, подтверждающих необходимость подобных исследований.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Лабораторные исследования осуществлялись на кафедрах инфекционных болезней, а также микробиологии, вирусологии, иммунологии Сеченовского университета. У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на использование данных лабораторных анализов в научных целях. Все исследования проведены с согласия Комитета по этике при ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 25.04.2014 г.) на основании требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» от июня 1964 г.

2.1 Общая характеристика обследуемых пациентов.

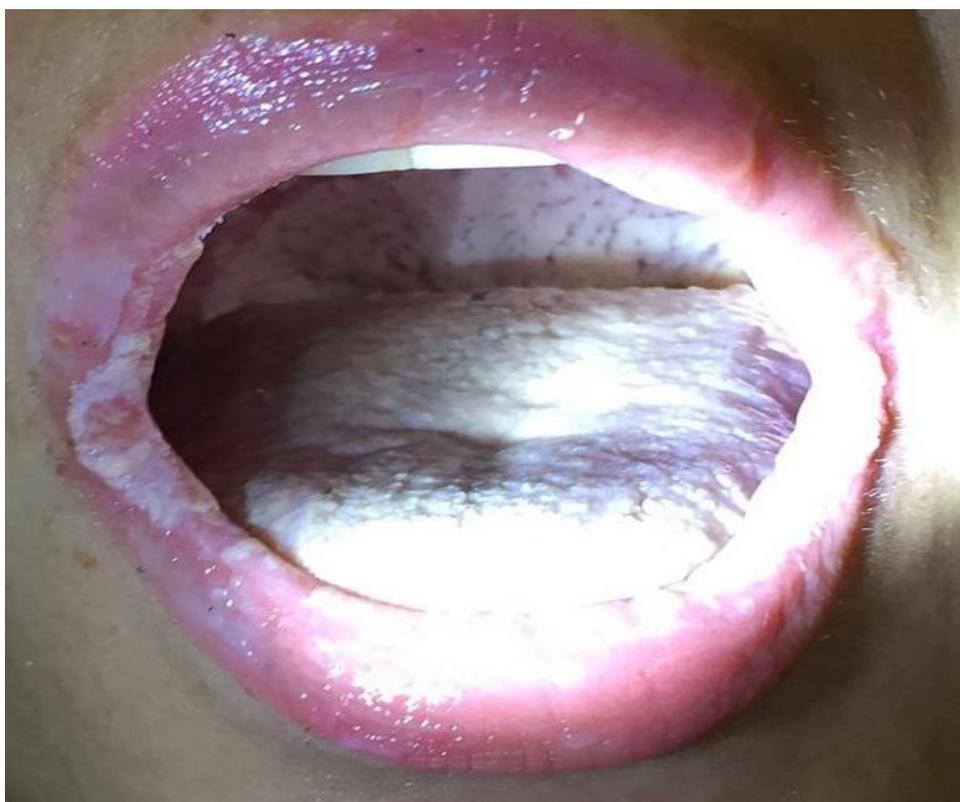
Дизайн обследования пациентов был основан на открытом, контролируемом, рандомизированном и проспективном исследовании.

Критериями включения пациентов в исследование являлись:

1. Письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании,
2. Наличие у пациента подтвержденного диагноза ВИЧ-инфекции на стадии 3 и 4 в соответствии с российской клинической классификацией ВИЧ-инфекции [120, 132] с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза [фотография 1, 2], (незначительная боль и жжение при приеме пищи, наличие творожистого, трудно снимающегося налета с обнажением гиперемизированной слизистой), по поводу которого пациенты не получали антимикотической терапии,
3. Возраст старше 18 лет.



Фотография 1. Клинические проявления кандидоза у обследуемых пациентов.



Фотография 2. Клинические проявления кандидоза у обследуемых пациентов.

У всех пациентов ВИЧ-инфекция была диагностирована на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждена обнаружением специфических антител/антигенов методом иммуноферментного анализа и лизантного иммунного блотинга (ИБ) к белкам вируса иммунодефицита человека (Profiblot 48 TECAN, АвтоБлот 3000).

Всего было обследовано 48 человек. В 2014г. в исследование было включено 19 пациентов, в 2017г.- 29 человек, из них 51% мужчин и 49% женщин (медиана возраста составила 38 лет). Возрастной состав представлен на рис.2. Возраст пациентов колебался от 20 до 69 лет, 65% составили лица от 20 до 40 лет, как у женщин, так и у мужчин преобладали лица молодого возраста, что отражено на рис.3. Срок наблюдения за пациентами, к моменту обследования составил в среднем 6 лет с колебаниями от 1 года до 18 лет.

Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено стандартное клинико-эпидемиологическое обследование (сбор анамнеза, оценка жалоб, данные физикального осмотра), лабораторные методы обследования (общеклинический и биохимический анализы крови, серологическое исследование для определения маркеров вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, определен иммунный статус пациентов (включая количество CD4 клеток/мкл, CD4%, CD8 клеток/мкл, CD8%, CD4/8), определение наличия и уровня РНК ВИЧ в сыворотке крови (анализатор для проведения ПЦР Abbott m2000rt 9K 1501).

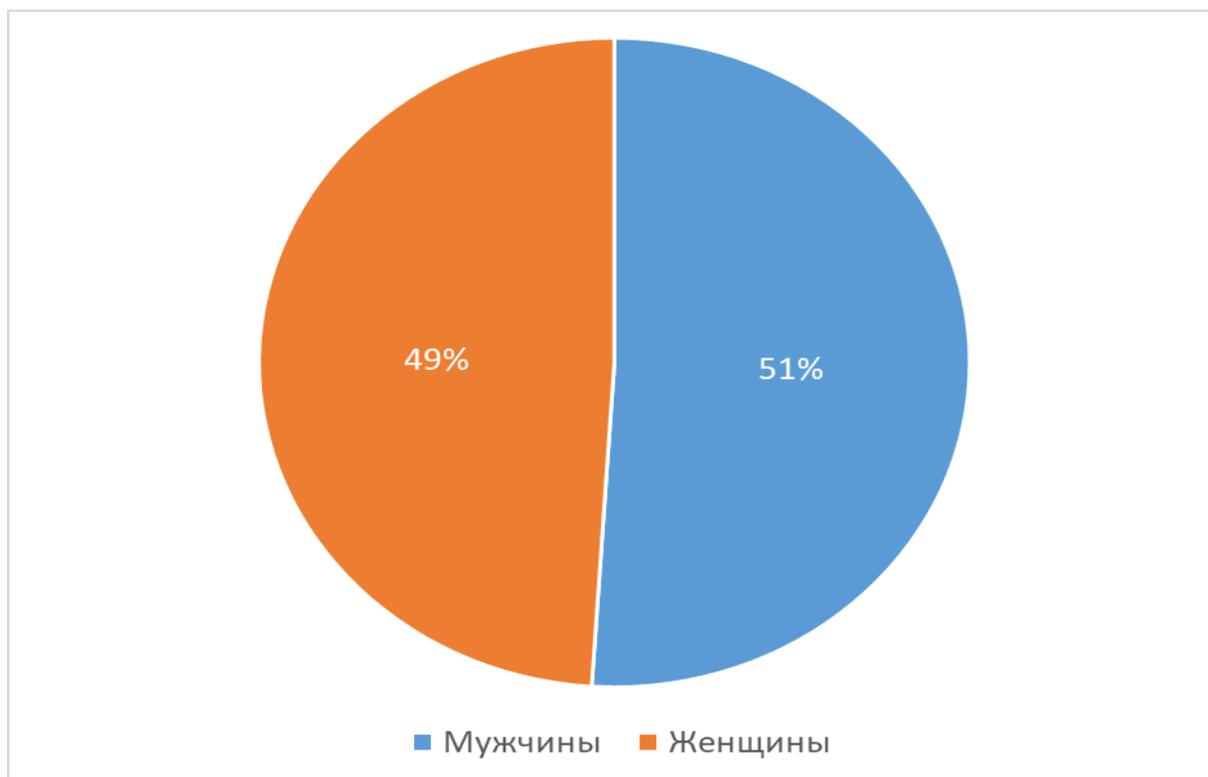


Рисунок 2. Соотношение мужчин и женщин, среди обследуемых пациентов.

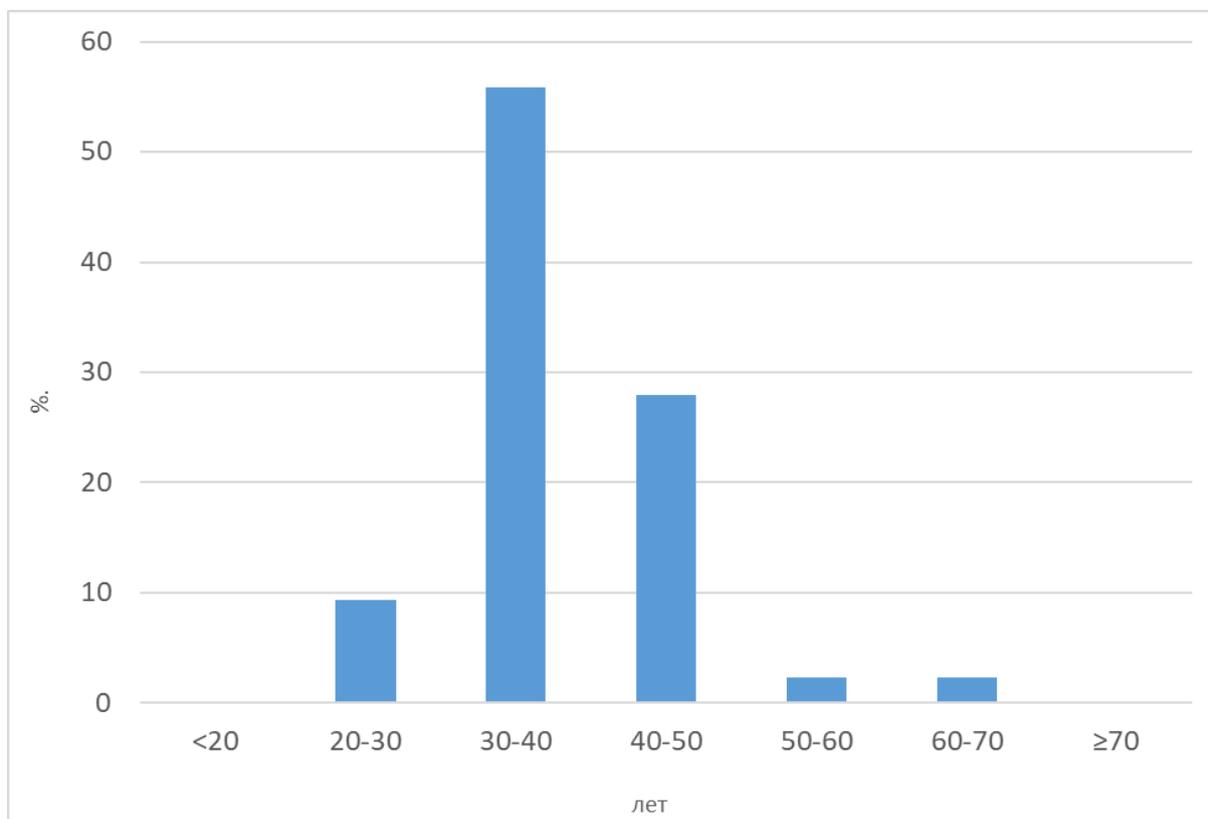


Рисунок 3. Распределение обследуемых пациентов по возрастным группам.

Перед началом АРТ у 39,9% больных количество CD4+-лимфоцитов было менее 200 клеток/мкл. Среднее количество CD4+-лимфоцитов на момент включения в исследование составило 265 клеток/мкл, из них данный показатель был менее 350 клеток/мкл у 77,8%, менее 50 клеток/мкл у 33,1% обследуемых пациентов. Показатель медианы количества CD4+- (153 клеток/мкл min 0 max 696) в 2017г. и 113 клеток/мкл (min 0 max 412) в 2015г., что является показателем гомогенности и сопоставимости двух групп обследуемых пациентов по выраженности иммуносупрессии. Распределение всех пациентов по количеству CD4+ отражено в рис.4А, пациентов из первой группы в рис. 4Б, пациентов из второй группы в рис. 4В.

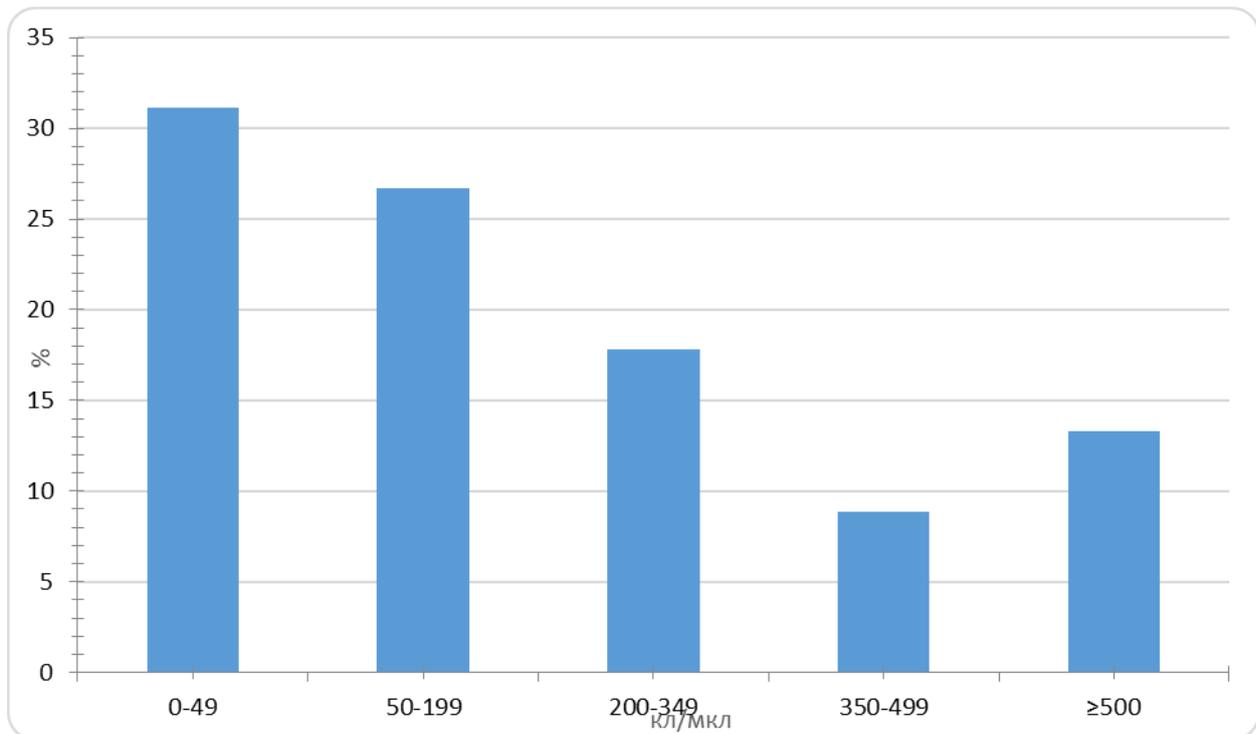


Рисунок 4А. Распределение всех пациентов в зависимости от уровня CD4+ лимфоцитов в периферической крови.

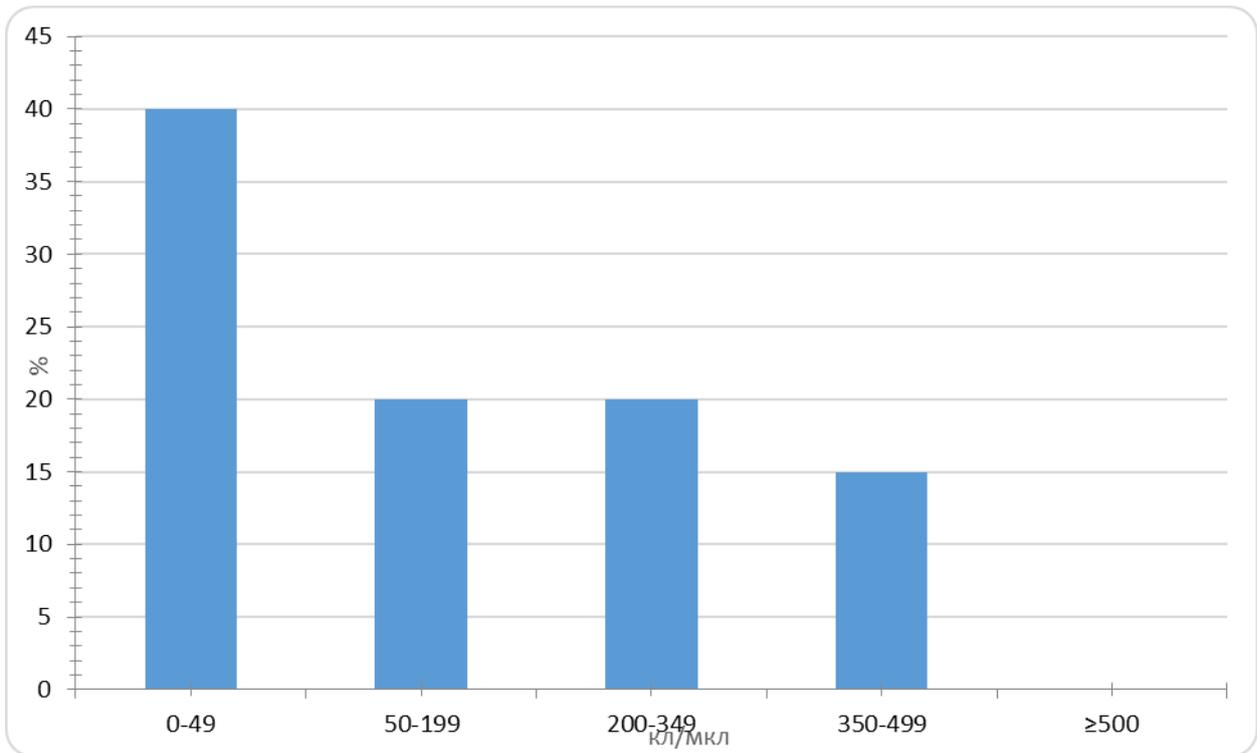


Рисунок 4Б. Распределение пациентов первой группы в зависимости от уровня CD4+ лимфоцитов в периферической крови.

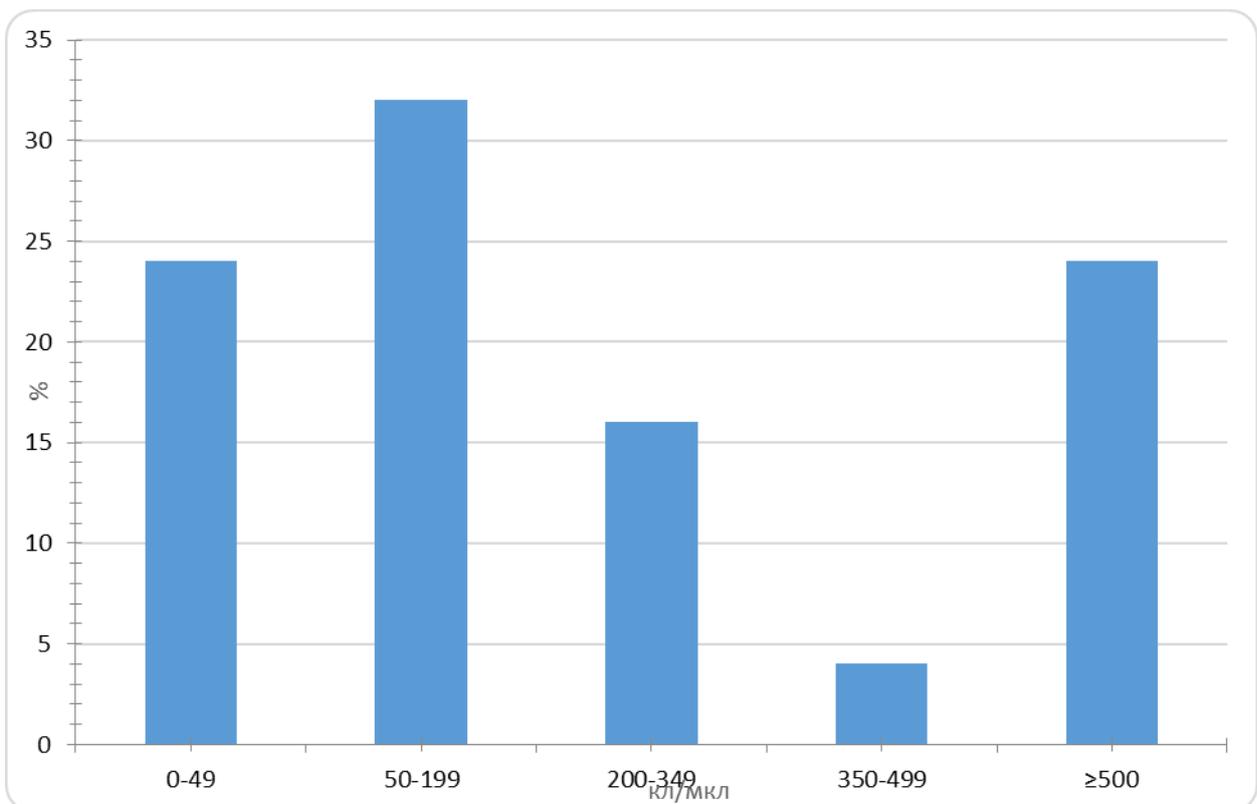


Рисунок 4В. Распределение пациентов первой группы в зависимости от уровня CD4+ лимфоцитов в периферической крови.

Одним из наиболее информативным показателем состояния иммунной системы у ВИЧ инфицированных пациентов считается иммунорегуляторный индекс.

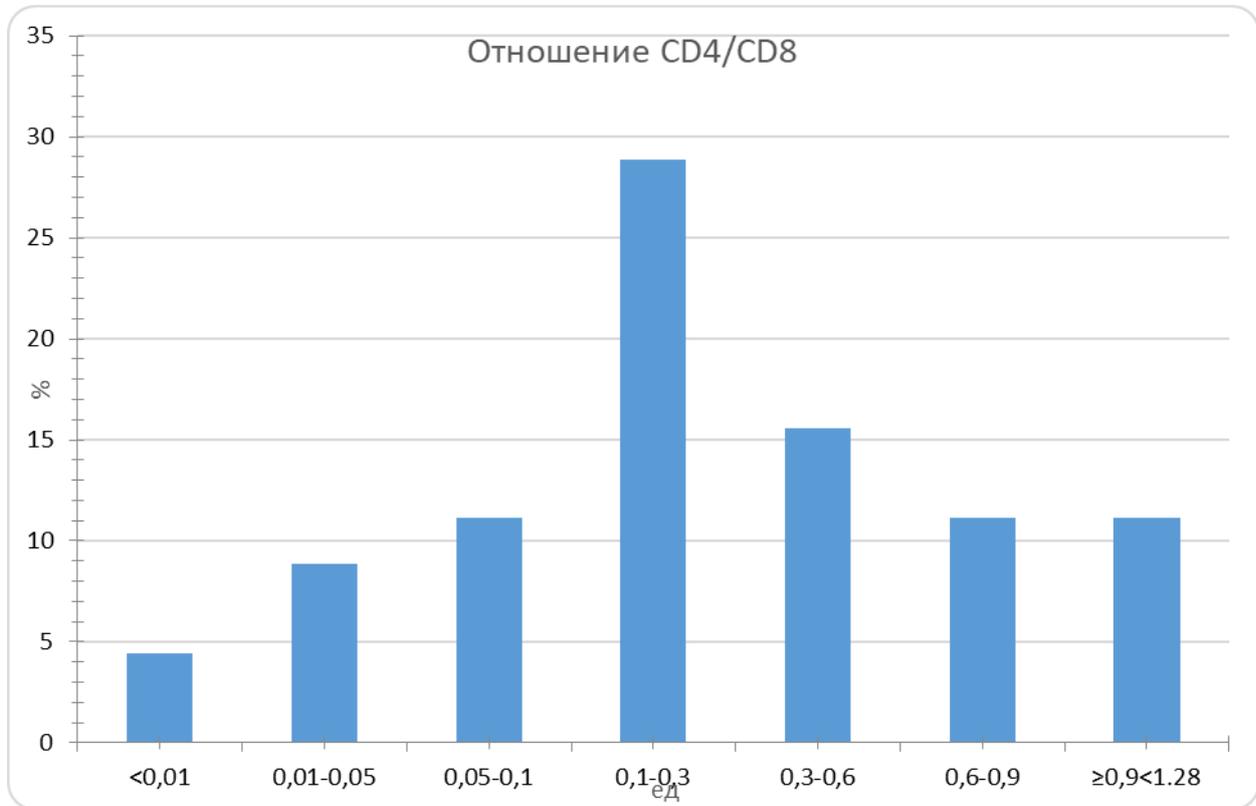


Рисунок 5. Показатели иммунорегуляторного индекса у обследуемых пациентов

На рисунке 5 продемонстрировано снижение у всех обследованных пациентов уровня иммунорегуляторного индекса $CD4/8$ менее 1,5, что является показателем высокого риска возникновения оппортунистических заболеваний и является критерием назначения антимикробных препаратов для их профилактики, а также является одним из показателей, необходимых для установления стадии ВИЧ-инфекции. Показатель медианы иммунорегуляторного индекса составил 0,175 (min 0 max 2,26) (со средним значением 0,399) в 2017г. и 0,23 (min 0 max 1,28) (со средним значением 0,318) в 2015г., что также является показателем однородности обследуемых пациентов в отношении выраженности иммуносупрессии.

В соответствии с общепринятыми критериями [135] (количество CD4+ и иммунорегуляторный индекс), принимая во внимание совокупность клинико-лабораторных данных, стадию ВИЧ-инфекции 3 (субклиническую) имели 2% пациентов; 4А -10% пациентов, стадию 4Б -8% и подавляющее большинство – стадия 4В-80% [рис.6] (79% в 2015г. [рис.7] , 80% в 2017г [рис.8]).

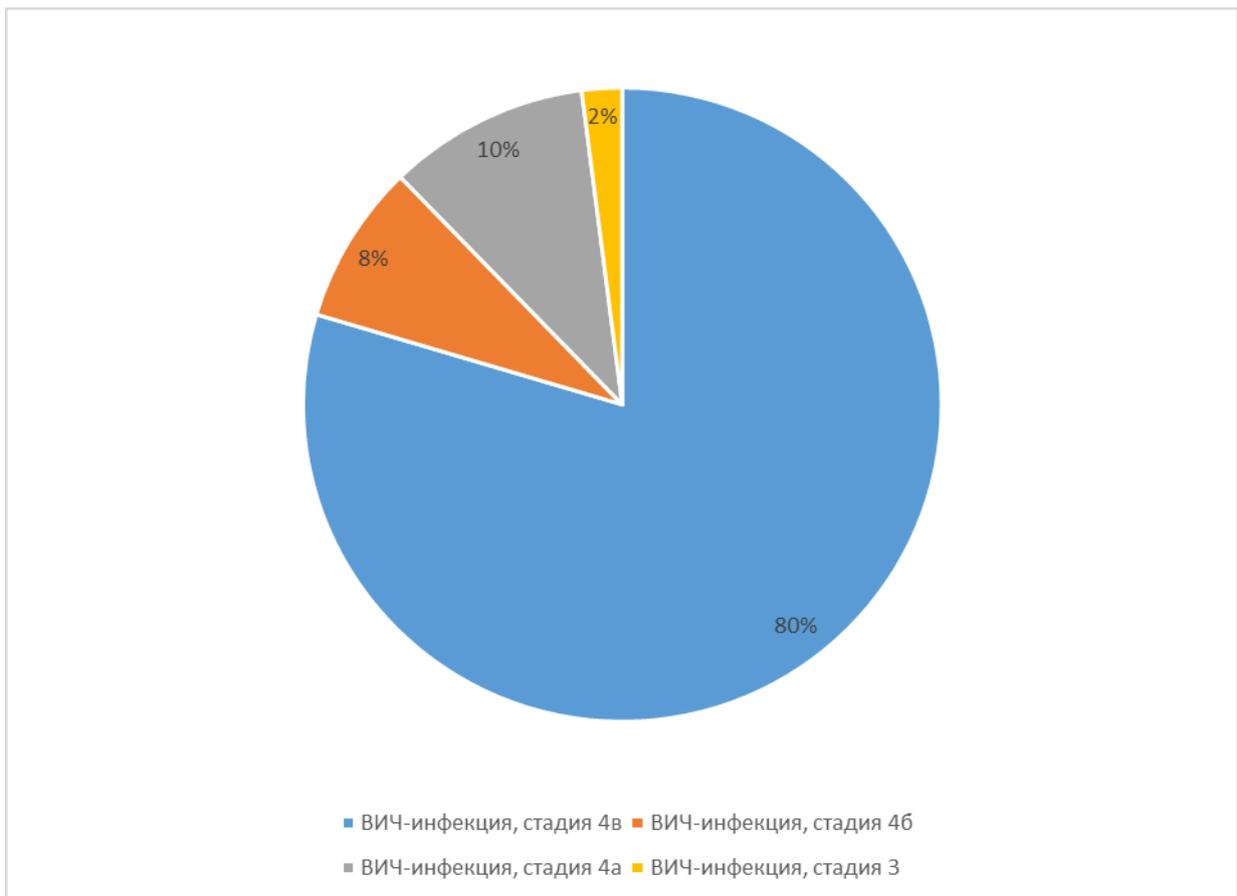


Рисунок 6. Распределение ВИЧ-инфицированных пациентов по стадиям заболевания.

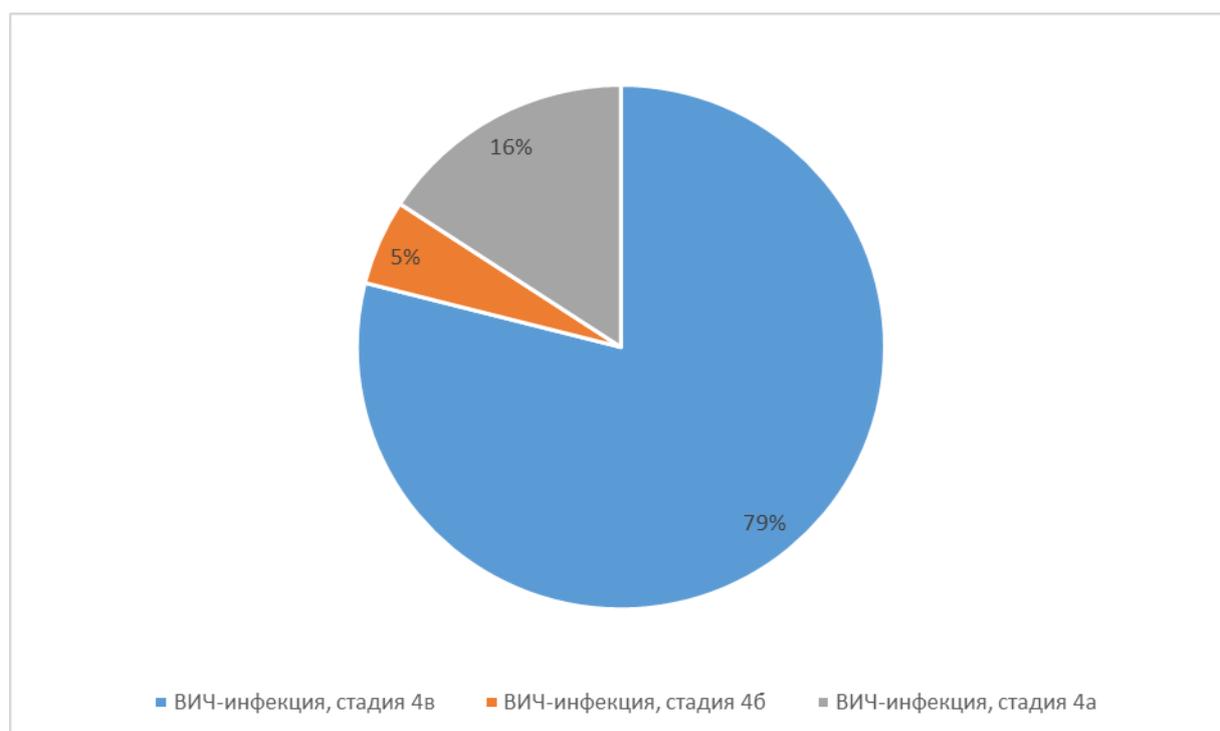


Рисунок 7. Распределение ВИЧ-инфицированных пациентов по стадиям заболевания в 2015г.

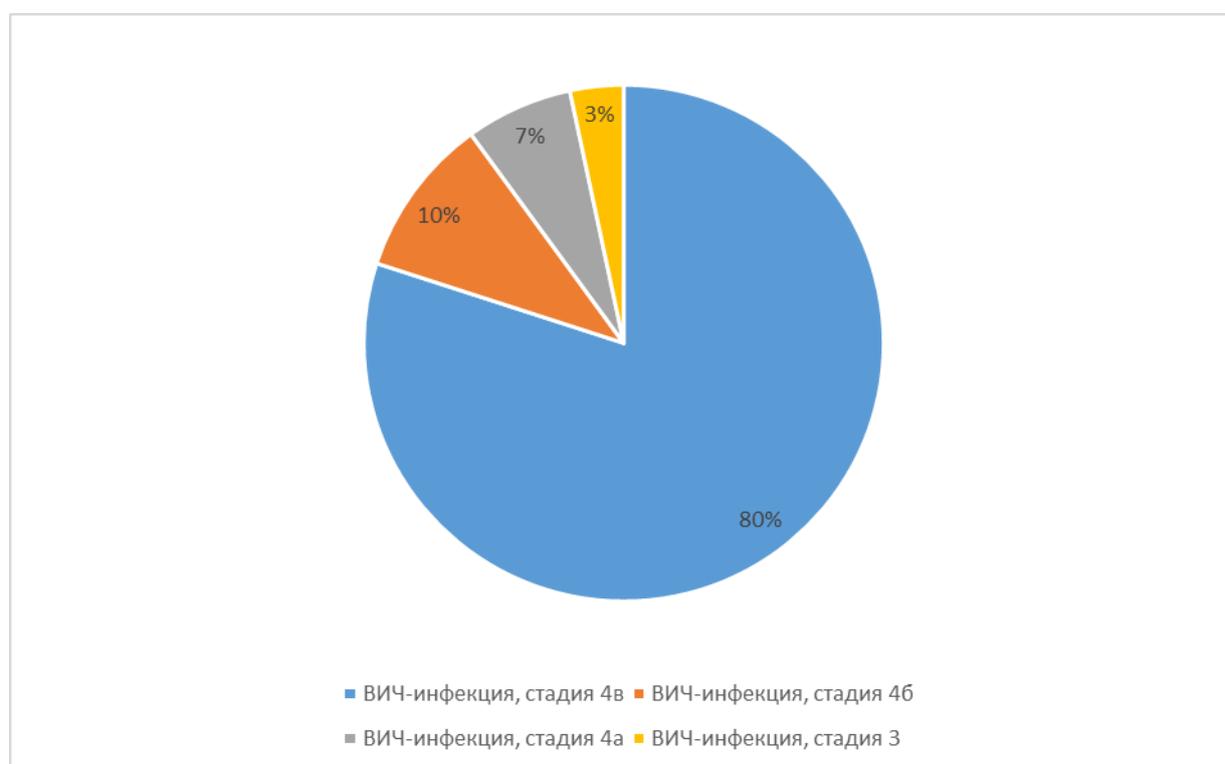


Рисунок 8. Стадии ВИЧ-инфекции у обследуемых пациентов в 2017г.

Все пациенты, включенные в исследование, исходно были обследованы на

наличие в крови маркеров вирусных гепатитов с помощью коммерческих тест-систем с использованием ИФА (анализатор иммуноферментный автоматический "Еволис") и определения anti-HBcore IgM, IgG, anti-HBs, antiHBe, anti-HCV IgM, IgG, anti-HDV IgM, IgG.

ХВГС был диагностирован у 65% пациентов, включенных в исследование, ХВГВ - у 4%, ХВГВ+ХВГС у 2%. Распределение пациентов в зависимости от этиологии вирусных гепатитов представлено на рис. 9.

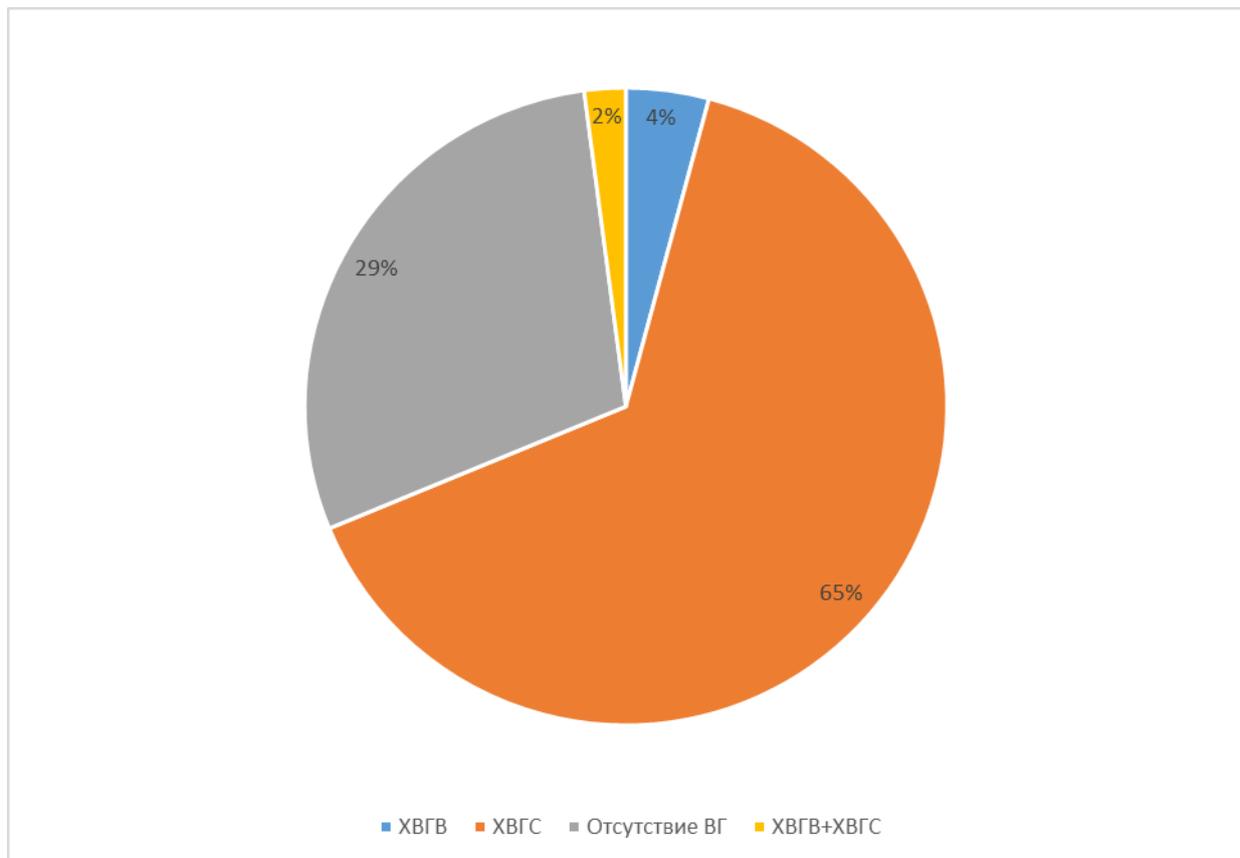


Рисунок 9. Распределение пациентов в зависимости от этиологии вирусных гепатитов

Были использованы стандартные и дополнительные методы обследования ВИЧ-инфицированных пациентов, согласно приказу Минздравсоцразвития РФ от 9 июля 2007 года № 474.

В частности, при обследовании пациентов были диагностированы заболевания, вызванные *Candida spp.* различной локализации. Кандидозный

эзофагит был выявлен у 63% пациентов, грибковый колит у 2%, себорейный дерматит у 12% [рис.10].

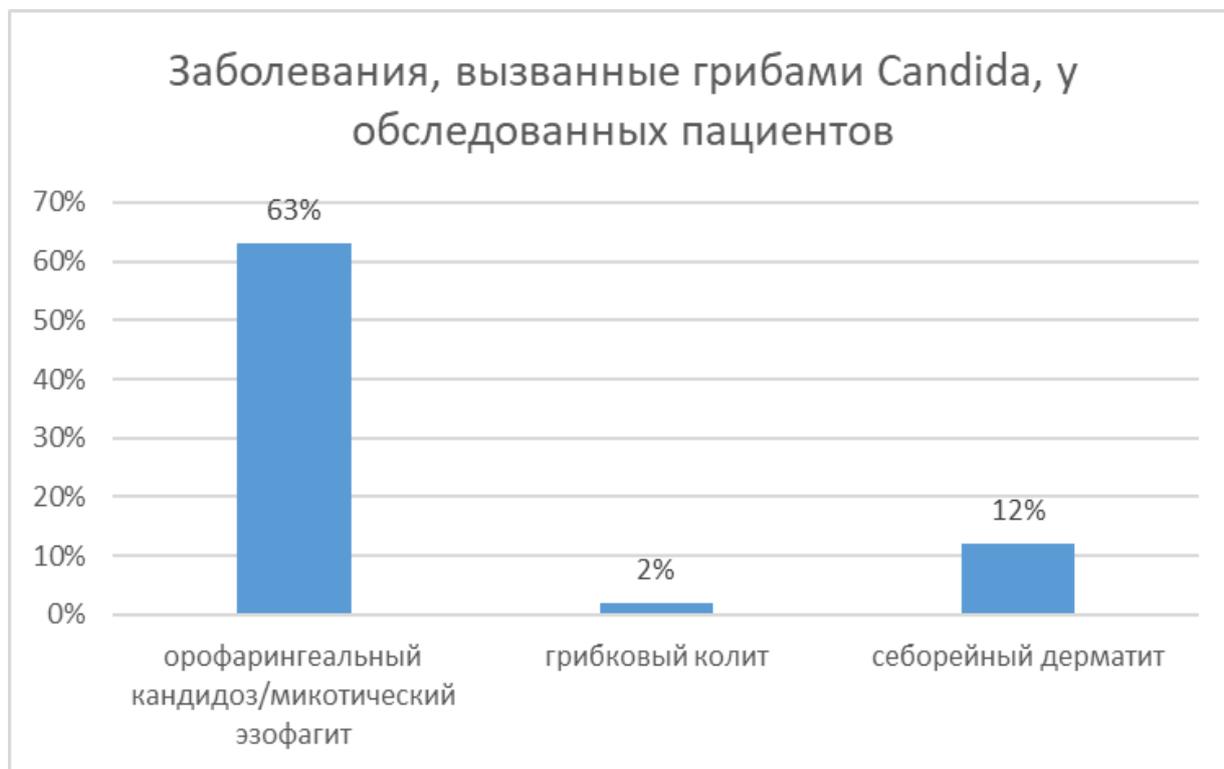


Рисунок 10. Распределение ВИЧ инфицированных пациентов в соответствии с наличием кандидозного эзофагита, грибкового колита, себорейного дерматита.

Из включённых в исследование пациентов с ВИЧ, у 78% были выполнены следующие исследования:

Диагностика оппортунистических инфекций методом ПЦР на основании исследования мокроты, включая ВЭБ ЦМВ, ВГ 6 типа, ВПГ1,2 типа, МБТ, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* (прибор для преаналитической подготовки ПЦР-анализов "Кобас АмплиПреп" Кобас АмплиПреп, анализатор "Кобас ТакМан 48", прибор для преаналитической подготовки ПЦР-анализов "Кобас АмплиПреп", анализатор для проведения ПЦР Abbott m2000rt 9K 1501, прибор m2000 04J72-01 Abbott Molecular). Полученные результаты отражены на рисунке 11. Таким образом, *C. Albicans* была обнаружена у 34,69%, *C. glabrata* у 16,32%, *C. krusei* у 8,16% пациентов, по данным

лаборатории КИБ №2 [рис.11].

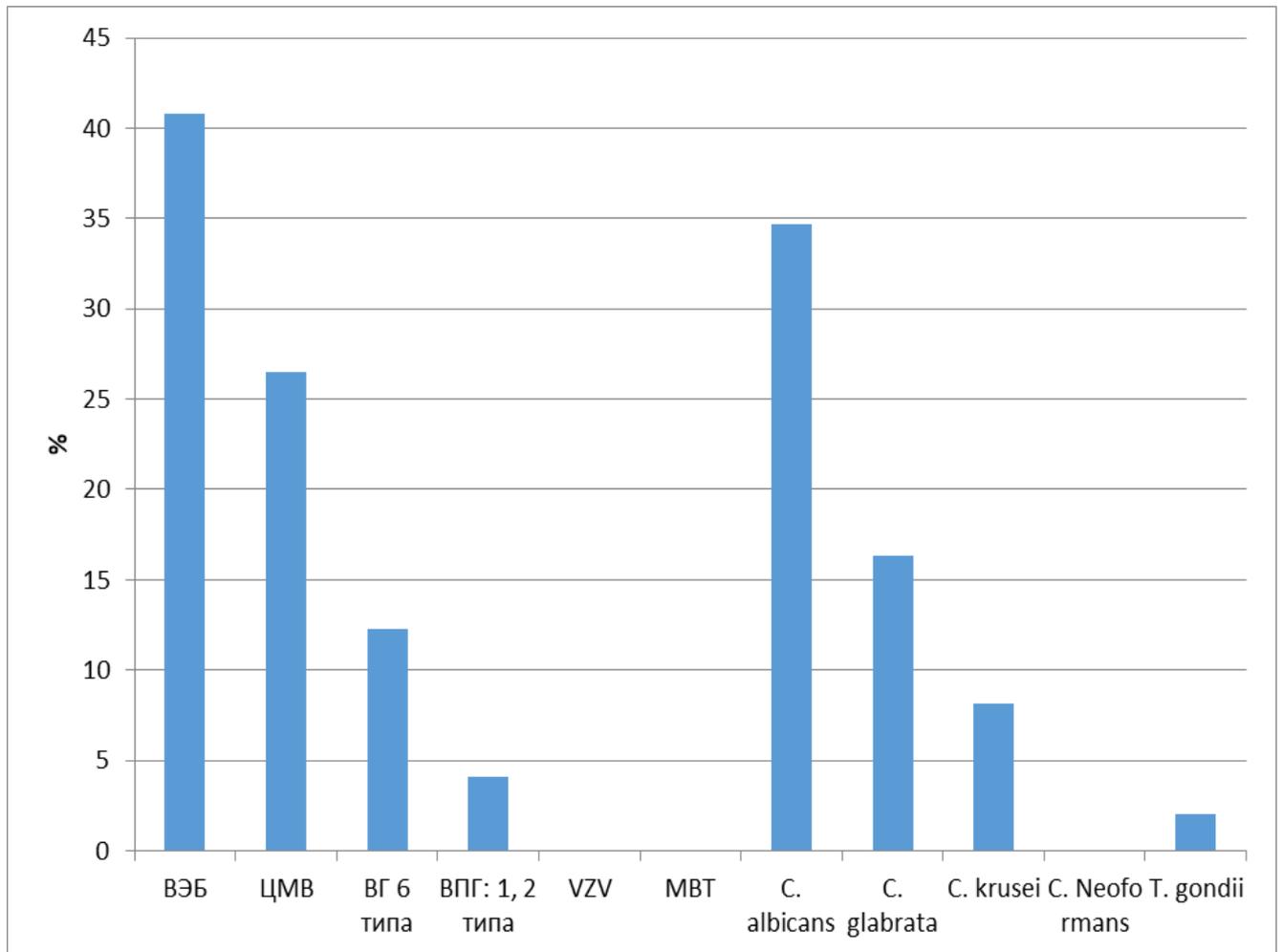


Рисунок 11. Частота выявления генетического материала возбудителей оппортунистических инфекций у обследованных пациентов с ВИЧ инфекцией.

Анализ полученных результатов выявил преимущественное присутствие ВЭБ, ЦМВ, *C. Albicans*, *C. Glabrata* в различных сочетаниях [диаграмма 1], что соответствует литературным данным по выявлению оппортунистических инфекций у ВИЧ инфицированных пациентов в зависимости от числа CD4+. Наличие ВЭБ инфекции и кандидоза у вошедших в исследование пациентов коррелировало с уровнем CD4 <200 кл.

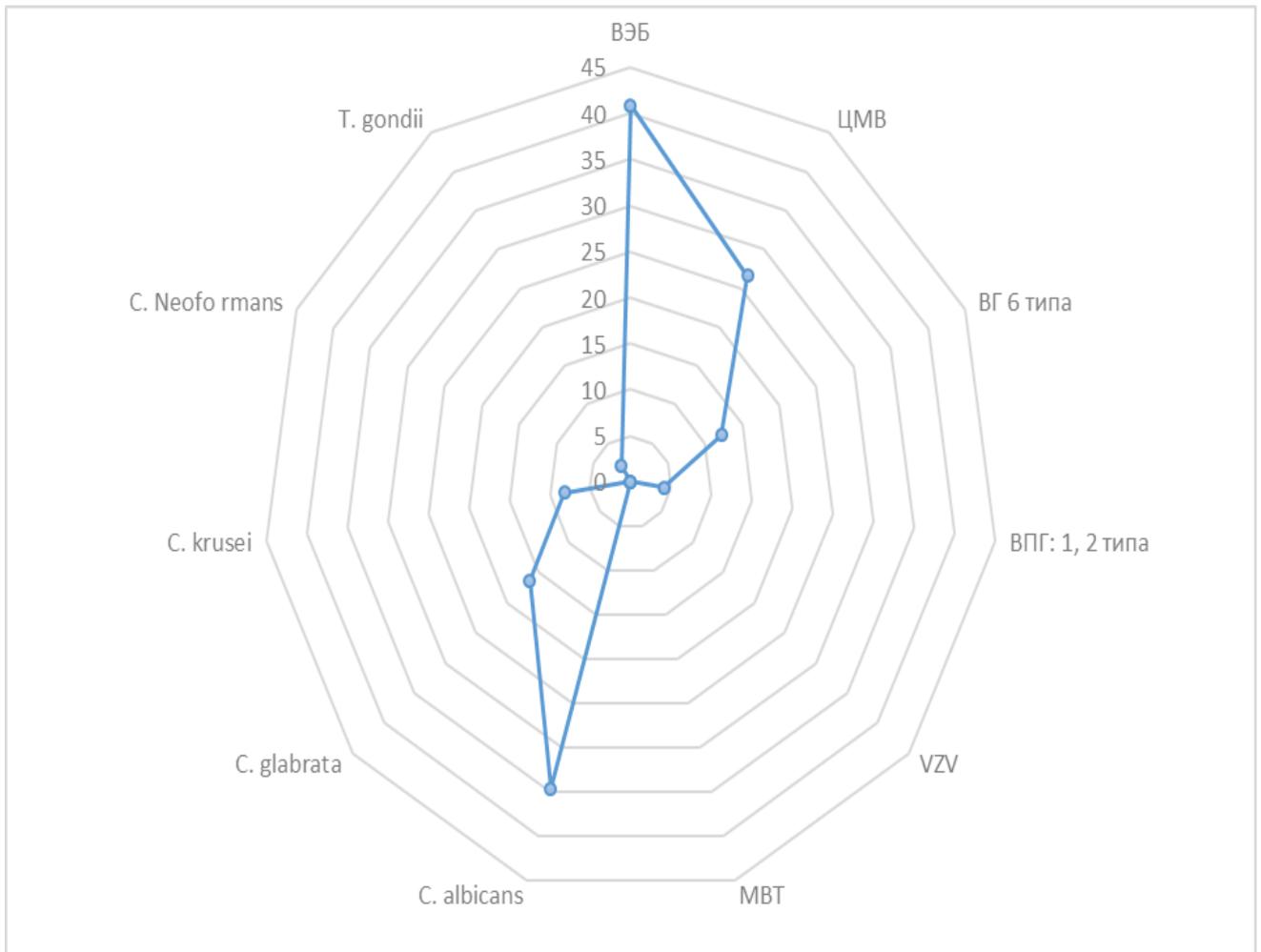


Диаграмма 1. Частота выявления различных сочетаний генетического материала возбудителей оппортунистических инфекций у обследованных пациентов с ВИЧ инфекцией.

Рентгенографическое исследование органов грудной клетки выявило пневмонию у 56% обследованных пациентов [рис. 12], но только у 8% была подтверждена методом ПЦР пневмоцистная пневмония (прибор m2000 04J72-01 Abbott Molecular). Туберкулез не был установлен ни у одного из пациентов, вошедших в исследование.

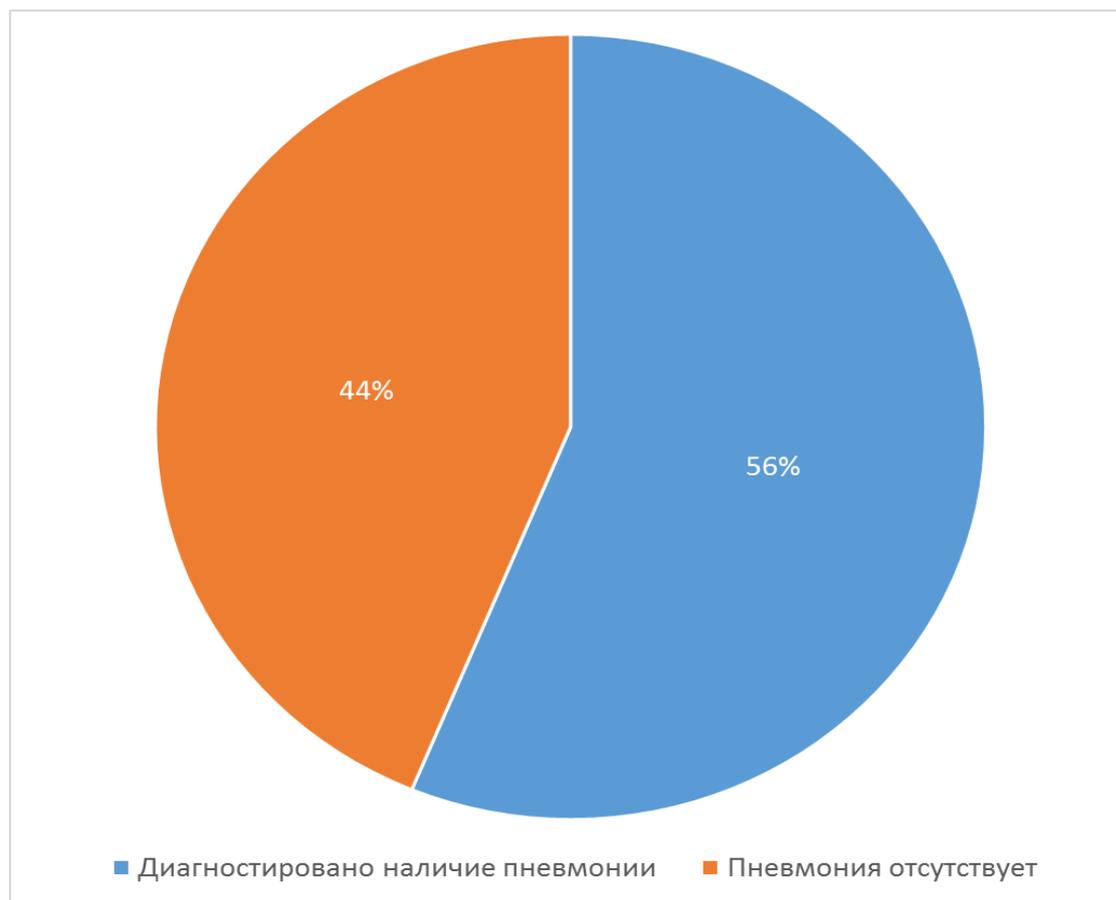


Рисунок 12. Распределение ВИЧ инфицированных пациентов в зависимости от наличия или отсутствия подтверждённой пневмонии.

Биохимический анализ крови (10 параметров: общий белок, альбумин, билирубин общий, АЛТ, АСТ, глюкоза, мочеви́на, креатинин, щелочная фосфатаза, амилаза) проводили на автоматическом биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000 Abbott. Отклонение от нормы установлено по следующим параметрам: превышение нормальных показателей общего билирубина у 24,48%, АЛТ 40,81%, АСТ 57,14%, глюкозы у 18,36%, мочеви́на у 14,28%, креатинина у 12,24%, щелочной фосфатазы у 2,04%, амилазы у 22,45% обследуемых пациентов [рис. 13]. Преобладающими отклонениями являются увеличение активности АЛТ, АСТ, что может быть обусловлено наличием у большинства обследованных пациентов хронических гепатитов различной этиологии.

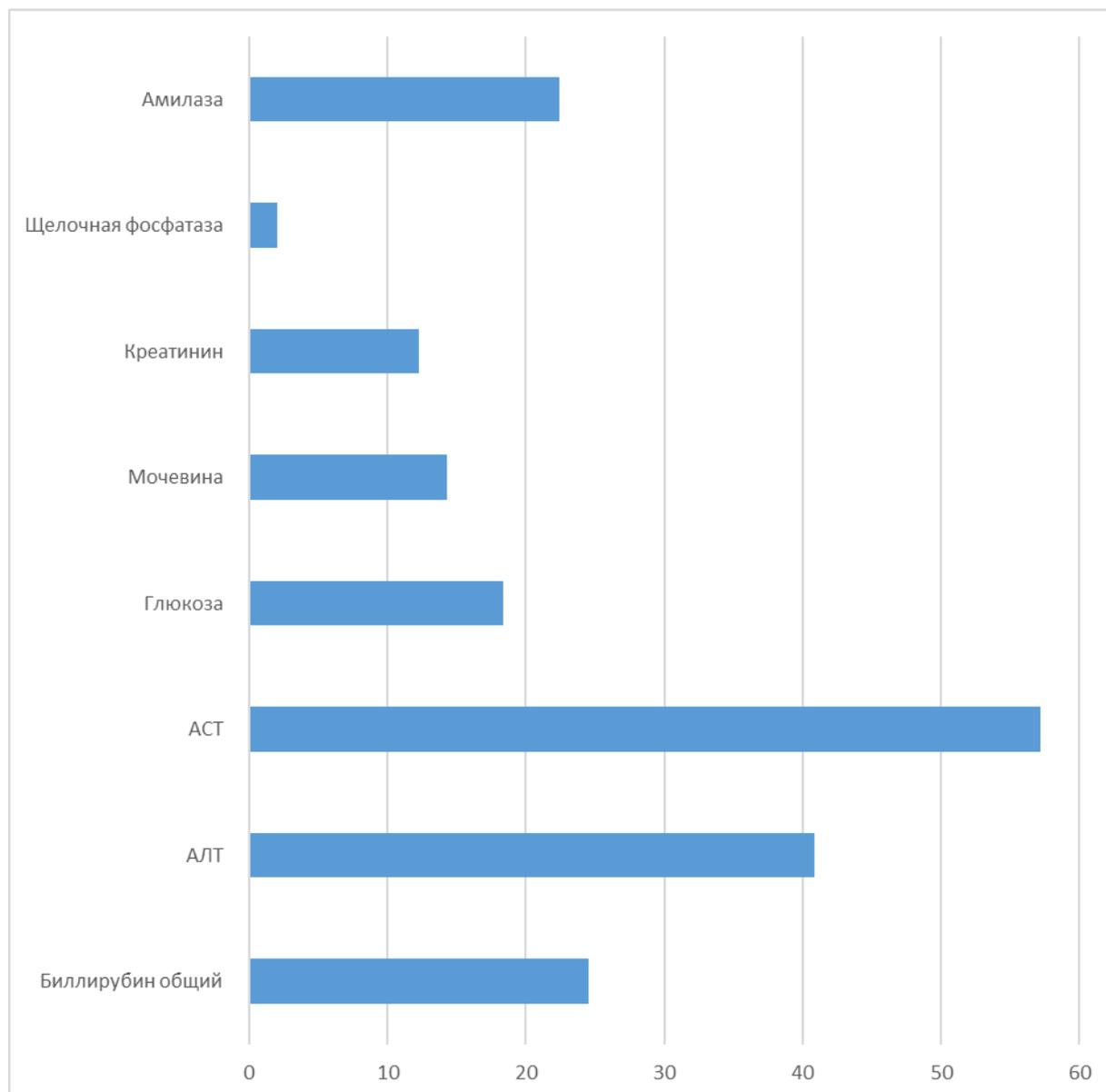


Рисунок 13. Отклонение от нормы различных показателей биохимического анализа крови у обследованных пациентов.

23 из 48 пациентов была назначена АРТ в соответствии с российскими рекомендациями (Покровский В.В. и соавт., 2002-2012), что нашло отражение в повышении амилазы и глюкозы в связи с наличием реактивного панкреатита, ассоциированного с противовирусными препаратами.

Приведённые клиничко-лабораторные данные по обследованным пациентам с ВИЧ, подтверждают однородность и сопоставимость по основным показателям пациентов первой группы (исследование 2015г.) пациентам второй группы (исследование 2017г.).

2.2 Характеристика специальных методов лабораторного исследования мазков из ротоглотки и образцов фекалий на *Candida spp.* у обследованных ВИЧ-инфицированных пациентов.

2.2.1 Лабораторные методы исследования культур *Candida spp.*, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Для выделения культур *Candida spp.*, образцы фекалий и мазков из ротоглотки, полученные у ВИЧ-инфицированных пациентов засеивали на кровяной агар при помощи тампона, материалы инкубировались в термостате 24 часа, при температуре 37 °С.

После данного этапа производили, пересев на селективную среду Сабуро-2 при помощи микробиологической петли и инкубировали в термостате на 24 часа, при температуре 37 °С. Идентификация проводилась с помощью различных методов, в том числе в целях их сравнения. Производилась микроскопия мазков из культур, окрашенных по Граму. Была произведена оценка чувствительности к антимикотикам диско-диффузионным методом. Также были проведены биохимические исследования с помощью коммерческих тест-систем (Remel, Erba Lachema). Как контрольный метод видовой идентификации использовалась мультиплексная ПЦР с видоспецифическими праймерами (Amplisens).

В дальнейшем, полученные изоляты культивировались на КАНДИДА-ХРОМ АГАРЕ для дальнейшей дифференцировки, после инкубирования в термостате 24 часа, при температуре 37 °С и производилась ориентировочная дифференцировка грибов по цвету колоний, согласно инструкции к дифференциальной среде. Полученные данные заносились в лабораторный журнал.

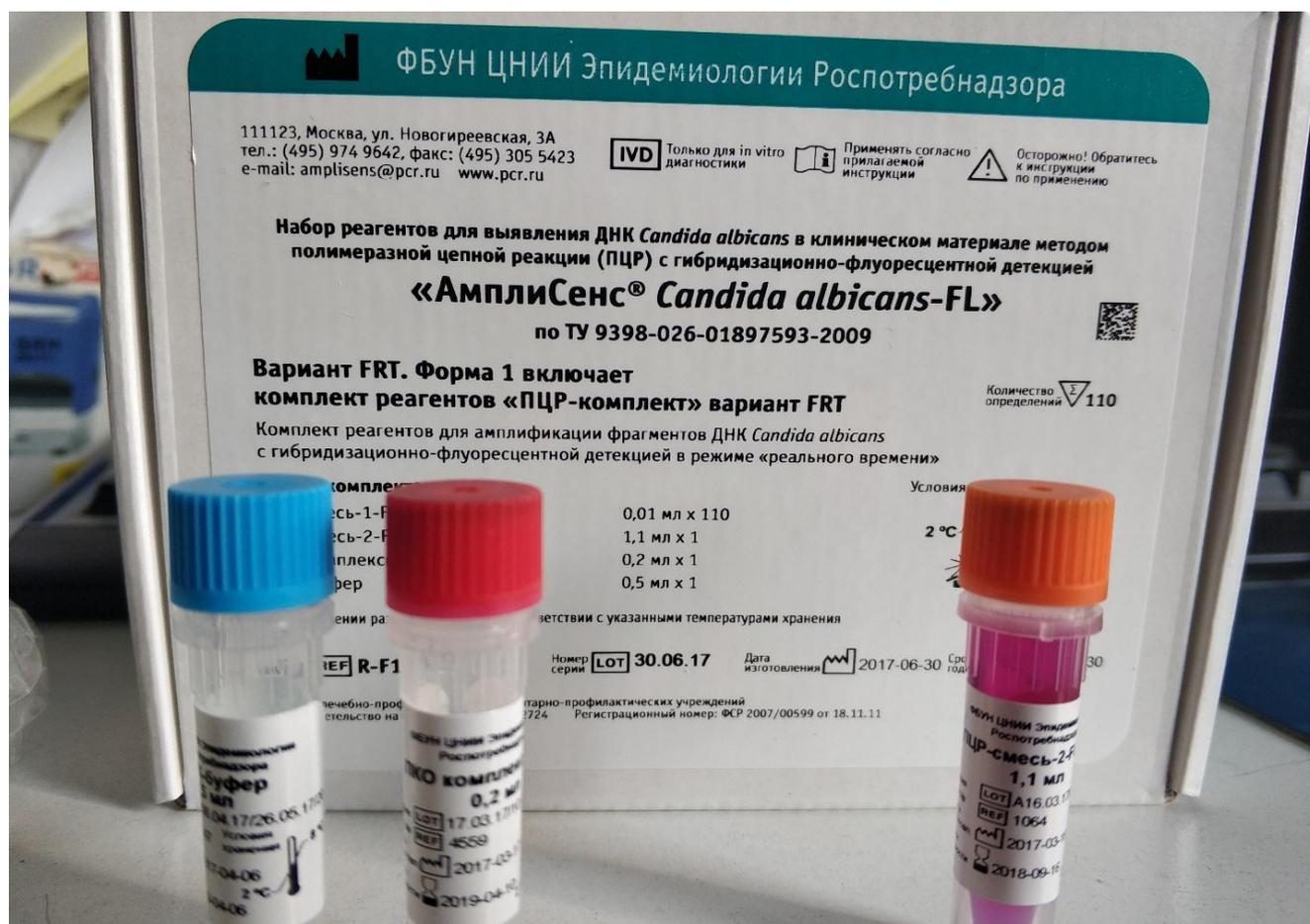
Также производилась постановка ПЦР-РВ для окончательной дифференцировки штаммов *Candida* (Amplisens). Полученные данные заносились в лабораторный журнал. Выделенные чистые культуры *Candida spp.* хранили на скошенном агаре Сабуро в пробирках при температуре 4 – 6 °С.

2.2.2 Идентификация *Candida spp.* методом ПЦР-РВ, «АмплиСенс *C. albicans* / *C. glabrata* / *C. krusei*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL»

Для выделения ДНК использовали двухдневные культуры *Candida spp.*

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

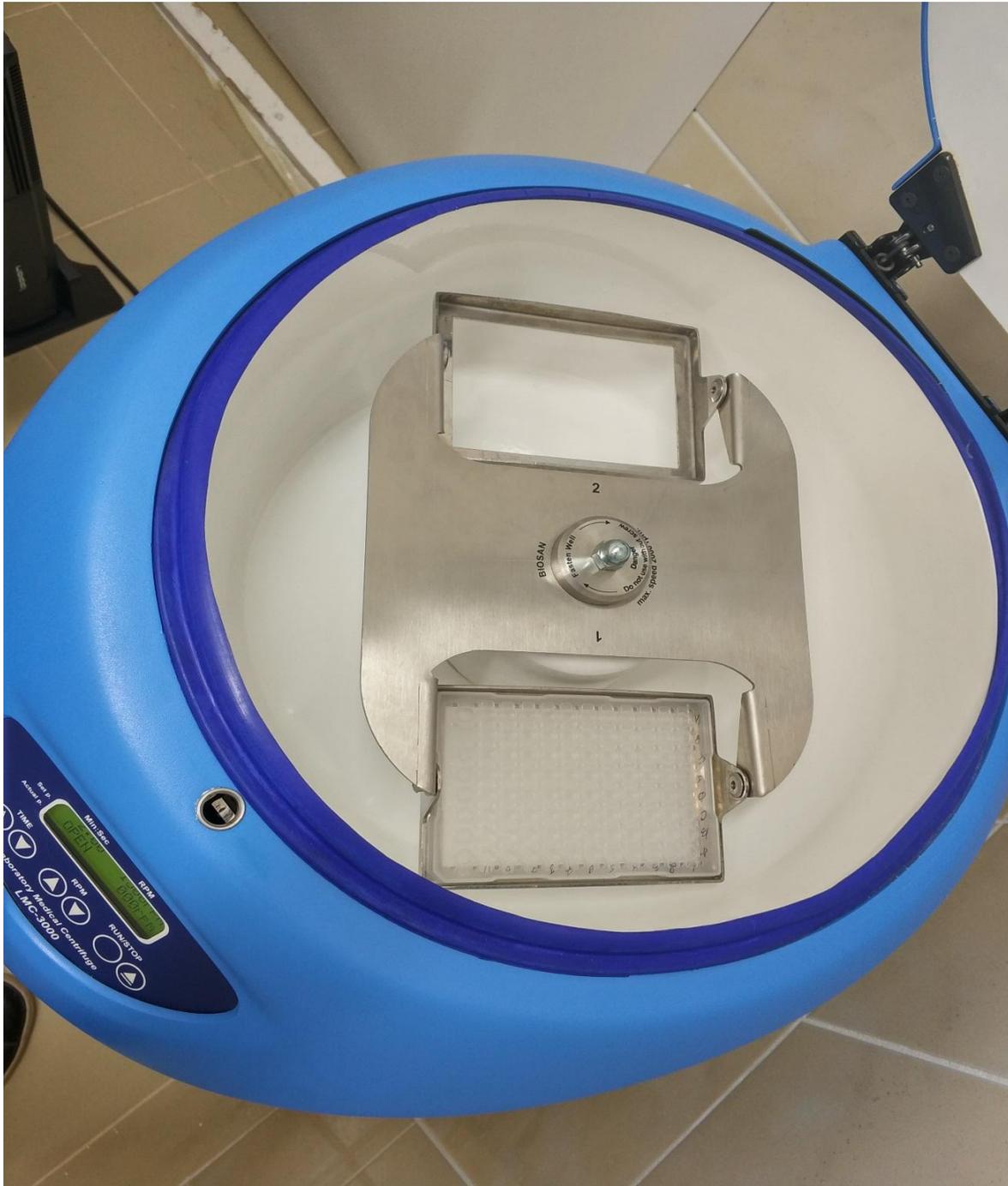
1. Для экстракции (выделения) ДНК использовались наборы реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора [фотография 3], в соответствии с инструкцией к используемому набору. Экстракция ДНК из каждого клинического образца проводилась в присутствии внутреннего контрольного образца – ВКО-FL. При использовании форм выпуска набора 4-7 для экстракции ДНК использовался входящий в набор комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ».



Фотография 3. Биохимическая тест-система для видовой идентификации дрожжеподобных грибов Remel.

2. Амплификация проводилась с флуоресцентной детекцией в режиме

«реального времени» с помощью комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F [фотография 4, 5, 6].



Фотография 4. Центрифуга для планшета для ПЦР.

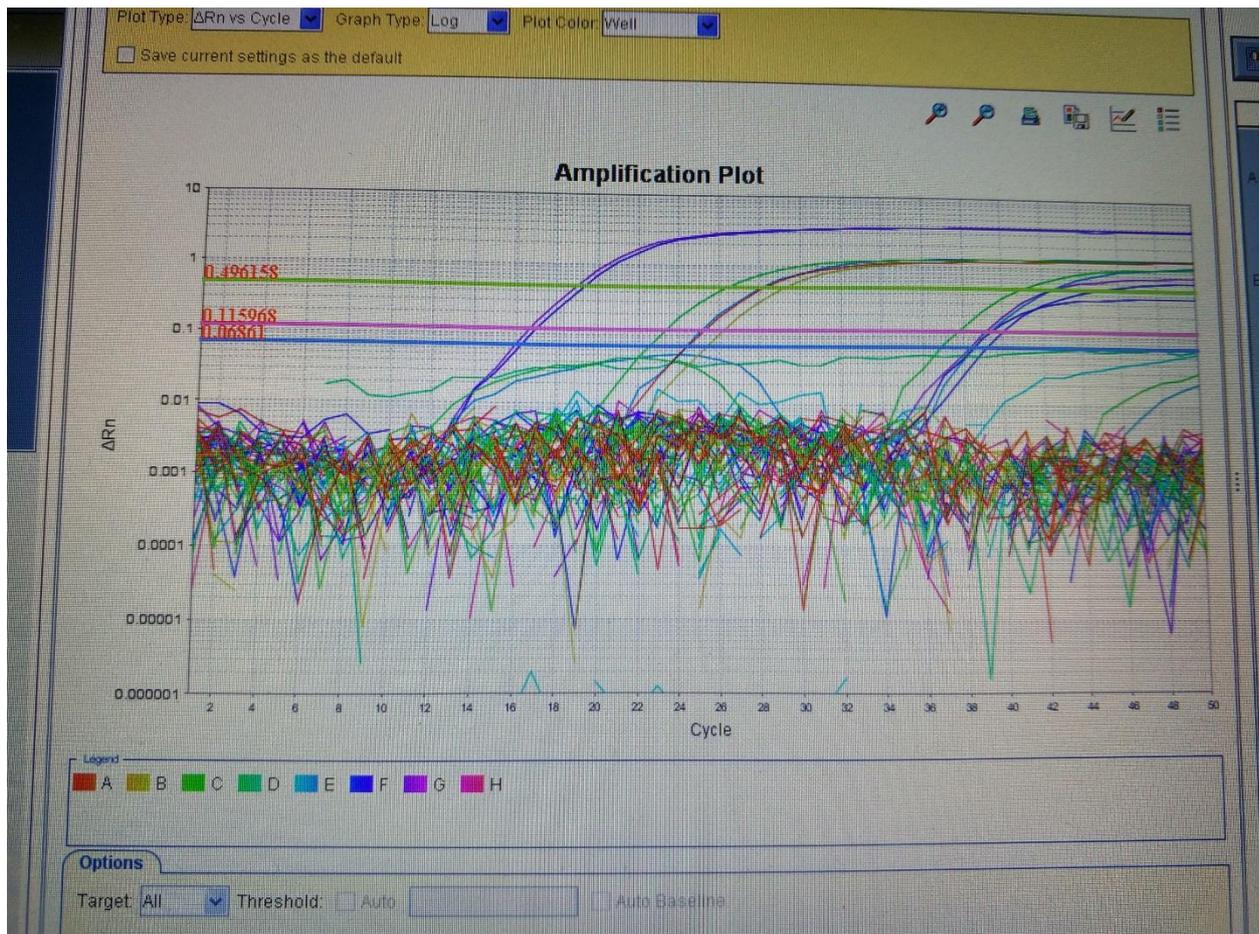


Фотография 5. Приготовление рабочей смеси для проведения ПЦР для выделения ДНК *Candida*.



Фотография 6. Внесение образцов для проведения ПЦР.

3. Результаты интерпретировались на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяло наличием (или отсутствием) для данной пробы ДНК значения порогового цикла «Сt» в соответствующей графе в таблице результатов [фотография 7].



Фотография 7. График с результатами ПЦР.

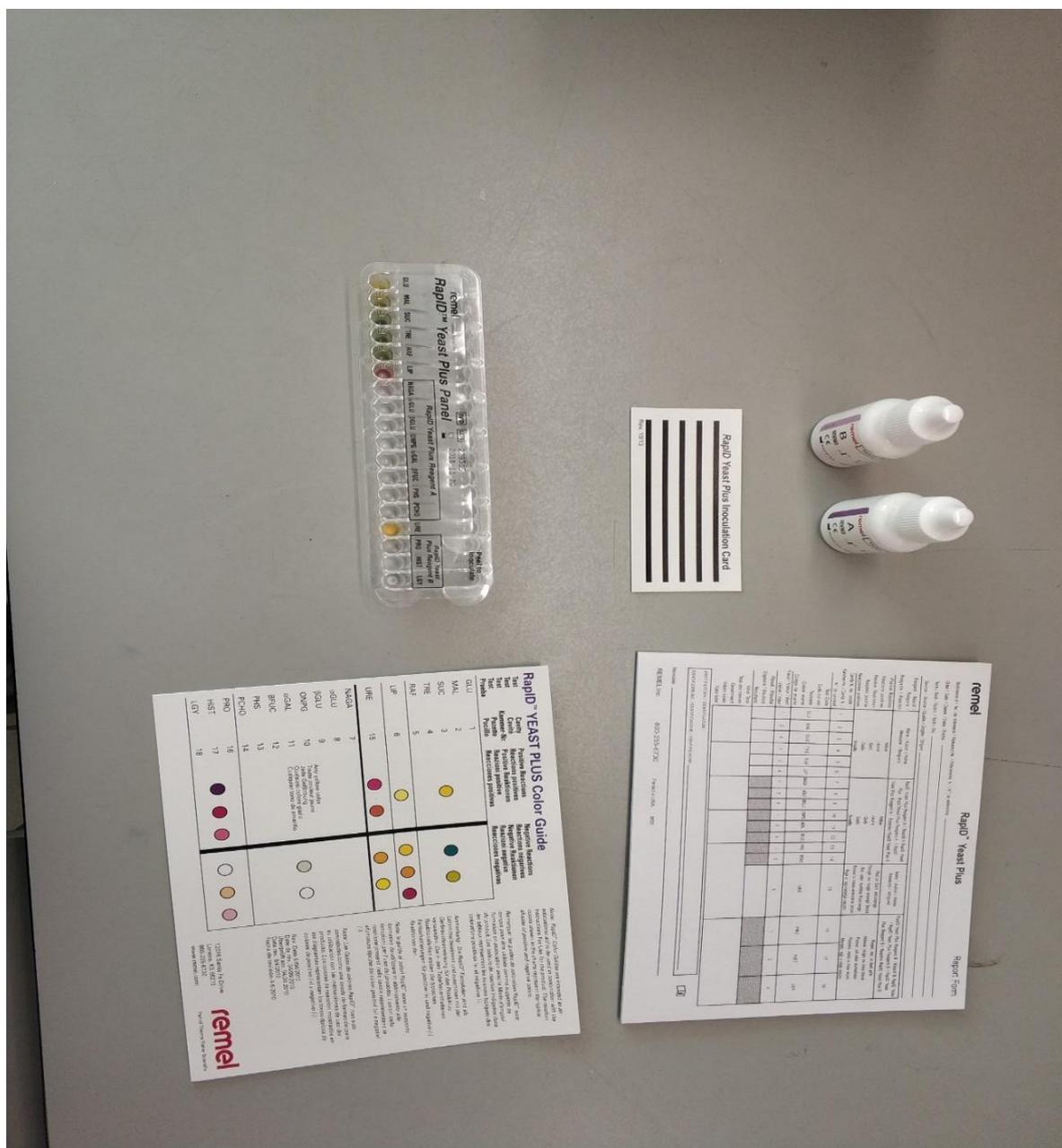
Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от типа используемого оборудования изложена в методических рекомендациях ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией».

2.2.3 Идентификация *Candida spp.* методом INTEGRAL SYSTEM YEASTS plus.

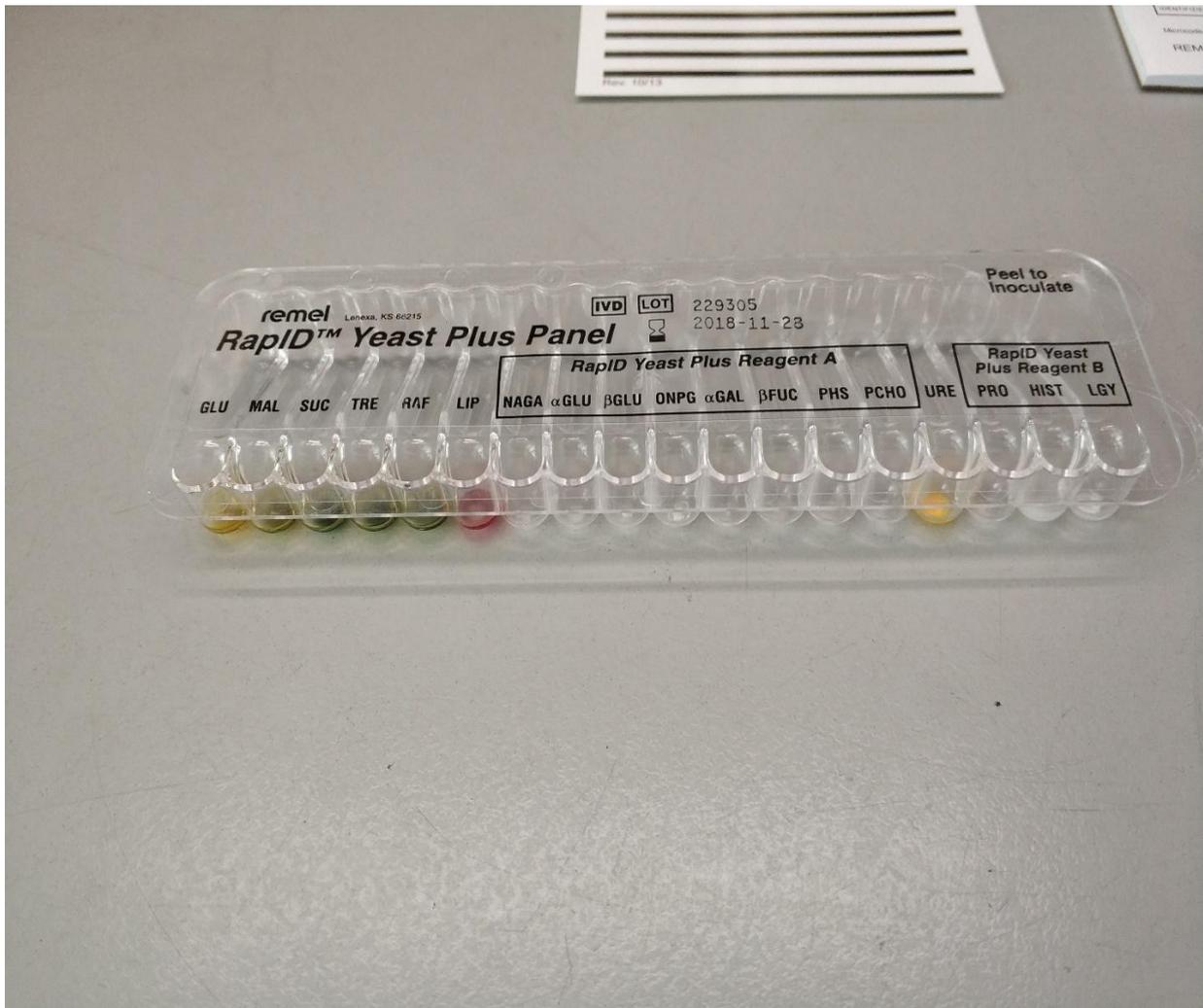
INTEGRAL SYSTEM YEASTS plus – 24 луночная система, содержащая биохимические субстраты и высушенные противогрибковые вещества для идентификации клинически важных дрожжей, а также оценки чувствительности

к противогрибковым препаратам.

Идентификация основывалась на реакциях ассимиляции сахаров; тесты на ассимиляционную реакцию интерпретируются оценкой изменения цвета в лунках [фотография 8, 9].



Фотография 8. Проведение идентификация *Candida* spp. методом ПЦР-РВ, «АмплиСенс *C.albicans / C.glabrata /C.krusei*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL» INTEGRAL SYSTEM YEASTS plus.



Фотография 9. Проведение теста на ассимиляционную реакцию при идентификации *Candida* spp. методом ПЦР-РВ, «АмплиСенс *C.albicans* / *C.glabrata* / *C.krusei*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL» INTEGRAL SYSTEM YEASTS plus

Комбинация положительных и отрицательных ответов позволяла сформировать цифровой код, который дает возможность идентифицировать исследуемые дрожжи с помощью таблицы кодов.

Определение чувствительности к противомикотическим препаратам. Тесты оценивались по росту или ингибированию дрожжей в среде, содержащей противогрибковый препарат и индикатор роста в лунках.

2.2.4 Идентификация Candida spp. при помощи КАНДИДАтест21

Набор КАНДИДАтест 21 использовали для идентификации патогенных грибов, при использовании стандартизированных реакций и компьютерной базы данных в течении 24 часов.

Чистую культуру грибов рода *Candida* выделяли, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на Сабуро-Глюкоза 2% агаре (без добавок).

Из 24-часовой культуры готовили бактериальную суспензию инокулировали по 1 мл суспензии во все лунки **КАНДИДАтест21**, затем инкубировали инокулированную пластинку в течение 24 часов при температуре 25-30 °С.

После 24 часовой инкубации проверяли чистоту культуры на контрольной чашке. При отсутствии роста увеличивали время инкубации на 24 часа. Учитывали все результаты биохимических реакций, основанных на ассимиляции. Результаты записывали и интерпретировали с помощью прилагаемых таблиц.

2.2.5 Изучение морфологических особенностей возбудителей инвазивного кандидоза

Особенности морфологии клеток культур грибов рода *Candida* изучали с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImager.Z1 (Carl Zeiss, Германия), использующего оптику Номарского. Для этого готовили микропрепараты: на предметное стекло наносили каплю дистиллированной воды, в которую вносили культуру исследуемого изолята *Candida spp.*, взятую бактериологической петлей с центральной и периферической поверхности колонии, полученную суспензию накрывали покровным стеклом и изучали особенности морфологии.

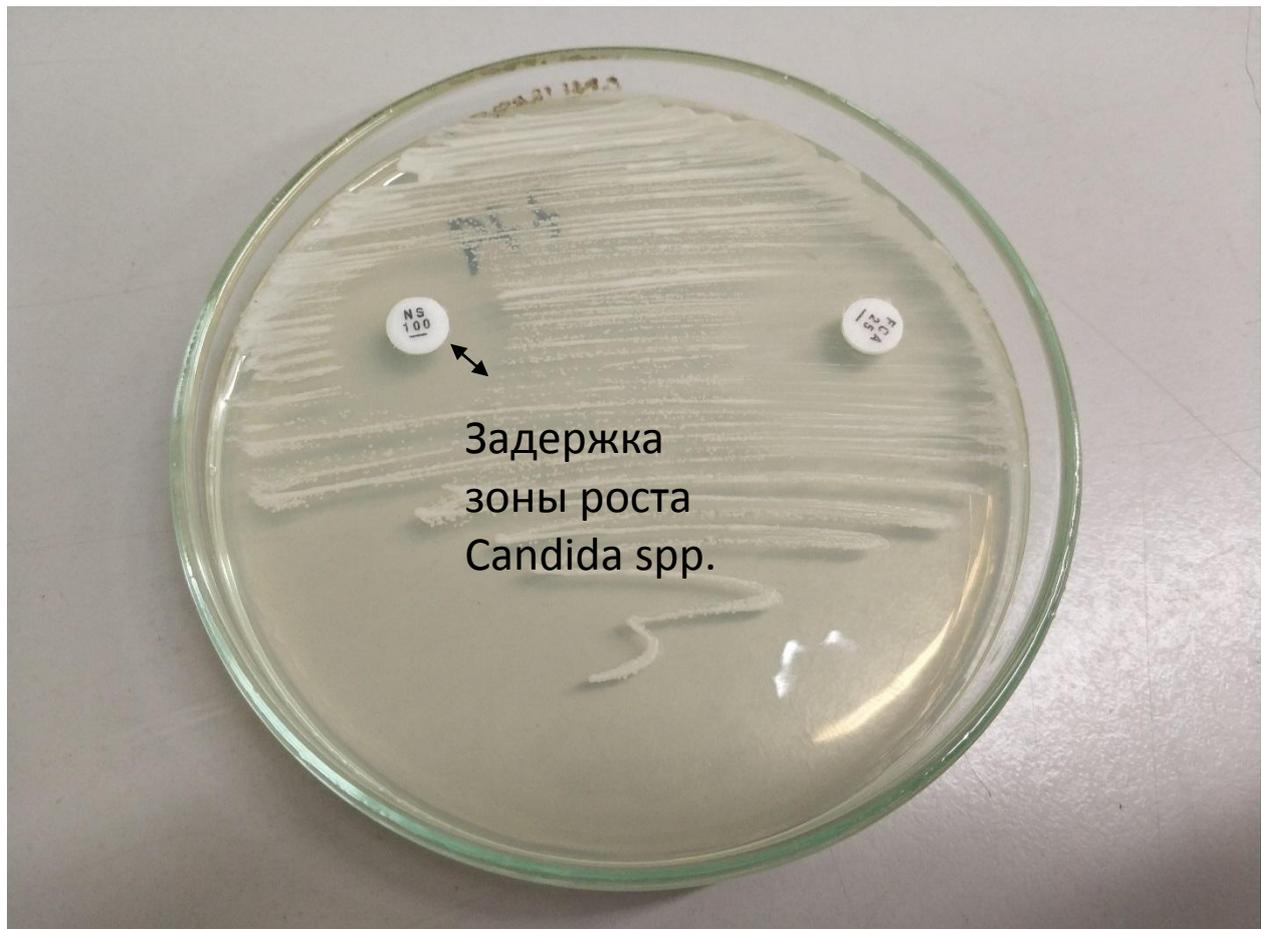
2.2.6 Диско-диффузионный метод определения чувствительности - CLSI M44-A

Использовали бумажные диски (производство Oxoid, Великобритания)

диаметром 6 мм, пропитанные противогрибковыми препаратами (диски с вориконазолом содержали 1 мкг препарата, диски с флуконазолом – 25 мкг препарата) и плотную питательную среду Мюллер-Хинтона, содержащую 2% глюкозу и 0,5 мкг/мл красителя метиленового синего [45]. Для приготовления инокулюма использовали суточные культуры исследуемых *Candida* spp. Мутность инокулюма соответствовала 0,5 McFarland (1×10^6 - 5×10^6 клеток/мл).

Посев инокулюма проводили не позднее, чем через 15 минут с момента его приготовления. Стерильный хлопковый тампон несколько раз погружали в инокулюм, затем переносили в чашку Петри со средой Мюллер-Хинтон и растирали по всей поверхности среды, постепенно вращая тампон, для получения роста «газоном» и полного впитывания инокулюма в среду.

Диски с флуконазолом и вориконазолом наносили стерильным пинцетом на поверхность засеянной чашки, слегка придавливая для получения наибольшей площади соприкосновения со средой. Инкубировали при температуре 35⁰С 18-24 часа. Учет результатов проводили по диаметру зоны задержки роста [табл.2]. [Фотография 10].



Фотография 10. Задержка зон роста *Candida* spp. на среде Сабуро с нанесенными дисками с антимикотиками.

Таблица 2.

Критерии интерпретации результатов метода М44-А.

Категория чувствительности	Флуконазол		Вориконазол	
	Диаметр, мм	МПК, мкг/мл	Диаметр, мм	МПК, мкг/мл
Чувствительный (Ч)	≥ 19	≤ 8	≥ 17	≤ 1
Умеренно-чувствительный (УЧ)	15-18	16-32	14-16	2-4
Устойчивый (У)	≤ 14	≥ 64	≤ 13	≥ 6

2.3 Статистическая обработка результатов

Результаты исследования обрабатывали с помощью программы STATISTICA

for Windows версия 6.0. Использовали непараметрические и параметрические методы. Критерием статистической достоверности получаемых данных считали общепринятую в медицине величину $p < 0.05$ [12].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Всего получено 84 изолята идентифицированных как грибы рода *Candida*, в т.ч. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*. *C. albicans* доминировала по численности (табл. 3, диаграмма 1).

Был произведён анализ изменения видового состава *Candida* spp., полученных при исследовании мазков из ротоглотки и кишечника в 2015 и 2017гг [диаграмма 2, таблица 3].

Таблица 3.

Изменение спектра грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов в 2015 и 2017гг.

	2015 г. % от общего числа изолятов	2017 г. % от общего числа изолятов
<i>C. albicans</i>	37	56,8
<i>C. glabrata</i>	59,3	10,8
<i>C. tropicalis</i>	0	18,9
<i>C. krusei</i>	3,7	13,5

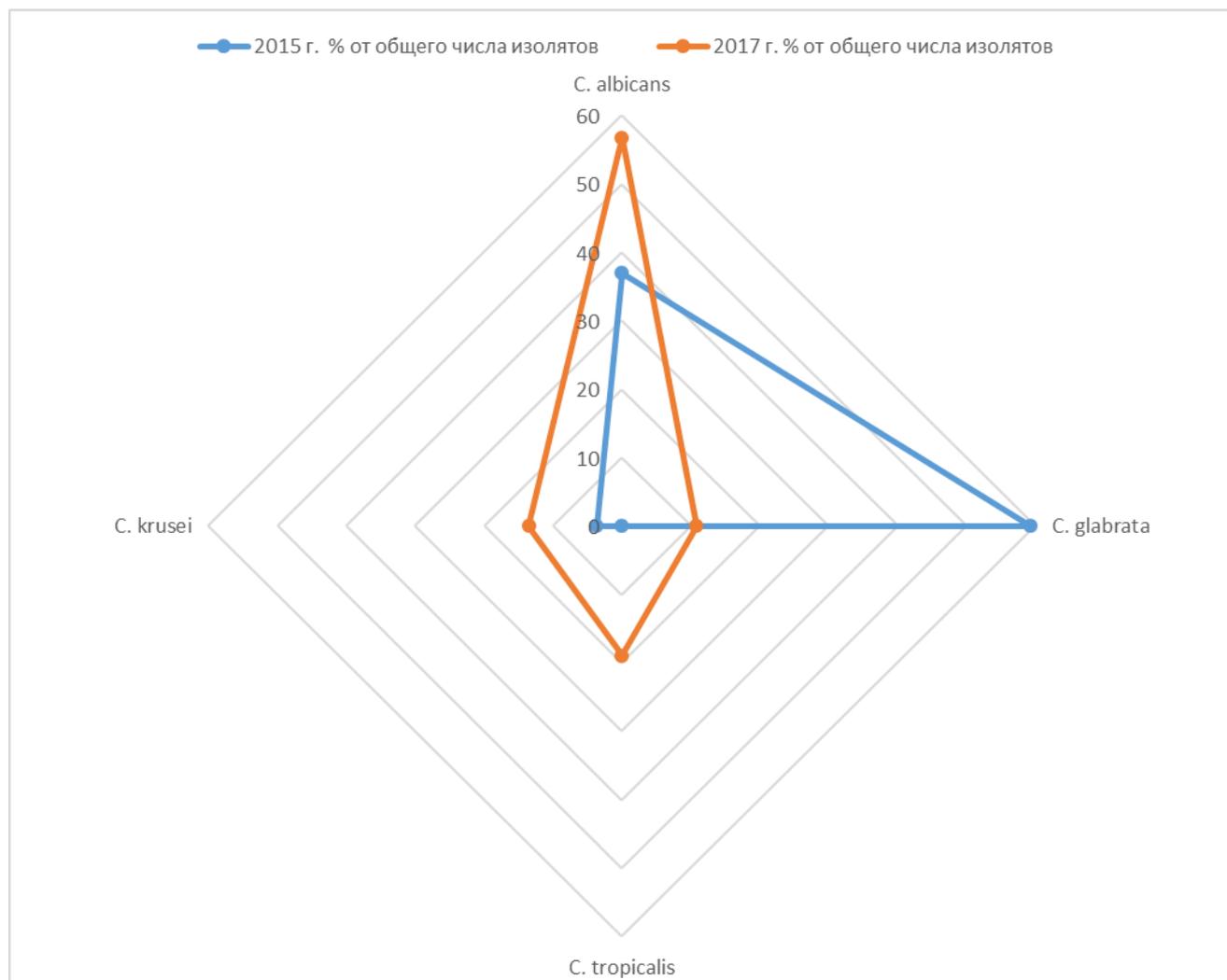


Диаграмма 2. Изменение спектра грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов в 2015 и 2017гг.

Видовой состав грибов рода *Candida* изменился к 2017г. ($p < 0,05$) за счет вытеснения *C. glabrata* (43,8% в 2015г и 10,8% в 2017г) штаммами *C. crusei* (0% в 2015г и 13,5% в 2017г) и *C. tropicalis* (0% в 2015г и 18,9% в 2017г).

В 2017 г. стали высеваться *C. tropicalis*, повысилось доленое участие *C. albicans* и *C. krusei* (соответственно в 1,54 и 3,65 раз, $p > 0,05$). В то же время, пул *C. glabrata* в 2017 г. был существенно сокращен - в 5,49 раза ($p < 0,001$). Следовательно, анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* показал его существенное изменение в 2017г., по сравнению с данными 2015г. [диаграмма 2].

По данным корреляционного анализа, *C. albicans* конкурирует с другими

видами грибов данного рода – обнаружена отрицательная связь средней силы с *C. glabrata* ($r=-0,418$), *C. tropicalis* ($r=-0,529$) и *C. krusei* ($r=-0,475$).

Среднее количество изолятов, полученных от одного пациента, в общем составило 1,60. При этом оно также не было постоянным, а заметно возросло с 1,29 в 2015 г. до 1,95 в 2017 г., т.е. увеличилось в 1,51 раза и свидетельствует о том, что в образцах 2017г. *Candida spp.* демонстрировали большую тенденцию к образованию ассоциаций.

Было проанализировано изменение долевого участия гетерогенных ассоциаций грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов в 2017г., по сравнению с 2015г [табл.4, диаграмма 3].

Таблица 4.

Изменение долевого участия гетерогенных ассоциаций грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов в 2017г., по сравнению с 2015г.

Число компонентов ассоциации	2015 г. %(по отношению к общей популяции <i>Candida spp.</i>)	2017 г. %(по отношению к общей популяции <i>Candida spp.</i>)
1	75,0	47,3
2	20,0	31,6
3	0	15,8
4	5,0	5,3

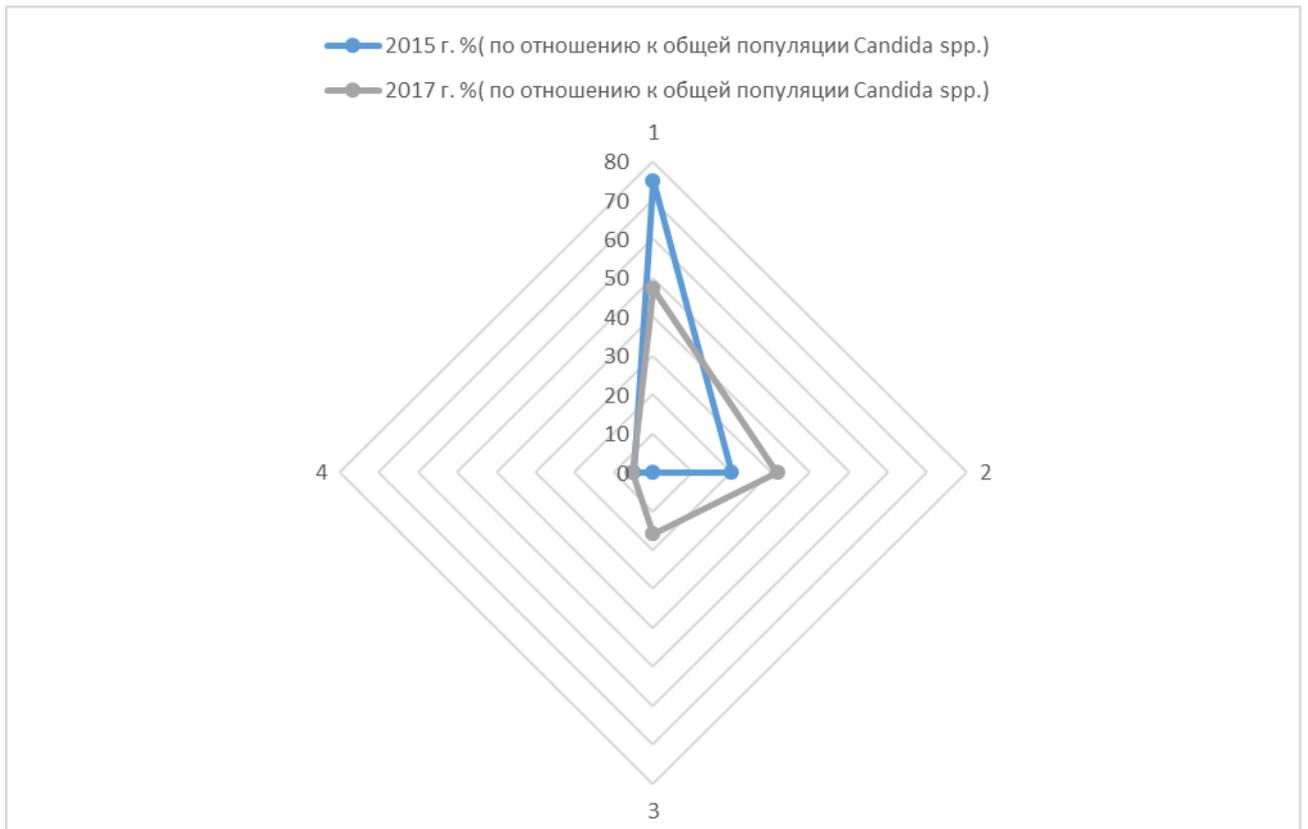


Диаграмма 3. Изменение долевого участия гетерогенных ассоциаций грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов в 2017г., по сравнению с 2015г.

Установлено, что если в 2015 г. лишь у 25,0% пациентов обнаруживались ассоциации грибов рода *Candida*, то в 2017 г. их доля возросла в 2,10 раза и достигла 52,6%. При этом наибольшую долю среди ассоциаций составляли бинарные ассоциации в различном сочетании. [диаграмма 3].

Из представленных данных следует, что в 2017г. впервые выявляются трехкомпонентные ассоциации, и возрастает доленое участие двухкомпонентных ассоциаций.

Был произведен анализ компонентной структуры выделенных ассоциаций *Candida* spp. с целью установки наиболее часто встречающихся вариантов [табл. 5].

Частота вариантов ассоциаций грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов 1 и 2 группы.

Варианты ассоциации	2015 г.	2017 г.
	%	%
Гомогенные	60,0	60,0
Гетерогенные	40,0	40,0

Выделенные изоляты грибов рода *Candida* в большинстве случаев (60%), представляли собой гомогенные ассоциации, состоящие из *Candida albicans*, как в 2015, так и в 2017гг. В то время как гетерогенные популяции были многовариантными и в их состав входили различные представители рода *Candida* в различных сочетаниях.

Таким образом, анализ компонентной структуры ассоциаций показал, что их гомогенные варианты, включающие микробы только одного вида, встречаются в 1,60 раза чаще, чем гетерогенные [табл. 5]. При этом выборки пациентов 2015 и 2017 гг. практически не различались по данной характеристике.

3.1 Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении *Candida spp.*, выделенных из различных биотопов (ротоглотка, кишечник) от ВИЧ-инфицированных пациентов.

В соответствии с поставленными целями исследования, нами было изучено изменение видового состава грибов кандиды после применения флуконазола, как препарата первой линии для лечения кандидоза в соответствии с национальными

рекомендациями [121] [табл. 6, диаграмма 4].

Таблица 6.

Изменение спектра грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов после 2х недельной терапии флуконазолом.

	До лечения%	После лечения%
<i>C.albicans</i>	56,3	9,1
<i>C.glabrata</i>	43,8	81,8
<i>C.tropicalis</i>	0	0
<i>C.krusei</i>	0	9,1
В т.ч. <i>C.non-albicans</i>	43,8	90,9

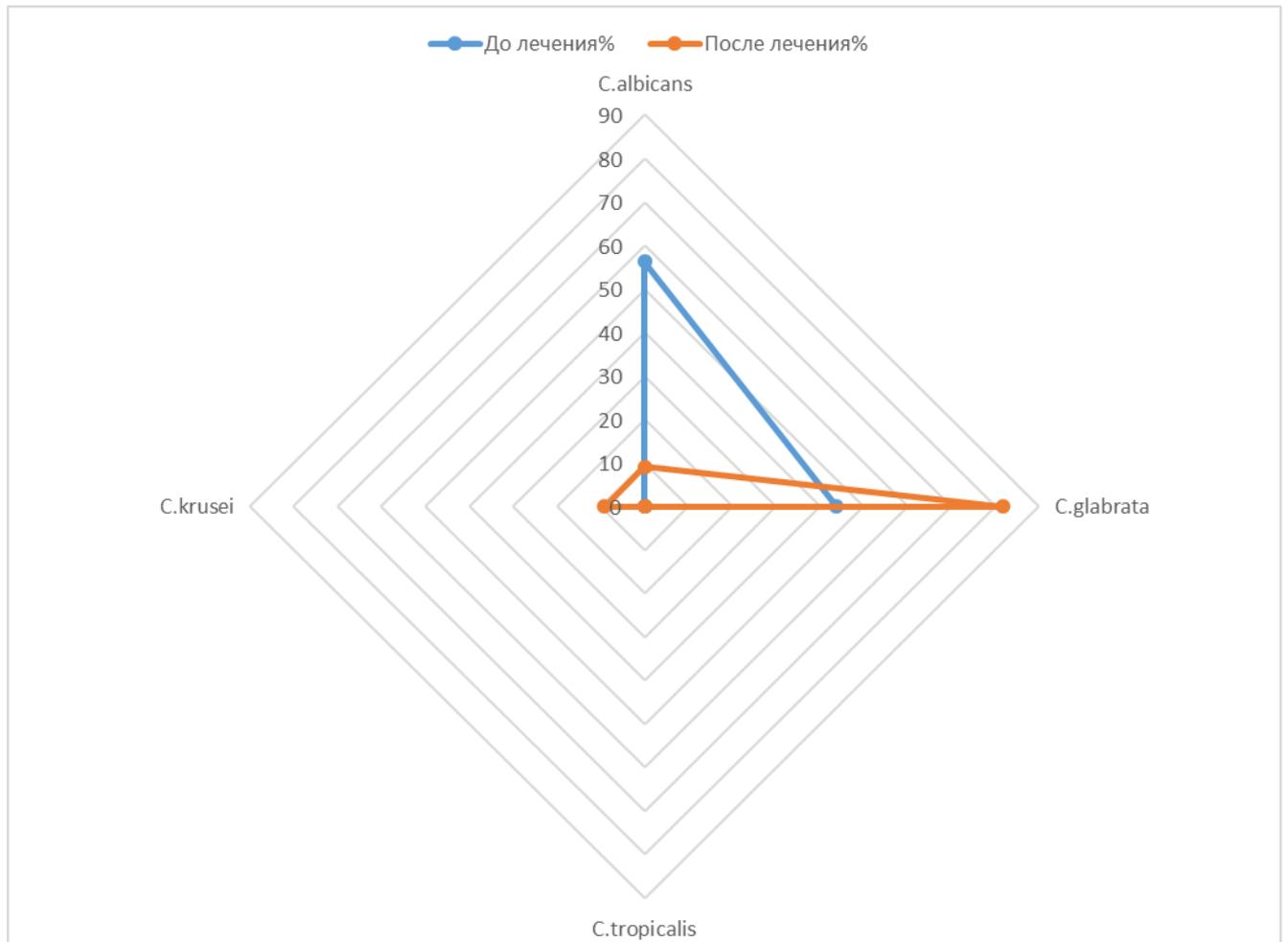


Диаграмма 4. Изменение спектра грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов после 2х недельной терапии флуконазолом.

Анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* в ходе лечения показал его существенное изменение: отмечено сокращение пула *C. albicans* в 6,18 раз ($p < 0,05$), увеличение доли *C. glabrata* в 1,87 раз ($p < 0,05$), а также появление в единичном случае *C. krusei*.

Подтверждено генетическое различие штаммов *albicans* и *glabrata*, выявленных методом ПЦР до и после антимикотической терапии. Полученные нами различные штаммы были обозначены нами как штаммы 1, 2, 3, 4.

Среднее количество изолятов, полученных от одного пациента, в общем составило 1,29. При этом в процессе лечения этот показатель возрос с 1,14 до 1,57, т.е. увеличился на 37,7%.

При анализе полученных данных установлено наличие изменений в

гетерогенности ассоциаций грибов рода *Candida*, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов, после 2х недельной терапии флуконазолом. [табл. 7, диаграмма 5].

Таблица 7.

Изменение архитектуры сообщества грибов рода *Candida* ВИЧ-инфицированных пациентов после 2-х недельной терапии флуконазолом (в %).

Число компонентов ассоциации	До лечения	После лечения
1	76,9	71,4
2	23,1	14,3
3	0	0
4	0	14,3
Всего % грибов в ассоциациях	23,1	28,6

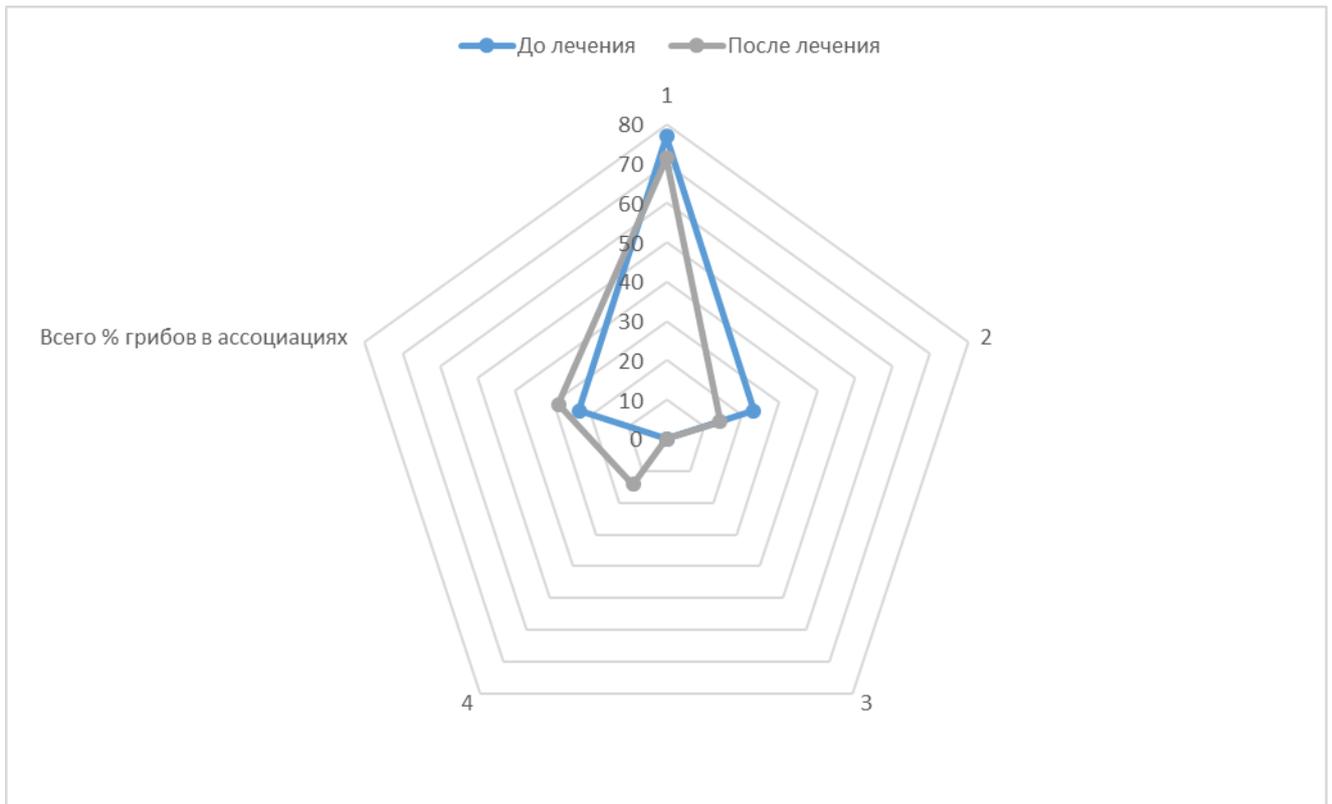


Диаграмма 5. Изменение архитектуры сообщества грибов рода *Candida* ВИЧ-инфицированных пациентов после 2-х недельной терапии флуконазолом (в %).

Анализ динамики архитектуры сообщества грибов рода *Candida* в процессе лечения выявил следующие различия: так в 76,9% случаев до и 71,4% после лечения они встречались как единственный вид, в 23,1-28,6% – как ассоциация видов [табл. 7]. Однако, если до лечения двухкомпонентные ассоциации грибов рода *Candida* встречались у 23,1% пациентов, то после лечения их доля снизилась до 14,3%, т.е. в 1,6 раза. При этом наибольшую долю среди ассоциаций составляли бинарные. Интересен факт появления после лечения четырехкомпонентной ассоциации.

Особый интерес представлял анализ компонентов, образующих ассоциацию грибов рода *Candida* после 2-х недельной терапии флуконазолом (в %) [табл. 8].

Таблица 8.

Частота вариантов ассоциаций грибов рода *Candida*, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов после 2-х недельной терапии флуконазолом.

Варианты ассоциации	2015 г.	2017 г.
	%	%
Гомогенные	60,0	60,0
Гетерогенные	40,0	40,0

Анализ компонентной структуры ассоциаций выявил, что их гомогенные варианты встречаются в 1,5 раза чаще, чем гетерогенные [табл. 7]. При этом выборки пациентов до и после лечения практически не различались по данной характеристике.

С целью изучения эффективности антимикотиков в отношении *Candida spp.* полученных из различных биотопов, была произведена оценка чувствительности данных изолятов диско-диффузионным методом [табл. 9, 10, диаграмма 6, 7].

Таблица 9.

Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении *Candida spp.*, выделенных из ротоглотки.

Вид	Имидазолы		Триазолы		Полиены	
	Кетоконазол	Клотримазол	Итраконазол	Флуконазол	Нистатин	Амфотерицин В
	%	%	%	%	%	%
<i>C. albicans</i>	36,4	72,7	9,1	18,2	100,0	100,0
<i>C. glabrata</i>	86,7	46,7	6,7	53,3	100,0	93,3
Всего	65,4	57,7	7,7	38,5	100,0	96,2

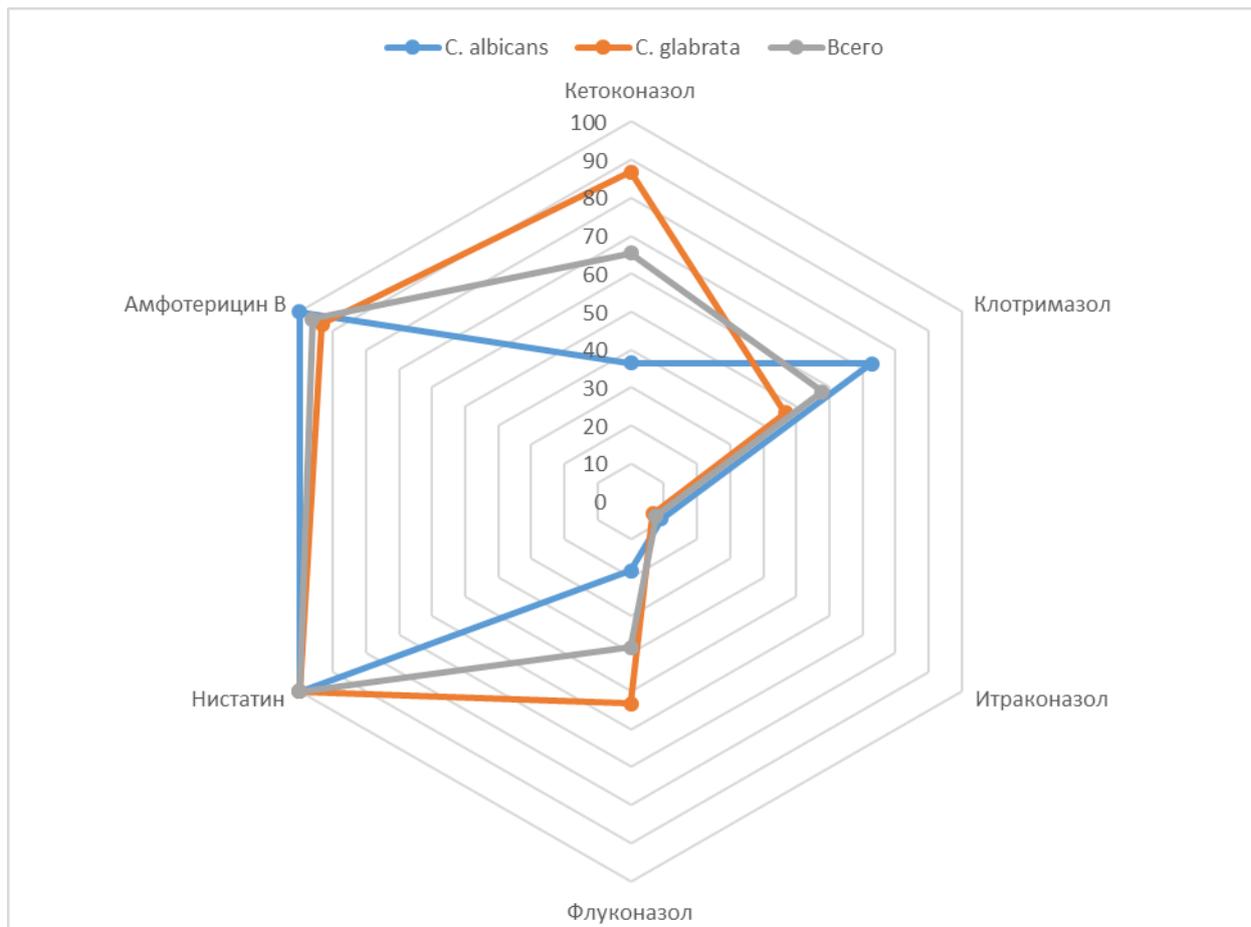


Диаграмма 6. Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении *Candida spp.*, выделенных из ротоглотки.

Практически все штаммы *Candida spp.*, выделенные из ротоглотки, оказались чувствительны к полиенам, причём они были чувствительны к нистатину в 100 % случаев.

В тоже время, выделенные штаммы оказались устойчивы к производным триазола, но максимальный эффект флуконазола установлен в отношении *C. glabrata* (53,3%). Частота резистентности к итраконазолу превышала 90% у всех представителей рода *Candida spp.*

Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении *Candida* spp., выделенных из кишечника.

Вид	Имидазолы		Триазолы		Полиены	
	Кетоконазол	Клотримазол	Итраконазол	Флуконазол	Нистатин	Амфотерицин В
	%	%	%	%	%	%
<i>C. albicans</i>	25,0	66,7	37,5	12,5	100,0	100,0
<i>C. glabrata</i>	50,0	50,0	10,0	40,0	90,0	90,0
Всего	38,9	61,1	22,2	27,8	94,4	94,4

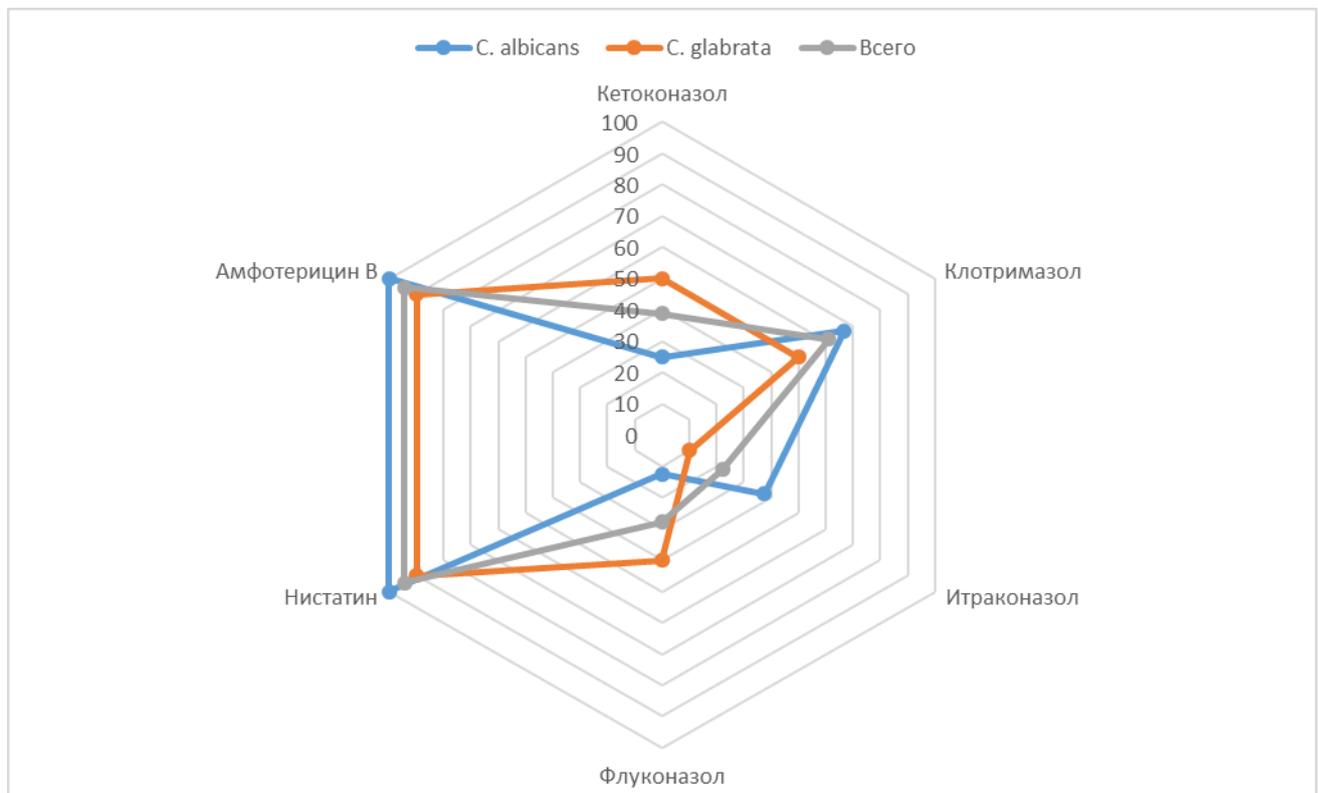


Диаграмма 7. Эффективность антимикотиков различных фармакологических групп в отношении *Candida* spp., выделенных из кишечника.

Выделенные из кишечника штаммы также продемонстрировали высокую чувствительность к полиенам и устойчивость к триазолам.

Поэтому, представляло особый интерес изучить изменение

чувствительности грибов *Candida* после применения флуконазола, как основного препарата для лечения кандидоза [121] [табл. 11, 12 диаграмма 8, 9] .

Таблица 11.

Дрейф чувствительности грибов вида *Candida*, выделенных из ротоглотки, к антимикотикам после поведенного лечения

Этап	Имидазолы		Триазолы		Полиены	
	Кетоконазол	Клотримазол	Итраконазол	Флуконазол	Нистатин	Амфотерицин В
	%	%	%	%	%	%
При поступлении	66,7	50,0	0,0	50,0	100,0	83,3
Через 2 недели	100,0	44,4	11,1	55,6	100,0	100,0

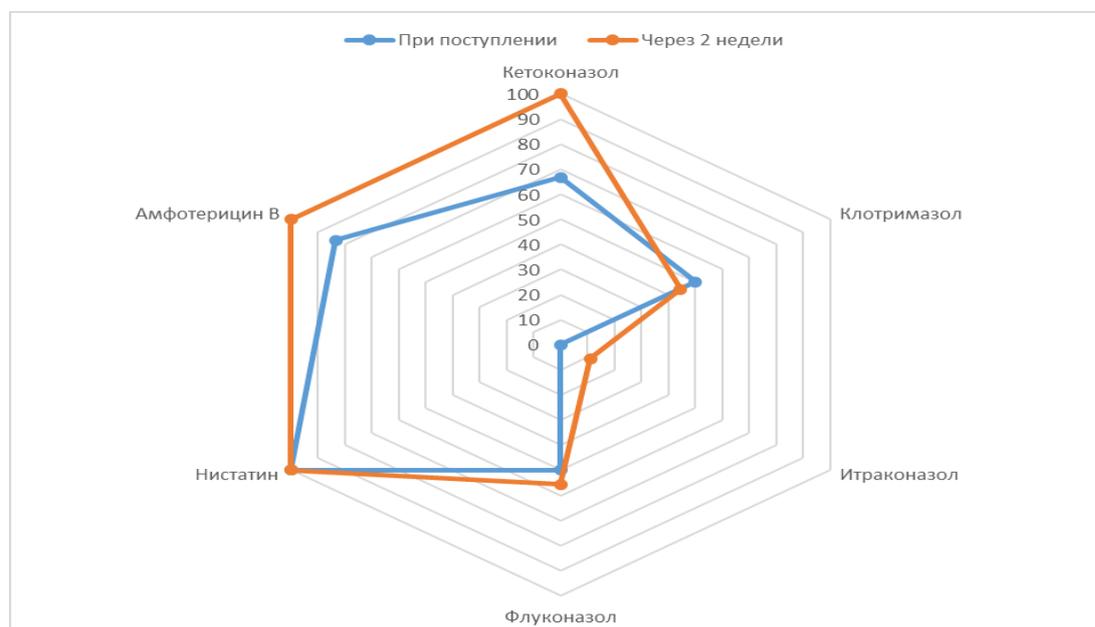


Диаграмма 8. Дрейф чувствительности грибов рода *Candida* выделенных из ротоглотки, к антимикотикам после поведенного лечения.

Оценка изменения чувствительности к антимикотикам грибов рода *Candida* выделенных из ротоглотки выявила значительный рост

чувствительности к итраконазолу ($p < 0,001$), однако чувствительность к остальным препаратам достоверно не изменилась ($p > 0,05$). Была установлена высокая чувствительность исследуемых штаммов к полиенам, причём изоляты *Candida spp.* из ротоглотки, в 100,0% случаев были чувствительны к нистатину.

Таблица 12.

Дрейф чувствительности грибов вида *Candida* выделенных из кишечника, к антимикотикам после проведенного лечения

Этап	Имидазолы		Триазолы		Полиены	
	Кетоконазол	Клотримазол	Итраконазол	Флуконазол	Нистатин	Амфотерицин В
	%	%	%	%	%	%
При поступлении	33,3	50,0	0,0	33,3	83,3	83,3
Через 2 недели	75,0	50,0	25,0	50,0	100,0	100,0

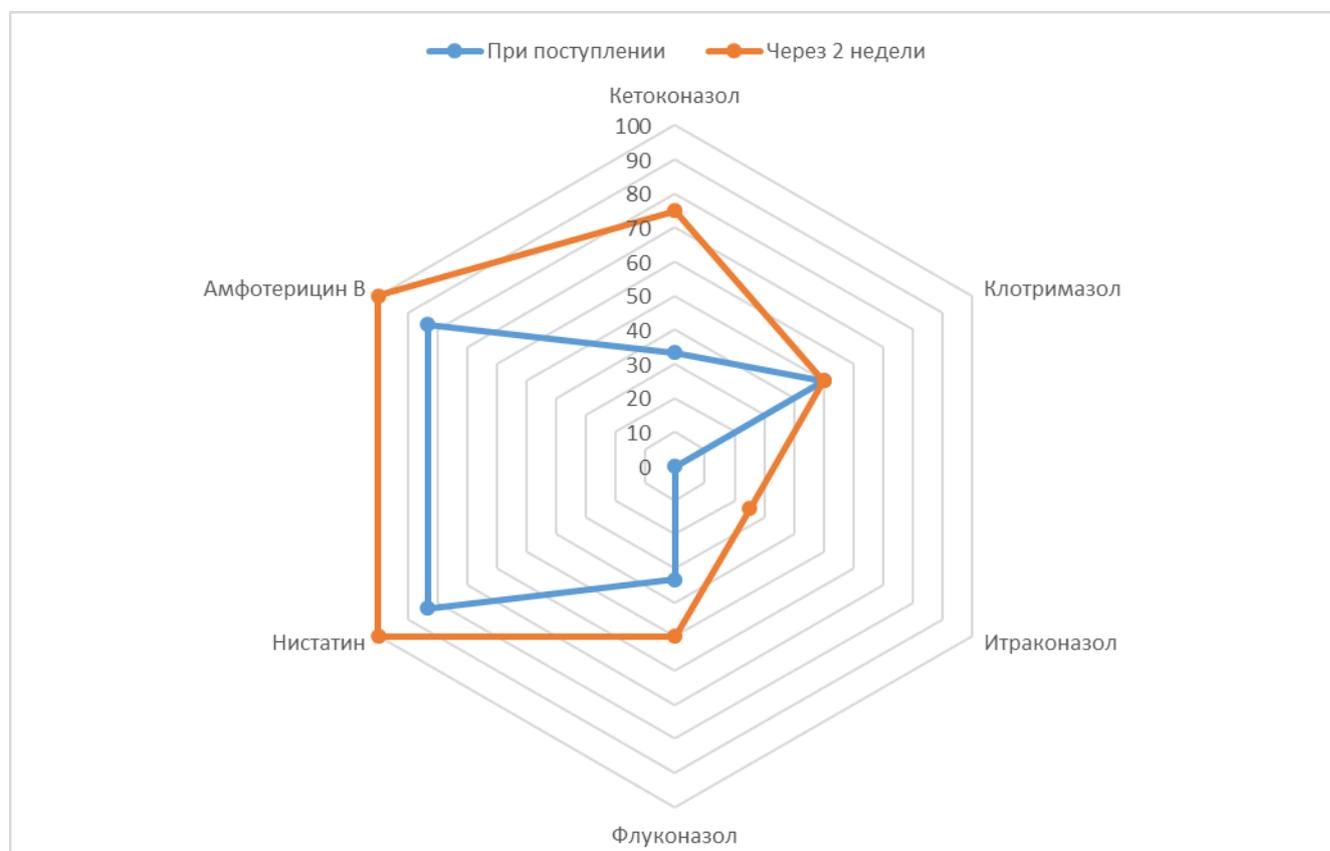


Диаграмма 9. Дрейф чувствительности грибов вида *Candida*, выделенных

кишечника, к антимикотикам после проведенного лечения.

Изоляты, полученные из кишечника также продемонстрировали рост чувствительности к триазолам. Практически все штаммы остались чувствительны к полиенам.

Заключение: лечение кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов приводит к изменению видового и штаммового состава *Candida spp.*: после эрадикации *C. albicans*, чувствительной к флуконазолу, ее место в биотопе занимают более устойчивые штаммы других видов, включая *C. glabrata* и *C. krusei*. То есть длительное лечение ВИЧ-инфицированных пациентов препаратами азолового ряда также приводит к изменению видового состава *Candida spp.* и характеризуется постепенным нарастанием non-*albicans* видов, особенно *Candida glabrata*. Данная тенденция является одной из причин рефрактерного кандидоза слизистых оболочек у пациентов с развитой иммуносупрессией и низким количеством CD4.

На основании полученных данных, для повышения эффективности противокандидозной терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов целесообразно критически оценивать шаблонный подход к лечению кандидоза любой локализации препаратами азолового ряда. Особое значение приобретает систематический мониторинг антимикотической чувствительности *Candida spp.*, в связи с частым выявлением штаммов *Candida*, устойчивых к наиболее используемым лекарственным препаратам.

Данный вывод подтвержден в исследовании видового состава и чувствительности к антимикотикам *Candida spp.*, выделенных у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, в результате которого установлено, что чувствительность грибов *Candida spp.* к антимикотикам частично предсказуема на основе видовой идентификации и по мнению авторов, в большинстве ситуаций, проведения видовой идентификации вместе с локальными данными по чувствительности возбудителей достаточно для выбора

антимикотической терапии[141], о чем свидетельствует клинический пример №1.

Клинический пример 1.

Больная У., 1977 г. р. (возраст 38 лет), жительница Московской области, обратилась в ГБУЗ ИКБ №2 в апреле 2015г. с жалобами на кашель, боли в грудной клетке при дыхании, наличие налета белого цвета на языке, сопровождающегося жжением, болезненностью.

Анамнез заболевания. Ухудшение самочувствия после приема ПАВ в\в-лихорадка, кашель, боли в грудной клетке при дыхании, отметила появление налета белого цвета на языке, сопровождающегося жжением, болезненностью. Поступила в отд. 2-5 повторно, неоднократно находилась в отделениях ИКБ№2(2-5 февраль 2015 г, март 2015 г- 2-6), выписывалась за нарушение режима.

ВИЧ-инфекция с 2000г, на учете в МГЦ СПИД, АРТ неоднократно прерывала, с февраля: Стокрин, Комбивир. В анамнезе- туберкулез легких в 2012 г, на диспансерном учете в ПТД по месту жительства.

Анамнез жизни. Росла и развивалась нормально. Внутривенноеупотребление ПАВ, последний раз 2дня до поступления в стационар.

Перенесенные заболевания: детские инфекции, хронический гастродуоденит, Туберкулез легких (2012г.), пневмоцистная пневмония (2013 г.). Травм, операций не было. Наследственность: не отягощена.

Физикальное обследование. Состояние средней степени тяжести. Кожные покровы нормальной влажности, бледные, отмечается незначительная отечность под глазами. В области языка налет, в виде белесоватых бляшек, напоминающих свернувшееся молоко, имеющих творожистый вид, налет легко снимается при соскабливании шпателем, после чего видно ярко-красное основание, с кровоточащей поверхностью. В паховой области постинъекционные “колодцы” без признаков инфицирования. В легких дыхание жесткое, рассеянные свистящие хрипы. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД – 110/60 мм рт.ст., ЧСС – 74 в минуту. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень +2 см,

селезенка не пальпируется. Физиологические отправления в норме. Очаговой, менингеальной симптоматики нет. Рост 165 см, вес 43 кг, ИМТ 15,79.

Результаты обследования:

Рентгенологически данных за пневмонию нет; на фоне а\б терапии не лихорадит. Учитывая ночную потливость, наличие туберкулезного процесса в анамнезе, отсутствия приема противотуберкулезной терапии, консультирована фтизиатром, рекомендовано дообследование.

При повторном Rg ОГК- двухсторонняя нижнедолевая пневмония.

1. Иммунный статус

Дата	CD4 кл/мкл	CD4%	CD8 кл/мкл	CD8%	CD4/8	Лей. 10*9/л	Лимф %.	РНК ВИЧ коп.\мл
13.04	255	45	199	35	1.28	3.10	18.4	419

2. Маркеры вирусных гепатитов: HbsAg -отрицательно, anti-HCV –
положительно.

3. Общий анализ крови:

дата	гемоглоби н	эритроцит ы	тромбоцит ы	лейкоцит ы	п/ я	с/ я	эо з	лим ф	мо н	СО Э
11.04.1 5	94	3.10	283	3.3	2	63	5	20	10	21

4. . Биохимический анализ крови:

дата	Общий белок	Альбумин	Глюкоза	Мочевина	Креатинин	Блн общ	АЛТ	АСТ	амилаза
13.04.15	73	37	4.87	3.7	64.40	1.8	17	24	85

5. Общий анализ мочи.

Отн.плотн	рН	Белок	Эпит	Лей	Эритроциты	Цилиндры	Слизь	Соли	Бактерии
1030	6.5	0.26	плоский	3-5	1-3	нет	нет	нет	нет

6. Диагностика оппортунистических инфекций ПЦР: БАЛ

дата	ВЭБ	ЦМВ	ВГ 6 типа	ВПГ 1, 2 типа	МВТ	Candida albicans	Candida glabrata	Candida krusei
21.04	2.2 10*4	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	Отр.	2.0 10*3	Отр.

7. Диагностика оппортунистических инфекций ПЦР: мокрота

дата	ВЭБ	ЦМВ	ВГ 6 типа	ВПГ 1, 2 типа	МВТ	Candida albicans	Candida glabrata	Candida krusei
20.04	4.8 10*5	Отр.	Отр.	ВПГ 2	Отр.	Отр.	5.7 10*5	Отр.

8. БАЛ на флору от 20.04.15: E. Faecalis, единичные с. glabrata

9. Моча на стерильность от 21.04.15: E. Faecalis 10*4

10. Моча на стерильность от 14.04.15: E. Faecalis 10*5, чувств. К Ванкомицину, линезолиду, ампициллину.

Рентгенография органов грудной клетки от 12.04.15: усиление и деформация легочного рисунка.

Бронхоскопия от 20.04.15: ларингопатия (гипертрофический ларингит?).
Признаки бронхиальной дистонии.

УЗИ гепатобилиарной системы 27.04.15: умеренные изменения в паренхиме печени по типу хронического процесса, умеренные диффузные изменения в паренхиме поджелудочной железы. Умеренное увеличение лимфотических узлов ворот печени.

Получала лечение:

1. Антибактериальная терапия (Линкомицин 0.6 3раза/сутки 8 дней, Нормакс 1 т 2 р 5 дней, Бисептол по 2 таблетки 2раза в день, Цефатоксим 2,0 2р/д №9,
2. Инфузионная дезинтоксикационная терапия

3. Противогрибковая терапия Флуконазол в капсулах по стандартной схеме 200 мг в первый день, по 100 мг в последующие 13 дней
4. Симптоматическая терапия (Омез 1x2p/д, Таблетки от кашля, феназепам)
5. Продолжена АРТ по схеме Стокрин 600 мг н\н Комбивир 1x2p/д

На фоне проводимой, а/б терапии улучшение самочувствия.

На фоне 2х недель приема Флуконазола по стандартной схеме (200 мг в первый день, по 100 мг в последующие) у пациентки сохранились жалобы на зуд, жжение в ротовой полости, однако отмечает снижение выраженности данных симптомов.

Местно, после 2х недель терапии: точечные налеты, крупинки белого цвета имеющие творожистый вид, налет легко снимается при соскабливании шпателем, на фоне сплошной гиперемии.

С целью выработки эффективной тактики лечения, методом ПЦР до и после проведения антимикотической терапии из мазка ротоглотки были выделены штаммы *Candida spp.* В случае выделения генетического различия штаммов одного вида, штаммы были пронумерованы (например, *C. Albicans* 1 или 2, как до терапии, так и после). Для определения чувствительности штаммов *Candida spp.* (выделенных методом ПЦР в мазке со слизистой ротоглотки) антимикотическим препаратам был использован диско-диффузионный метод. Результаты ПЦР мазка из ротоглотки и результаты определения чувствительности к антимикотическим препаратам представлены в таблице [табл. 13]

Таблица 13.

Результаты исследования диско-диффузионным методом чувствительности к антимикотическим препаратам представителей рода *Candida spp.*, выделенных из ротоглотки у ВИЧинфицированного пациента.

PCR	Итраконазол (задержка зоны роста в мм)	Кетаконазол (задержка зоны роста в мм)	Нистатин (задержка зоны роста в мм)	Амфотерцин В(задержка зоны роста в мм)	Клотримазол (задержка зоны роста в мм)	Флуконазол (задержка зоны роста в мм)
<i>C. Glabrata</i> до терапии	0	15	19	10	12	16
<i>C. Glabrata</i> после терапии	0	13	18	10	0	0
<i>C. Albicans</i> после терапии	0	0	14	11	0	0
<i>C. Albicans</i> до терапии	10	16	18	12	0	14
<i>C. Albicans</i> до терапии	0	16	18	12	12	15
<i>C. Albicans</i> после терапии	0	13	17	10	10	0

Данные приведённые в таблице отражают наличие чувствительности выделенных из ротоглотки штаммов *Candida spp.* к полиенам, как до, так и после лечения. Так, в случае нистатина, практически все штаммы продемонстрировали задержку зоны роста более 17мм, что определяет высокую чувствительность к данному антимикотическому препарату. В случае с препаратами азолового ряда, отмечается смена штаммов чувствительных к флуконазолу и т.д. на штаммы устойчивые к данным антимикотическим препаратам в результате проведенного лечения (у штаммов, выделенных после лечения пациентки, наблюдается полное отсутствие задержки зоны роста при нанесении дисков с азоловыми препаратами), что объясняет неэффективность проводимой терапии.

Таким образом, после курса антимикотической терапии произошла смена штаммов на штаммы нечувствительные к флуконазолу, чем объясняется

сохранение клинических симптомов кандидоза ротовой полости по завершении основного курса антифунгальной терапии.

Учитывая высокую чувствительность всех штаммов *Candida spp.*, выделенных у пациентки по завершению лечения, рекомендовано полоскание ротоглотки раствором с нистатином. Через 2 дня больная отметила полное исчезновение жалоб, связанных с ощущением жжения и дискомфорта в ротовой полости. При объективном осмотре- слизистая ротоглотки розовой окраски, без налетов.

Выписана из отделения с диагнозом «ВИЧ-инфекция ст 4 В, фаза прогрессирования на фоне АРТ: орофарингеальный кандидоз. Туберкулез легких, пневмоцистная пневмония в анамнезе. Двухсторонняя нижнедолевая пневмония н\э.

Иммунный блот положительный №911 от 24.05.01

Сопутствующий: Хронический гепатит С. Инфекция мочевыводящих путей (*E. Faecalis* от 20.04.15). Состояние после остеосинтеза правой ключицы. Трофическая язва правого голеностопного сустава. Энцефалопатия токсикометаболического генеза 2 ст., цефалгический, вестибулоатоксический синдром, симптоматическая эпилепсия. Полинейропатия конечностей токсикометаболического генеза. Остаточные явления невралгии левого лицевого нерва.».

Выписана в удовлетворительном состоянии за нарушение режима.

Рекомендована терапия в виде полоскания ротоглотки раствором нистатина. Плановое наблюдение в МГЦ СПИД.

Приведённое клиническое наблюдение отражает необходимость систематического мониторинга антимикотической чувствительности *Candida spp.*, что позволяет достичь клинической ремиссии.

По данным клинического руководства общества инфекционистов США [61] сведения о чувствительности являются полезными при оценке возможных причин неэффективности терапии и безусловно важны для оперативной

коррекции схемы медикаментозной терапии, что особенно важно при планировании лечения в амбулаторных условиях, а также при длительных курсах антибиотикотерапии больных менингитом, остеомиелитом, эндокардитом .

Аналогичный вывод сделан в исследовании Тумбарелла с соавт [92], касающегося резистентности грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов. По результатам данного исследования перед началом лечения необходимо тщательно анализировать чувствительность *in vitro* выделенных штаммов. В особенности это касается *C. albicans* - вида, у которого наиболее часто отмечается резистентность к лекарственным препаратам[25].

Однако в России рекомендаций, касающихся необходимости видовой идентификации *Candida spp.* с целью выбора антимикотической терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов, не существует.

Таким образом, целенаправленное определение чувствительности может быть необходимым для оптимизации терапии при недостаточном ответе к проводимой антифунгальной терапии, что продемонстрировано в клиническом примере №2.

Клинический пример 2.

Больная Ш., 1974 г. р. (возраст 40 лет), жительница Москвы, обратилась в ГБУЗ ИКБ №2 в апреле 2015г. с жалобами на слабость, боли в грудной клетке, повышение Т тела до 39.7 °С, учащенное мочеиспускание, наличие налета белого цвета на языке, сопровождающегося жжением, болезненностью, боль при глотании.

Анамнез заболевания. Ухудшение самочувствия в течение 4х дней: озноб, повышение Т тела до 39.7 °С, вздутие, дискомфорт в животе; оформленный, скудный стул с примесью крови; носовые кровотечения, тошнота, слабость; боль в грудной клетке, сухой кашель, наличие налета белого цвета на языке, сопровождающегося жжением, болезненностью, боль при глотании. Принимала аспирин, анальгин - без эффекта. По СМП госпитализирована в ИКБ№2. На учете

в МГЦ СПИД с 2001г. Принимала АРТ с 2007 года по 02.15гг., самостоятельно прервала прием. В 2008 году – инфильтративный туберкулез легких, стационарное лечение в течение месяца в ГКБ№4, состоит на диспансерном учете в ПТД №16.

Анамнез жизни. Росла и развивалась нормально. Образование среднее. Никогда нигде не работала, ведёт асоциальный образ жизни. В анамнезе внутривенное употребление ПАВ, последний раз неделю до поступления в стационар.

Перенесенные заболевания: детские инфекции, ОРВИ, пневмония, рецидивирующий орофарингеальный кандидоз, кандидоз гортани, пищевода, Herpes Zoster, туберкулез легких. Травм, операций не было. Наследственность: не отягощена.

Физикальное обследование. Состояние средней степени тяжести. Кожные покровы нормальной влажности, бледные. В области языка налет в виде белесоватых бляшек, имеющих творожистый вид, налет легко снимается при соскабливании шпателем, после чего видно ярко-красное основание, с кровоточащей поверхностью. В паховой области постинъекционные “колодцы” без признаков инфицирования. В легких дыхание жесткое, в нижних отделах мелкопузырчатые хрипы. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД – 120/70 мм рт.ст., ЧСС – 89 в минуту. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень +2 см, селезенка не пальпируется. Физиологические отправления в норме. Очаговой, менингеальной симптоматики нет.

Рост 169 см, вес 49 кг, ИМТ 17,15.

Результаты обследования:

При обследовании по данным Rg-графии ОГК: очаговые тени в проекции верхней доли правого легкого. Консультирован фтизиатром - дообследование. В отделении начата АБТ, терапия Бисептолом, однако на фоне проводимой а/б терапии пациентка продолжала фебрильно лихорадить. По результатам посева крови на стерильность (высев *Strept viridans* от 27.04.15г.).

1. Иммуный статус

Дата	CD4 кл\мкл	CD4%	CD8 кл\мкл	CD8%	CD4\8	Лей. 10*9/л	Лимф %.	РНК ВИЧ коп.\мл
21.04.15	16	5	197	59	0,08	1,90	20,7	1216747

2. ПЦР CMV в клетках крови от 27.04.15г. – не обнаружена.

3. Маркеры вирусных гепатитов: №777386 от 21.04.15г.

HbsAg -отрицательно, anti-HCV– положительно.

4. Кровь на стерильность от 21.04.15г. – выделен *Strept.viridans*. 27.04.15г. – роста нет.

5. Общий анализ крови:

дата	гемогл	эритр	тромбоц	лейкоц	п/я	с/я	эоз	лимф	мон	СОЭ
19.04.15	124	3,66	117	3,2	14	56	-	17,2	7,1	22

6. Биохимический анализ крови:

дата	Общи й белок	Альбуми н	Глюкоз а	Мочевин а	Креатини н	Блн общ	АЛТ	АСТ	амилаз а
21.04.15	93	38	4,40	8,7	100,30	22,10	119,0	171,0	126

7. Общий анализ мочи.

Дата	Отн.плотн	pH	Белок	Эпит	Лей	Эритроциты	Цилиндры	Слизь
21.04.15	1,005	6,0	Отр.	Умер.кол-во	1-3	-	-	-

8. Моча на стерильность от 21.04.15г.- бактериурия $3 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, выделен *Ent.faecalis*. 22.04.15г., 27.04.15г., 07.05.15г. – роста нет.

9. Моча по Нечипоренко 21.04.15г. Лейкоциты 5320, эритроциты 4260, цилиндры 5980.

10. Мокрота на ВК от 21.04.15г., от 27.04.15г., от 12.05.15г. – МБТ не найдены.

11.Лаваж – общий анализ от 13.05.15г.: бесцветная, водянистая, жидкая, альвеолярные макрофаги 0-1 в п/зр., лейкоциты в небольшом количестве, эритроциты 0-1 в п/зр. МБТ не найдены.

12.Лаваж на флору от 13.05.15г. – выделена К1. pneumoniae.

13.Диагностика оппортунистических инфекций - мокрота, ПЦР:

Дата	ВЭБ	ЦМВ	ВГ 6 типа	ВПГ 1,2 типа	МБТ	Chlamydia pneumoniae	Candida glabrata	Candida krusei	Mycoplasma pneumoniae	Candida parapsilosis	Pneumocystis carinii
24.04.15	нет	Менее 400	нет	нет	нет	нет	$1,1 \cdot 10^4$	нет	нет	нет	нет

Рентгенография органов грудной клетки: 20.04.15г. очаговые тени в прекии верхней доли правого легкого. 30.04.15г. без динамики. 05.05.15г. слабая положительная динамика. 13.05.15г. без динамики.

ЭГДС 27.04.15г. кандидоз пищевода 1ст. (диффузный). Эрозивный антральный гастрит. Две язвы луковицы 12-ПК. Локальная деформация луковицы 12-ПК. Очаговый катарально-геморрагический бульбит.

УЗИ ОБП 13.05.15г. увеличение и диффузные изменения в паренхиме печени по типу хронического процесса. Умеренные диффузные изменения в паренхиме поджелудочной железы. Увеличение селезенки.

БС 13.05.15г. картина двустороннего диффузного атрофического бронхита. Кандидоз ротоглотки, гортани.

Получал(а) лечение:

1. Антибактериальная терапия (клацид 500мг*2р в/в с 21.04 по 26.04.15г., цефтриаксон 4,0 в/в с 21.04 по 27.04.15г., ампициллин 2,0*4р/д в/в с 28.04. по 18.05.15г., ванкомицин 1,0*2р/д с 27.04. по 24.05.15г., меронем 1,0*3р/д в/в с 18.05. по 24.05.15г.).
2. Бисептол 1920мг х 4р/д с 21.04. по 18.05.15г., с 19.05. по 24.05.15г. 2р/д.
3. АРТ (реатаз 2к*2р/д, зиаген 1т*2р/д, эпивир 1т*2р/д).

4. Противогрибковая терапия (Дифлюкан 200мг в первые сутки, затем по 100мг в сутки, амфотерицин В 49 мг/сутки).
5. Гепатопротекторы (Гептрал 1т*3р/д).
6. Симптоматическая терапия (церукал, сульфокамфокаин, таблетки от кашля, оmez, рельецер, лазикс, верошпирон).
7. Этамбутол, изониазид.

На фоне проводимой, а/б терапии улучшение самочувствия.

На фоне 2х недель приема Флуконазолом по стандартной схеме (200мг в первый день, по 100 мг в последующие) у пациентки сохранились жалобы на зуд, жжение в ротовой полости и сохранение творожистого налёта на слизистых ротоглотки на фоне сплошной гиперемии. Отсутствие клинического эффекта от проводимой терапии нашли объяснение после получения результатов исследования ПЦР мазка из ротоглотки и определения чувствительности к антимикотическим препаратам [табл. 14].

Таблица 14. Результаты ПЦР мазка из ротоглотки и результаты определения чувствительности к антимикотическим препаратам (задержка зоны роста в мм).

PCR	Итраконазол (задержка зоны роста в мм)	Кетаконазол (задержка зоны роста в мм)	Нистатин (задержка зоны роста в мм)	Амфотерицин В(задержка зоны роста в мм)	Клотримазол (задержка зоны роста в мм)	Флуконазол (задержка зоны роста в мм)
С. Glabrata до терапии	0	13	14	10	0	0
С. Glabrata после терапии	0	16	16	10	10	0

На основании полученных результатов пациентке произведен вираж антимикотической терапии на в/в Амфотерицин В. Через 4 дня больная отметила снижение жжения и дискомфорта в ротовой полости. При объективном осмотре слизистая ротоглотки розовой окраски, без налетов. Выписана из отделения с диагнозом «ВИЧ инфекция, стадия 4В, фаза прогрессирования без АРТ:

орофарингеальный кандидоз, кандидоз гортани, пищевода, Herpes Zoster в анамнезе, туберкулез легких в анамнезе. Верхнедолевая правосторонняя пневмония н/этиологии.

Иммунный блот положительный от 05.12.07г. №199.

Сопутствующий: Эрозивный антральный гастрит. Язвенная болезнь 12-ПК. Хронический гепатит С+алкогольный с исходом в цирроз печени, класс А по Чайлд-Пью».

Выписана в состояние средней степени тяжести по собственному желанию.

Таким образом, представляется перспективным индивидуальный подбор антимикотической терапии, что поможет избежать нерационального использования антимикотических препаратов и необходимо для оперативной коррекции схем медикаментозной терапии.

Повышение эффективности лечения может быть достигнуто путем гибкого подхода. Представляется перспективным индивидуальный подбор антимикотической терапии в зависимости от локализации патологического процесса и микробиологической характеристики каждого из изолятов *Candida spp.* В случае поверхностных микозов целесообразно применение нистатина, к которому чувствительно большинство штаммов, либо назначение эхинокандинов при неэффективности стандартных схем [91], что отражено в клиническом примере №3.

Клинический пример №3.

Пациентка Ц. 40 лет поступила 21.09.15г. в сентябре 2015г. с жалобами на боли по ходу пищевода при глотании, головную боль, тошноту, периодически рвоту, жидкий стул до 4-5 раз в сутки, повышение температуры тела до 38-39 °С.

Анамнез заболевания: Ухудшение состояния в течение месяца, когда появились жалобы на боли по ходу пищевода при глотании, головную боль, тошноту,

периодически рвоту, жидкий стул до 4-5 раз в сутки, повышение температуры тела до 38-39 °С. Госпитализирована СМП. ВИЧ-инфекция с 1998 года, на учете в МГЦ СПИД, АРТ не получает.

Анамнез жизни: Росла и развивалась нормально. Образование среднее. Никогда нигде не работала, ведёт асоциальный образ жизни. В анамнезе внутривенное употребление ПАВ, последний раз в день поступления в стационар.

Перенесенные заболевания: пневмония, орофарингеальный кандидоз, кандидоз гортани, пищевода, Herpes Zoster, туберкулез легких. Травм, операций не было. Наследственность: не отягощена.

В анамнезе внутривенное употребление ПАВ, последний раз неделю до поступления в стационар.

Физикальное обследование. Состояние средней степени тяжести. Кожные покровы нормальной влажности, бледные. В области языка налет в виде белесоватых бляшек, имеющих творожистый вид, налет легко снимается при соскабливании шпателем, после чего видно ярко-красное основание, с кровоточащей поверхностью.

В паховой области постинъекционные “колодцы” без признаков инфицирования. В легких дыхание жесткое, в нижних отделах мелкопузырчатые хрипы. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД – 120/70 мм рт.ст., ЧСС – 89 в минуту. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень +2 см, селезенка не пальпируется. Физиологические отправления в норме. Очаговой, менингеальной симптоматики нет.

Рост 169 см, вес 51 кг, ИМТ 17,85.

Результаты обследования:

1. Иммунный статус

Дата	CD4 кл\мкл	CD4%	CD8 кл\мкл	CD8%	CD4\8	Лей. 10*9/л	Лимф %.	РНК ВИЧ копий\мл
21.09.15	271	15	1306	71	0,21	8,0	22,9	263076 от 21.05.15г.

2. ПЦР CMV в крови №717362 от 22.09.15г. - обнаружена 210копий/мл.

3. Маркеры вирусных гепатитов: №717337 от 21.09.15г. HbsAg - отрицательно, anti-HCV – положительно.

4. Общий анализ крови:

дата	гемогл	эритр	тромбоц	лейкоц	п/я	с/я	эоз	лимф	мон	СОЭ
21.09.15	56	2,49	340	7,5	-	-	-	22,9	6,6	-

5. Биохимический анализ крови:

дата	Общий белок	Альбумин	Глюкоза	Мочевина	Креатинин	Блн общ	АЛТ	АСТ	амилаза
21.09.15	79	-	5,82	2,9	49,10	4,40	16,0	21,0	64

6. Общий анализ мочи.

Дата	Отн.плотн	pH	Белок	Эпит	Лей	Эритроциты	Цилиндры	Слизь
21.09.15	1,017	7,5	0,2	0-1	0-1	0-1	0	0

7. Анализ ликвора от 21.09.15г. бесцветный, прозрачный, цитоз 6 лейкоцитов, белок - 0,37г/л, р. Панди +/-, в мазке из 10 клеток все лимфоциты, глюкоза – 3,2 ммоль/л., МБТ не найдены. Посев флору – роста нет. ВН №717350 от 21.09.15г. ПЦР HIV РНК - обнаружена 10635копий/мл.

8. Диагностика оппортунистических инфекций - СМЖ, ПЦР:

Дата	ВЭБ	ЦМВ	ВГ 6 типа	ВПГ 1,2 типа	МБТ	Candida albicans	VZV	Candida glabrata	Candida krusei	Toxoplasma gondii	Candida parapsilosis	JC virus	Cryptococcus neoformans
22.09.15	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет

Рентгенография органов грудной клетки: 21.09.15г. - Р-картина может соответствовать специфическому воспалительному процессу в верхней доле левого легкого. Консолидированный перелом 8-9 ребер справа. 29.09.15г. правосторонняя полисегментарная пневмония.

ЭГДС 23.09.15г. язва луковицы 12-пк, обострение. Поверхностный антральный гастрит. Умеренная рубцово-язвенная деформация луковицы 12-пк.

Результаты ПЦР мазка из ротоглотки и результаты определения чувствительности к антимикотическим препаратам представлены в табл 15.

Таблица 15. Результаты ПЦР мазка из ротоглотки и результаты определения чувствительности к антимикотическим препаратам.

PCR	Итраконазол (задержка зоны роста в мм)	Кетаконазол (задержка зоны роста в мм)	Нистатин (задержка зоны роста в мм)	Амфотерицин В(задержка зоны роста в мм)	Клотримазол (задержка зоны роста в мм)	Флуконазол (задержка зоны роста в мм)
С. Glabrata до	0	0	17	12	15	0
С. Glabrata после	0	0	17	12	15	0

Получала лечение:

1. Антибактериальная терапия (цефотаксим 2,0*2р/д в/м, клаксид 500мг*2р/д в таб. 21.09-30.09.15г., лефлобакт 1фл в/в, цефтриаксон 4,0гр в/в 01.10-05.10.15гг.).
2. Бисептол 1920мг х 2 р/д 21.09.15г. -05.09.15г.
3. Противогрибковая терапия (Дифлюкан 200мг в капсул. 21.09-02.10.15г., полоскание с нистатином).
4. Симптоматическая терапия (лазолван, омез, ранитидин, релцер, финлеспин, хлорпротиксен, верошпирон 25мг 2т*3р/д, феназепам, ацилок).

Пациентке рекомендовано полоскание ротоглотки с нистатином. Через 2 дня больная отметила снижение жжения и дискомфорта в ротовой полости, налёты в ротовой полости практически исчезли.

Объективно на момент выписки: Состояние средней тяжести, стабильное. В сознании, адекватна, контактна, ориентирована правильно. Жалоб активно не предъявляет. Т не повышалась. Налетов в ротовой полости нет. Кожа и видимые слизистые бледные, чистые, влажные. Слизистая ротоглотки без налета. Отеки нижних конечностей, стоп меньше. В легких дыхание жесткое, хрипов нет, ЧД=18 в минуту. Тоны сердца ритмичные, звучные, шумов нет. Пульс 80/мин. АД 110/70 мм рт.ст. Язык влажный, чистый. Живот мягкий, при пальпации

безболезненный. Перитонеальных симптомов нет. Мочеиспускание без особенностей. Стул оформленный, 1раз/сут. Менингеальных и очаговых знаков нет.

Выписана в состояние средней степени тяжести по собственному желанию с заключительным диагнозом:

ВИЧ-инфекция, стадия 4Б, фаза прогрессирования без АРТ: активная ЦМВи; орофарингеальный кандидоз. 2: Правосторонняя полисегментарная пневмония н/этиологии. 3: Язва луковицы ДПК, обострение.

Иммунный блот положительный от 25.12.02г. №1532.

Сопутствующий: ХГС. Поверхностный антральный гастрит. ЖКБ: хр. калькулезный холецистит. Энцефалопатия сложного генеза (посттравматическая, токсикометаболическая) 2ст. Полинейропатия нижних конечностей токсикометаболического генеза. Психические и поведенческие расстройства, вызванные приемом 2х и более ПАВ. Синдром отмены, неосложненный.

Терапию в виде полоскания раствором нистатина рекомендовано. Плановое наблюдение в МГЦ СПИД.

Данный клинический пример отражает эффективность применения нистатина даже на фоне отсутствия чувствительности выделенной культуры *S. glabrata* к антимикотикам системного действия и ещё раз подчёркивает необходимость индивидуального подбора антимикотической терапии на основании исследования чувствительности грибов рода кандиды к антимикотикам до начала этиотропной терапии.

ГЛАВА 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Микозы, вызванные грибами рода *Candida*, являются значимой проблемой для практического здравоохранения, особенно для пациентов с ВИЧ инфекцией [53, 97].

Представители рода *Candida* как типичные возбудители оппортунистической инфекции многократно усиливают свой патогенный потенциал при условии нарушений в иммунной системе хозяина [128], вследствие чего могут не только ухудшать прогноз основного заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов, но и быть причиной летального исхода [60].

Вместе с тем, нарастающая антимикотикорезистентность *Candida* spp. у ВИЧ-инфицированных пациентов, нередко получающих длительное время антифунгальные препараты как с профилактической, так и с лечебной целью [22], обуславливает необходимость разработки эффективных схем лечения на основе изучения устойчивости *Candida* spp. к противогрибковым препаратам, на видовом и генетическом уровнях.

Грибы рода *Candida*, составляя значительную часть биоценоза макроорганизма [26, 29, 55], взаимодействуют с другими видами условно-патогенных микроорганизмов и представителями нормофлоры [36]. В микробных сообществах грибы рода *Candida* не только испытывают антагонистическое давление со стороны представителей нормальной микрофлоры, но зачастую образуют ассоциации с другими микроорганизмами [36], которые, наоборот, способствуют колонизации биотопов грибковой флорой. Однако вопрос об изменении чувствительности грибов рода *Candida* к антимикотикам у пациентов с ВИЧ инфекцией остается недостаточно изученным. В этой связи актуальным представляется изучение особенностей видового состава и изменчивости грибов рода *Candida* у пациентов с ВИЧ инфекцией с различной степенью иммунодефицита.

В России по данным официальной статистики отмечается высокий темп прироста числа ВИЧ-инфицированных пациентов относительно других стран мира [133]. На 30 июня 2017 года количество зарегистрированных случаев ВИЧ-

инфекции среди граждан России за все время составило 1 167 581[144]. Отмечается, что за последние пять лет, с 2012 по 2017 год, в нашей стране появилось полмиллиона (495 тысяч) новых случаев ВИЧ. 259 156 ВИЧ-позитивных людей к 2017 году умерли, общее число живущих с ВИЧ, по данным Роспотребнадзора, составило 908 425 россиян[144].

За первые полгода 2017-го центры СПИД в российских регионах зафиксировали 52 766 новых случаев ВИЧ среди граждан РФ, исключая выявленных анонимно, а также иностранных граждан. Прирост составил 3,3%, по сравнению с аналогичным периодом 2016 года [123].

Количества летальных исходов среди ВИЧ-инфицированных в Российской Федерации возрастает год от года по данным Минздравсоцразвития РФ (и Роспотребнадзора [123, 139, 145]. По мере увеличения числа инфицированных ВИЧ и длительности их заболевания, нарастает число больных сопутствующими заболеваниями[145]. Так, одно из первых мест в структуре оппортунистических заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов занимают кандидозы различной локализации, которые в 10–13% случаях становятся причиной гибели пациентов данной группы [115, 148]. Наряду с этим орофарингеальный кандидоз является самым распространенным оппортунистическим заболеванием у ВИЧ-инфицированных пациентов не получающих АРТ (34,6-50,4%) [63, 73]

Термин «кандидоз» подразумевает патологический процесс, основу которого составляет избыточный рост *Candida spp.* первично в ЖКТ и вторично в других системах организма (на слизистой оболочке гениталий, бронхов, в паренхиматозных органах) [23, 49]. *Candida spp.* могут вызывать поражение слизистых полости рта, стоматит, гингивит, орофарингит, эзофагит, кандидоз желудка, толстой кишки, кожи, паронихии, хронический кандидоз кожи и слизистых, кандидозный вульвовагинит, кандидозный баланопостит, поражение глаз, а также генерализованный кандидоз с вовлечением респираторного тракта, почек, эндокарда, реже головного мозга [102].

На сегодняшний день известно более 200 видов грибов рода *Candida*. К

наиболее часто встречающимся относят виды: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, [37]. Реже встречаются: *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. rugosa*, *C. inconspicua*, *C. kefyr*, *C. utilis*, *C. lipolytica*, *C. dubliniensis* [28]. При гистологическом исследовании биоптатов слизистой обнаружено глубокое проникновение грибов и размножение их как в поверхностных, промежуточных, так и в базальных клетках эпителиального слоя пищеварительного тракта [116].

По современным представлениям, в нормальных условиях основным «местом обитания» *Candida spp.* в организме человека является кишечник. Так, исследование взрослых здоровых добровольцев показало, что *C. albicans* присутствует в орофарингеальной зоне у 17–75% из них [54, 58, 76]. При исследовании состава микрофлоры кишечника здоровых людей нескольких стран Европы присутствие грибов обнаружено в 20-80% [84], в кале — у 65–80% [6]. Также *Candida spp.* выделяется из других биотопов - ротовой полости, уrogenитального тракта [102].

У больных с ВИЧ/СПИДом наиболее часто встречаются три клинических формы эпителиального кандидоза: орофарингеальный кандидоз (ОФК), кандидозный эзофагит (КЭ) и кандидозный вульвовагинит (КВ) [85, 137].

Кандидозный стоматит входит в число первых клинических проявлений ВИЧ-инфекции - его диагностируют у большинства не получающих АРТ ВИЧ-больных.

В последнее время отмечена тенденция к увеличению случаев non-*albicans* кандидозов, хуже поддающихся лечению.[16, 46].

По мнению авторов, в большинстве ситуаций проведения видовой идентификации вместе с локальными данными по чувствительности возбудителей достаточно для выбора антимикотической терапии [53]. Таким образом, целенаправленное определение чувствительности может быть необходимым для оптимизации терапии при недостаточном ответе к проводимой антифунгальной

терапии [17, 141].

Всё перечисленное в совокупности определяет необходимость изучения изменчивости свойств грибов рода *Candida* у пациентов с выраженной иммуносупрессией, т.е. у пациентов с ВИЧ инфекцией.

В связи с вышесказанным была определена цель работы: изучить и проанализировать видовой и штаммовый дрейф грибов рода *Candida*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В с оррофарингеальным кандидозом на фоне антимикотической терапии.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- Анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов.
- Установить характер взаимодействия *C. albicans* с другими видами грибов данного рода у ВИЧ-инфицированных пациентов.
- Проанализировать влияние антимикотического лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов на видовой и штаммовый состав *Candida* spp.
- Определить чувствительность штаммов *Candida* spp. к различным антимикотикам.
- По анализу чувствительности *Candida* spp. к различным антимикотикам определить возможный альтернативный вариант лечения кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов

Методы исследований складывались из комплексного традиционного клиничко-эпидемиологического и лабораторного обследований, кроме того были использованы стандартные и дополнительные методы обследования ВИЧ-инфицированных пациентов, согласно приказу Минздравсоцразвития РФ № 474 от 9.07.07 [124, 125].

Лабораторные исследования осуществлялись на кафедрах инфекционных

болезней, а также микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики Сеченовского университета, а также ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на использование данных лабораторных анализов в научных целях. Все исследования проведены с согласия Комитета по этике при ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 25.04.2014 г.) на основании требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» от июня 1964 г.

Дизайн обследования пациентов был основан на открытом, контролируемом, рандомизированном и проспективном исследовании.

У всех пациентов ВИЧ-инфекция была диагностирована на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждена обнаружением специфических антител/антигенов методом иммуноферментного анализа и лизантного иммунного блотинга (ИБ) к белкам вируса иммунодефицита человека (Profiblot 48 TECAN, АвтоБлот 3000).

Стадия ВИЧ-инфекции устанавливалась в соответствии с клинической классификацией ВИЧ-инфекции по Покровскому В.И. (2001) в модификации 2006 года[135].

Всего было обследовано 48 ВИЧ-инфицированных пациентов, в 2014г. в исследование было включено 19 пациентов, в 2017г.- 29 человек, из них 51% мужчин и 49% женщин (медиана возраста составила 38 лет). Возрастной состав представлен на рис.3. Возраст пациентов колебался от 20 до 69 лет, 65% составили лица от 20 до 40 лет, как в группе женщин, так и в группе мужчин преобладали лица молодого возраста. Срок наблюдения за пациентами, к моменту обследования, составил в среднем 6 лет с колебаниями от 1 года до 18 лет.

Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено стандартное клинико-эпидемиологическое обследование (сбор анамнеза,

оценка жалоб, данные физикального осмотра). Лабораторные методы обследования включали общеклинический и биохимический анализы крови, серологическое исследование для определения маркеров вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, определение иммунного статуса пациентов (количество CD4 кл/мкл, CD4%, CD8 кл/мкл, CD8%, CD4/8), определение наличия и уровня РНК ВИЧ в сыворотке крови (m2000 04J72-01 Abbott Molecular).

Перед началом АРТ у 39,9% больных количество CD4+-лимфоцитов было менее 200 клеток/мкл. Среднее количество CD4+-лимфоцитов на момент включения в исследование составило 265 клеток/мкл, из них данный показатель был менее 350 кл/мкл у 77,8%, менее 50 кл/мкл у 33,1% обследуемых пациентов. Показатель медианы количества CD4+ - 153 кл/мкл (min 0 max 696) в 2017г. и 113 кл/мкл (min 0 max 412) в 2015г., что является показателем гомогенности и сопоставимости двух групп обследуемых пациентов по выраженности иммуносупрессии. Распределение всех пациентов по количеству CD4+ отражено в рис.3А, пациентов из первой группы в рис. 3Б, пациентов из второй группы в рис. 3В. У все обследованных пациентов уровень иммунорегуляторного индекса CD4/8 был меньше 1,5, что является показателем высокого риска возникновения оппортунистических заболеваний и критерием назначения антимикробных препаратов для их профилактики, а также одним из показателей необходимых для установления стадии ВИЧ-инфекции. Показатель медианы иммунорегуляторного индекса составил 0,175 (min 0 max 2,26) (со средним значением 0,399) в 2017г. и 0,23 (min 0 max 1,28) (со средним значением 0,318) в 2015г., что также является показателем гомогенности и однородности обследуемых пациентов, в отношении выраженности иммуносупрессии.

В соответствии с общепринятыми критериями [135] (количество CD4+ и иммунорегуляторный индекс), принимая во внимание совокупность клинико-лабораторных данных, стадию ВИЧ-инфекции 3 (субклиническую) имели 2% пациентов; 4А -10% пациентов, стадию 4Б -8% и подавляющее большинство – стадия 4В-80% (79% в 2015г., 80% в 2017г).

Все пациенты, включенные в исследование, исходно были обследованы на

наличие в крови маркеров вирусных гепатитов с помощью коммерческих тест-систем с использованием метода ИФА (анализатор иммуноферментный автоматический "Еволис") и определения anti-HBcore IgM, IgG, anti-HBs, antiHBe, anti-HCV IgM, IgG, anti-HDV IgM, IgG.

ХВГС был диагностирован у 65% пациентов, включенных в исследование, ХВГВ - у 4%, ХВГБ+ХВГС у 2%.

Были использованы стандартные и дополнительные методы обследования ВИЧ-инфицированных пациентов, согласно приказу Минздравсоцразвития РФ от 9 июля 2007 года № 474.

При обследовании пациентов были диагностированы заболевания, вызванные *Candida spp.* различной локализации. Кандидозный эзофагит был установлен у 63% пациентов, грибковый колит у 2%, себорейный дерматит у 12%.

Из включённых в исследование пациентов с ВИЧ, у 78% были выполнены следующие исследования:

Диагностика оппортунистических инфекций методом ПЦР на основании исследования мокроты, включая ВЭБ ЦМВ, ВГ 6 типа, ВПГ1,2 типа, МБТ, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* (прибор для преаналитической подготовки ПЦР-анализов "Кобас АмплиПреп" Кобас АмплиПреп, анализатор "Кобас ТакМан 48", прибор для преаналитической подготовки ПЦР-анализов "Кобас АмплиПреп", анализатор для проведения ПЦР Abbott m2000rt 9K 1501, прибор m2000 04J72-01 Abbott Molecular). Таким образом, *S. Albicans* была обнаружена у 34,69%, *S. glabrata* у 16,32%, *S. krusei* у 8,16% пациентов по данным лаборатории КИБ №2.

Анализ полученных результатов выявил преимущественное присутствие ВЭБ, ЦМВ, *S. Albicans*, *S. Glabrata* в различных сочетаниях, что соответствует литературным данным по выявлению оппортунистических инфекций у ВИЧ инфицированных пациентов в зависимости от числа CD4+ [34, 40, 93]. Наличие ВЭБ инфекции и кандидоза у вошедших в исследование пациентов коррелировало с уровнем CD4 <200 кл.

Рентгенографическое исследование органов грудной клетки выявило

пневмонию у 56% обследованных пациентов, но только у 8% была подтверждена методом ПЦР пневмоцистная пневмония. (прибор m2000 04J72-01 Abbott Molecular). Туберкулез не был выявлен ни у одного из пациентов, вошедших в исследование.

Биохимический анализ крови (10 параметров: общий Белок, альбумин, билирубин общий, АЛТ, АСТ, глюкоза, мочеви́на, креатинин, щелочная фосфатаза, амилаза) проводили на автоматическом биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000 Abbott. Отклонение от нормы установлено по следующим параметрам: превышение нормальных показателей общего билирубина у 24,48%, АЛТ 40,81%, АСТ 57,14%, глюкозы у 18,36%, мочеви́на у 14,28%, креатинина у 12,24%, щелочной фосфатазы у 2,04%, амилазы у 22,45% обследуемых пациентов. Выявленные отклонения соответствуют большому проценту пациентов с хроническими гепатитами различной этиологии и отражают нарушение функции печени.

23 из 48 пациентов получали АРТ в соответствии с Российскими рекомендациями[134, 153], что нашло отражение в повышении амилазы и глюкозы в связи с наличием реактивного панкреатита, ассоциированного с противовирусными препаратами.

Приведённые клиничко-лабораторные данные по обследованным пациентам с ВИЧ, подтверждают однородность и сопоставимость по основным показателям пациентов первой группы (исследование 2015г.) с пациентами второй группы (исследование 2017г.).

Дополнительно диагностика оппортунистических инфекций методом ПЦР (анализатор для проведения ПЦР Abbott m2000rt 9K 1501) выполнена на основании исследования мокроты.

Для выделения культур *Candida spp.* образцы фекалий и мазков из ротоглотки, полученные у ВИЧ-инфицированных пациентов культивировались на среде Сабуро-2 и Кандида-хром агаре, после чего производилась ориентировочная дифференцировка грибов по цвету колоний.

Оценка чувствительности к антимикотикам проводилась диско-диффузионным методом (Oxoid, Великобритания). Были проведены биохимические исследования ферментативной активности помощью коммерческих тест-систем (Remel, Erba Lachema, Чехия) для подтверждения видовой принадлежности представителей рода *Candida* spp. Дополнительно, в качестве контроля видовой идентификации использовалась мультиплексная ПЦР с видоспецифическими праймерами (Amplisens, Чехия). Все перечисленные исследования выполнены на базе ИКБ №2, а также ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского.

Забор образцов проводился на базе ГБУЗ Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г. Москвы. Было проведено исследование образцов *Candida* spp., полученных из ротоглотки 49 ВИЧ-инфицированных пациентов с ОФК в 2015 и 2017 гг. К моменту исследования подавляющее большинство ВИЧ-инфицированных (80%) находились на стадии 4В по классификации акад. Покровского В.В. (2006).

Всего получено 84 изолята идентифицированных как грибы рода *Candida*, в т.ч. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*. *C. albicans* доминировала по численности.

Был произведён анализ изменения видового состава *Candida* spp., полученных при исследовании мазков из ротоглотки и кишечника в 2015 и 2017гг.

Видовой состав грибов рода *Candida* изменился к 2017г. ($p < 0,05$) за счет вытеснения *C. glabrata* (43,8% в 2015г и 10,8% в 2017г) штаммами *C. crusei* (0% в 2015г и 13,5% в 2017г) и *C. tropicalis* (0% в 2015г и 18,9% в 2017г).

В 2017 г. стали высеиваться *C. tropicalis*, повысилось доленое участие *C. albicans* и *C. krusei* (соответственно в 1,54 и 3,65 раз, $p > 0,05$). В то же время, пул *C. glabrata* в 2017 г. был существенно сокращен - в 5,49 раза ($p < 0,001$). Следовательно, анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* показал его существенное изменение в 2017г., по сравнению с данными 2015г.

По данным корреляционного анализа, *C. albicans* конкурирует с другими видами грибов данного рода – обнаружена отрицательная связь средней силы с *C. glabrata* ($r=-0,418$), *C. tropicalis* ($r=-0,529$) и *C. krusei* ($r=-0,475$).

Среднее количество изолятов, полученных от одного пациента, в общем составило 1,60. При этом оно также не было постоянным, а заметно возросло с 1,29 в 2015 г. до 1,95 в 2017 г., т.е. увеличилось в 1,51 раза и свидетельствует о том, что в образцах 2017г. *Candida* spp. демонстрировали большую тенденцию к образованию ассоциаций.

Было проанализировано изменение долевого участия гетерогенных ассоциаций грибов рода *Candida* у ВИЧ-инфицированных пациентов в 2017г., по сравнению с 2015г.

Установлено, что если в 2015 г. лишь у 25,0% пациентов обнаруживались ассоциации грибов рода *Candida*, то в 2017 г. их доля возросла в 2,10 раза и достигла 52,6%. При этом наибольшую долю среди ассоциаций составляли бинарные ассоциации в различном сочетании.

Из представленных данных следует, что в 2017г. впервые выявляются трехкомпонентные ассоциации, и возрастает доленое участие двухкомпонентных ассоциаций.

Был произведен анализ компонентной структуры выделенных ассоциаций *Candida* spp. с целью установки наиболее часто встречающихся вариантов.

Выделенные изоляты грибов рода *Candida* в большинстве случаев (60%), представляли собой гомогенные ассоциации, состоящие из *Candida albicans*, как в 2015, так и в 2017гг. В то время как гетерогенные популяции были многовариантными и в их состав входили различные представители рода *Candida* в разнообразных сочетаниях.

Таким образом, анализ компонентной структуры ассоциаций показал, что их гомогенные варианты, включающие микробы только одного вида, встречаются в 1,60 раза чаще, чем гетерогенные. При этом выборки пациентов 2015 и 2017 гг. практически не различались по данной характеристике.

В соответствии с поставленными целями исследования, было изучено изменение видового состава грибов кандида после применения флуконазола, как препарата первой линии для лечения кандидоза в соответствии с национальными рекомендациями [121].

Анализ динамики видового состава грибов рода *Candida* в ходе лечения выявил его существенное изменение: отмечено сокращение пула *C. albicans* в 6,18 раз ($p < 0,05$), увеличение доли *C. glabrata* в 1,87 раз ($p < 0,05$), а также появление в единичном случае *C. krusei*.

Среднее количество изолятов, полученных от одного пациента, в общем составило 1,29. При этом в процессе лечения этот показатель возрос с 1,14 до 1,57, т.е. увеличился на 37,7%.

При анализе полученных данных установлено наличие изменений в гетерогенности ассоциаций грибов рода *Candida*, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов после 2х недельной терапии флуконазолом.

Анализ динамики архитектуры сообщества грибов рода *Candida* в процессе лечения выявил следующие различия: так в 76,9% случаев до и 71,4% после лечения они встречались как единичный вид, в 23,1-28,6% – как ассоциация видов. Однако, если до лечения двухкомпонентные ассоциации грибов рода *Candida* встречались у 23,1% пациентов, то после лечения их доля снизилась до 14,3%, т.е. в 1,6 раза. При этом наибольшую долю среди ассоциаций составляли бинарные. Интересен факт появления после лечения четырехкомпонентной ассоциации.

Анализ компонентной структуры ассоциаций продемонстрировал, что их гомогенные варианты встречаются в 1,5 раза чаще, чем гетерогенные. При этом выборки пациентов до и после лечения практически не различались по данной характеристике.

С целью изучения эффективности антимикотиков в отношении *Candida spp.* полученных из различных биотопов, была произведена оценка чувствительности данных изолятов диско-диффузионным методом.

Практически все штаммы *Candida spp.* выделенные из ротоглотки, оказались

чувствительны к полиенам, причём они были чувствительны к нистатину в 100 % случаев.

В тоже время, выделенные штаммы оказались устойчивы к производным триазола, но максимальный эффект флуконазола установлен в отношении *C. glabrata* (53,3%). Частота резистентности к итраконазолу превышала 90% у всех представителей рода *Candida* spp.

Полученные из кишечника штаммы также продемонстрировали высокую чувствительность к полиенам и устойчивость к триазолам.

Оценка изменения чувствительности к антимикотикам грибов рода *Candida* выделенных из ротоглотки выявила значительный рост чувствительности к итраконазолу ($p < 0,001$), однако чувствительность к остальным препаратам достоверно не изменилась ($p > 0,05$). Была установлена высокая чувствительность исследуемых штаммов к полиенам, причём изоляты *Candida* spp. из ротоглотки, в 100,0% случаев были чувствительны к нистатину.

Изоляты, полученные из кишечника, также продемонстрировали рост чувствительности к триазолам. Практически все штаммы сохранили чувствительность к полиенам.

В результате на основании клинико-лабораторного исследования. установлено, что лечение кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов приводит к изменению видового и штаммового состава *Candida* spp.: после эррадикации *C. albicans*, чувствительной к флуконазолу, ее место в биотопе занимают более устойчивые штаммы других видов, включая *C. glabrata* и *C. krusei*. Подобные изменения могут являться причиной неэффективности проводимой антимикотической терапии.

На основании полученных данных, для повышения эффективности противокандидозной терапии в клинике ВИЧ-инфицированных пациентов целесообразно критически оценивать шаблонный подход к лечению кандидоза любой локализации препаратами азолового ряда. Особое значение приобретает систематический мониторинг антимикотической чувствительности *Candida* spp., в связи с частым выявлением штаммов *Candida*, устойчивых к наиболее

используемым антимикотическим лекарственным препаратам.

Таким образом, проведённое исследование пациентов с ВИЧ-инфекцией подтверждает универсальное значение изменения чувствительности представителей рода *Candida spp.* к антимикотикам при длительном применении. Аналогичных исследований в отечественной литературе мы не встретили.

Полученные сведения о чувствительности являются полезными при оценке возможных причин неэффективности терапии и безусловно важны для оперативной коррекции схемы медикаментозной терапии, что особенно важно при планировании лечения в ВИЧ, инфицированных в амбулаторных условиях, а также при длительных курсах антибиотикотерапии больных различными бактериальными инфекциями как на фоне ВИЧ инфекции, так и при её отсутствии.

По результатам данного исследования можно сделать вывод о том, что длительное лечение ВИЧ-инфицированных пациентов препаратами азолового ряда также приводит к изменению видового состава *Candida spp.* и характеризуется постепенным нарастанием non-albicans видов, особенно *Candida glabrata*. Данная тенденция является одной из причин рефрактерного кандидоза слизистых оболочек у пациентов с развитой иммуносупрессией и низким количеством CD4 и обуславливает необходимость тщательно анализировать перед началом лечения чувствительность *in vitro* выделенных штаммов – *Candida spp.*, у которых часто отмечается резистентность к лекарственным препаратам.

В настоящий момент в России отсутствуют рекомендации касающиеся необходимости видовой идентификации *Candida spp.* с целью выбора антимикотической терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Таким образом, целенаправленное определение чувствительности может быть необходимым для оптимизации терапии при недостаточном ответе к проводимой антифунгальной терапии.

Повышение эффективности лечения кандидоза у ВИЧ инфицированных пациентов может быть достигнуто путем гибкого подхода. Представляется перспективным индивидуальный подбор антимикотической терапии в зависимости от локализации патологического процесса и микробиологической

характеристики каждого из изолятов *Candida spp.* В случае поверхностных микозов целесообразно применение нистатина, к которому чувствительно большинство штаммов, либо назначение эхинокандинов при неэффективности стандартных схем.

С целью повышения эффективности противокандидозной терапии для ВИЧ-инфицированных пациентов важно критически оценивать шаблонный подход к лечению кандидоза любой локализации препаратами азолового ряда.

Особое значение приобретает регулярный мониторинг медикаментозной чувствительности *Candida*, что позволит своевременно выявить причины неэффективности медикаментозной терапии и скорректировать ее схемы.

Представляется клинически оправданным индивидуальный подбор антимикотической терапии в зависимости от локализации патологического процесса и микробиологической характеристики штаммов *Candida*. В случае поверхностных форм кандидоза (в том числе *кандидозный глоссит / стоматит*) целесообразно применение нистатина, к которому чувствительно большинство штаммов, либо назначение эхинокандинов при неэффективности стандартных схем. Таким образом, оптимизация противокандидозного лечения при ВИЧ-инфекции требует гибкого дифференцированного подхода.

ВЫВОДЫ.

1. Видовой состав грибов рода *Candida*, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, изменился к 2017г. ($p < 0,05$) при сравнении с данными полученными в 2015г. за счет вытеснения *C. glabrata* (43,8% в 2015г и 10,8% в 2017г) штаммами *C. krusei* (0% в 2015г и 13,5% в 2017г) и *C. tropicalis* (0% в 2015г и 18,9% в 2017г), в материалах, полученных из ротоглотки и кишечника.

2. Обнаружено, что *C. albicans* выделенная у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, из ротоглотки и кишечника, конкурирует с другими видами грибов данного рода – *C. glabrata* ($r = -0,418$), *C. tropicalis* ($r = -0,529$) и *C. krusei* ($r = -0,475$), о чем свидетельствует отрицательная связь средней силы по данным корреляционного анализа.

3. Установлено, что в образцах 2017г. *Candida* spp, выделенных у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, демонстрировали большую тенденцию к образованию ассоциаций, что подтверждается возрастанием среднего количество изолятов, полученных от одного пациента с 1,29 в 2015 г. до 1,95 в 2017 г., т.е. увеличилось в 1,51 раза, а также тем, что если в 2015 г. лишь у 25,0% пациентов обнаруживались ассоциации грибов рода *Candida*, то в 2017 г. их доля возросла в 2,10 раза и достигла 52,6%. При этом наибольшую долю среди ассоциаций составляли бинарные ассоциации в различном сочетании.

4. Показано, что выделенные изоляты грибов рода *Candida*, полученные от у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, в большинстве случаев (60%), представляли собой гомогенные ассоциации, состоящие из *Candida albicans*, как в 2015, так и в 2017гг. В то время как гетерогенные популяции были многовариантными и в их состав входили различные представители рода *Candida* в разнообразных сочетаниях. Таким образом, анализ компонентной структуры ассоциаций показал, что их гомогенные варианты, включающие микробы только одного вида, встречаются в 1,60 раза чаще, чем гетерогенные.

5. Анализ динамики видового состава грибов рода *Candida*, выделенных

у ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, в ходе лечения выявил его существенное изменение: отмечено сокращение пула *C. albicans* в 6,18 раз ($p < 0,05$), увеличение доли *C. glabrata* в 1,87 раз ($p < 0,05$), а также появление в единичном случае *C. krusei*.

6. Практически все штаммы *Candida spp.* выделенные из ротоглотки, оказались чувствительны к полиенам, причём они были чувствительны также к нистатину во все периоды наблюдения.

7. Полученные из кишечника штаммы продемонстрировали высокую чувствительность к полиенам и устойчивость к триазолам, как в 2015, так и в 2017 гг.

8. Выделенные штаммы, полученные от ВИЧ-инфицированных пациентов на стадии 3, 4А, 4Б, 4В, оказались устойчивы к производным триазола, но максимальный эффект флуконазола установлен в отношении *C. glabrata* (53,3%). Частота резистентности к итраконазолу превышала 90% у всех представителей рода *Candida spp.*, как в 2015, так и в 2017 гг.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Для повышения эффективности противокандидозной терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов целесообразно критически оценивать шаблонный подход к лечению кандидоза любой локализации препаратами азолового ряда и своевременно назначать, и оценивать результаты исследования чувствительности *Candida spp.* к антимикотическим препаратам.

2. Необходим систематический мониторинг антимикотической чувствительности *Candida. spp.* Данные о чувствительности являются полезными при оценке возможных причин неэффективности терапии и безусловно важны для оперативной коррекции схемы медикаментозной терапии.

3. Представляется перспективным индивидуальный подбор антимикотической терапии в зависимости от локализации патологического процесса и микробиологической характеристики каждого из изолятов *Candida spp.*

4. В случае поверхностных микозов целесообразно применение нистатина, к которому чувствительно большинство штаммов, либо назначение эхинокандинов при неэффективности стандартных схем.

СПИСОК СОКАЩЕНИЙ

anti-HBcore IgM, IgG - антитела классов IgM и IgG к HB-core антигену вируса гепатита В

antiHBe - антитела к HBe-антигену вируса гепатита В

anti-HBs - антитела к HBs-антигену вируса гепатита В

anti-HCV IgM, IgG - антитела классов IgM и IgG к вирусу гепатита С

anti-HDV IgM, IgG - антитела классов IgM и IgG к вирусу гепатита D

CD4 - cluster of differentiation 4

IgA - иммуноглобулины класса А

IgM- иммуноглобулины класса М

МБТ - *Mycobacterium tuberculosis* (лат.)

VZV - Varicella Zoster Virus

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АРТ – антиретровирусная терапия

АСТ - аспартатаминотрансфераза

ВГ 6 типа – вирус герпеса 6 типа

ВИЧ - вирус иммунодефицита человека

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ВПГ1,2 типа – вирус простого герпеса 1,2 типа

ВЭБ - вирус Эпштейна-Барр

ГЭБ - гематоэнцефалический барьер

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт ЖКТ

ИБ – иммунноблот

ИФА - иммуноферментный анализ

КВ - кандидозный вульвовагинит

КЭ - кандидозный эзофагит

ОФК - орофарингеальный кандидоз

ПАВ – психоактивные вещества

ПЦР - полимеразная цепная реакция

РНК - рибонуклеиновая кислота

Candida spp. - *Candida speciales*

СМЖ – спинномозговая жидкость

СМП – скорая медицинская помощь

СПИД - синдром приобретённого иммунного дефицита

ТБЦ - туберкулез

ХВГВ – хронический вирусный гепатит В

ХВГС – хронический вирусный гепатит С

ЦМВ - цитомегаловирусная инфекция

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. AIDSinfo Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents // Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. 2017.
2. Alczuk S. de S.D. [и др.]. Effect of highly active antiretroviral therapy on vaginal *Candida* spp. isolation in HIV-infected compared to HIV-uninfected women. // Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 2015. № 2 (57). С. 169–74.
3. Alexander B.D. [и др.]. Increasing Echinocandin Resistance in *Candida glabrata*: Clinical Failure Correlates With Presence of FKS Mutations and Elevated Minimum Inhibitory Concentrations // Clinical Infectious Diseases. 2013. № 12 (56). С. 1724–1732.
4. Anwar K.P., Malik A., Subhan K.H. Profile of candidiasis in HIV infected patients. // Iranian journal of microbiology. 2012. № 4 (4). С. 204–9.
5. Araújo D., Henriques M., Silva S. Portrait of *Candida* Species Biofilm Regulatory Network Genes // Trends in Microbiology. 2017. Т. 25. № 1. 62–75 с.
6. Awoyeni A. [и др.]. Isolation and evaluation of *Candida* species and their association with CD4+ T cells counts in HIV patients with diarrhoea. // African health sciences. 2017. № 2 (17). С. 322–329.
7. Ben-Ami R. [и др.]. Heteroresistance to Fluconazole Is a Continuously Distributed Phenotype among *Candida glabrata* Clinical Strains Associated with In Vivo Persistence. // mBio. 2016. № 4 (7).
8. Bonacini M., Young T., Laine L. The causes of esophageal symptoms in human immunodeficiency virus infection. A prospective study of 110 patients. // Archives of internal medicine. 1991. № 8 (151). С. 1567–72.
9. Buttò S. [и др.]. Suggested strategies for the laboratory diagnosis of HIV infection in Italy. // Annali dell'Istituto superiore di sanita. 2010. № 1 (46). С. 34–41.
10. Cartledge J.D., Midgely J., Gazzard B.G. Itraconazole solution: higher serum drug concentrations and better clinical response rates than the capsule formulation in acquired immunodeficiency syndrome patients with candidosis. // Journal of clinical

pathology. 1997. № 6 (50). С. 477–80.

11. Cartledge J.D., Midgley J., Gazzard B.G. Itraconazole cyclodextrin solution: The role of in vitro susceptibility testing in predicting successful treatment of HIV-related fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible oral candidosis // AIDS. 1997. № 2 (11). С. 163–168.

12. Clark-Ordóñez I. [и др.]. Candida species diversity and antifungal susceptibility patterns in oral samples of HIV/AIDS patients in Baja California, Mexico. // Medical mycology. 2017. № 3 (55). С. 285–294.

13. Daniell H.W. Acid suppressing therapy as a risk factor for *Candida* esophagitis // Diseases of the Esophagus. 2016. № 5 (29). С. 479–483.

14. Das P.P. [и др.]. Species distribution & antifungal susceptibility pattern of oropharyngeal Candida isolates from human immunodeficiency virus infected individuals. // The Indian journal of medical research. 2016. № 4 (143). С. 495–501.

15. Dodd C.L. [и др.]. Oral candidiasis in HIV infection: pseudomembranous and erythematous candidiasis show similar rates of progression to AIDS. // AIDS (London, England). 1991. № 11 (5). С. 1339–43.

16. Enoch D.A. [и др.]. The changing epidemiology of invasive fungal infections // Methods in Molecular Biology. 2017. (1508). С. 17–65.

17. Enwuru C.A. [и др.]. Fluconazole resistant opportunistic oro-pharyngeal Candida and non-Candida yeast-like isolates from HIV infected patients attending ARV clinics in Lagos, Nigeria. // African health sciences. 2008. № 3 (8). С. 142–8.

18. Epstein J.B., Truelove E.L., Izutzu K.T. Oral candidiasis: pathogenesis and host defense // Rev Infect Dis. 1984. № 1 (6). С. 96–106.

19. Feigal D.W. [и др.]. The prevalence of oral lesions in HIV-infected homosexual and bisexual men: three San Francisco epidemiological cohorts // AIDS. 1991. № 5 (5). С. 519–525.

20. Flowers S.A. [и др.]. Contribution of Clinically Derived Mutations in *ERG11* to Azole Resistance in *Candida albicans* // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2015. № 1 (59). С. 450–460.

21. Fluit A.C. [и др.]. Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence

of clinical blood isolates in Europe from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998. // *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2000. № 3 (30). С. 454–60.

22. Gago S. [и др.]. *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* virulence in the non-conventional host *Galleria mellonella* // *Virulence*. 2014. № 2 (5). С. 278–285.

23. Gaitán-Cepeda L.A., Sánchez-Vargas O., Castillo N. Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy era. A literature analysis // *International Journal of STD & AIDS*. 2015. № 9 (26). С. 625–632.

24. Greenberg R.G., Berger T.G. Nail and mucocutaneous hyperpigmentation with azidothymidine therapy // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1990. № 2 (22). С. 327–330.

25. Hartz A.S., Cury A. E. C.O.F. *Candida albicans* from aids patients, Susceptibility in vitro to antifungal agents // *Rev.Microbiol*. 1992. № 2 (23). С. 133–135.

26. Hoffmann C. [и др.]. Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents. // *PloS one*. 2013. № 6 (8). С. e66019.

27. Holmstrup P S.L. *Acute and AIDS-related oral candidosis*. London, 1990.

28. Hoog G.S. de, Guarro J. G.J. et al. *Atlas of clinical fungi: electronic version 3.1*. // 2011.

29. Huseyin C.E. [и др.]. Forgotten fungi—the gut mycobiome in human health and disease // *FEMS Microbiology Reviews*. 2017. № 4 (41). С. 479–511.

30. JJ P. *Oral candidiasis in HIV infection* / P. JJ, 1988. 23 с.

31. Johnson E.M. [и др.]. Emergence of azole drug resistance in *Candida* species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 1995. № 1 (35). С. 103–14.

32. Katirae F., Teifoori F., Soltani M. Emergence of Azoles Resistance *Candida* species in Iranian AIDS defined patients with oropharyngeal candidiasis // *Current Medical Mycology*. 2015. № 3 (1). С. 11–16.

33. Katz M.H. [и др.]. Progression to AIDS in HIV-infected homosexual and

bisexual men with hairy leukoplakia and oral candidiasis // AIDS. 1992. № 1 (6). С. 95–100.

34. Kelly M.N. [и др.]. Memory CD4+ T cells are required for optimal NK cell effector functions against the opportunistic fungal pathogen *Pneumocystis murina*. // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 2013. № 1 (190). С. 285–95.

35. Klein R.S. [и др.]. Oral candidiasis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. // The New England journal of medicine. 1984. № 6 (311). С. 354–8.

36. Kraneveld E.A. [и др.]. The relation between oral *Candida* load and bacterial microbiome profiles in Dutch older adults. // PloS one. 2012. № 8 (7). С. e42770.

37. Kwamin F. [и др.]. Distribution of *Candida* species among HIV-positive patients with oropharyngeal candidiasis in Accra, Ghana. // Journal of infection in developing countries. 2013. № 1 (7). С. 41–5.

38. Li X. [и др.]. Oropharyngeal *Candida* colonization in human immunodeficiency virus infected patients // APMIS. 2013. № 5 (121). С. 375–402.

39. Lima G.M.E. [и др.]. Identification and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from the urine of patients in a university hospital in Brazil. // Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 2017. (59). С. e75.

40. Liu F. [и др.]. Sequential Dysfunction and Progressive Depletion of *Candida albicans*-Specific CD4 T Cell Response in HIV-1 Infection. // PLoS pathogens. 2016. № 6 (12). С. e1005663.

41. Martins N. [и др.]. Candidiasis: Predisposing Factors, Prevention, Diagnosis and Alternative Treatment // Mycopathologia. 2014. № 5–6 (177). С. 223–240.

42. Mas J., PinA E. Disappearance of Nystatin Resistance in *Candida* Mediated by Ergosterol // Microbiology. 1980. № 1 (117). С. 249–252.

43. Mathé L., Dijck P. Van Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms // Current Genetics. 2013. № 4 (59). С. 251–264.

44. McCarthy G.M. [и др.]. Factors associated with increased frequency of HIV-related oral candidiasis // J Oral Pathol Med. 1991. № 7 (20). С. 332–336.

45. McCarthy G.M. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. A

review // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1992. Т. 73. № 2. 181–186 с.

46. McIlroy M.A. Failure of fluconazole to suppress fungemia in a patient with fever, neutropenia, and typhlitis. // *The Journal of infectious diseases*. 1991. № 2 (163). С. 420–1.

47. Méar J.-B. [и др.]. *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa* interactions: More than an opportunistic criminal association? // *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2013. № 4 (43). С. 146–151.

48. Menezes R. de P. [и др.]. Related factors for colonization by candida species in the oral cavity of HIV-infected individuals. // *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. 2015. № 5 (57). С. 413–9.

49. Mikulska M., del Bono V., Ratto S. V.C. Occurrence, presentation and treatment of candidemia // *Expert Review of Clinical Immunology*. 2012. (8). С. 755–765.

50. Moore RD C.R. Natural history of opportunistic disease in an HIV-infected urban clinical cohort. 1996. 124:633-42. с.

51. Muadcheingka T., Tantivitayakul P. Distribution of *Candida albicans* and non-*albicans* *Candida* species in oral candidiasis patients: Correlation between cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities // *Archives of Oral Biology*. 2015. № 6 (60). С. 894–901.

52. Mukherjee P.K., Chandra J. *Candida* Biofilms: Development, Architecture, and Resistance // *Microbiology Spectrum*. 2015. № 4 (3).

53. Mulu A. [и др.]. Frequent detection of ‘azole’ resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia // *BMC Infectious Diseases*. 2013. № 1 (13). С. 82.

54. Mushi M.F. [и др.]. High Oral Carriage of Non-*albicans* *Candida* spp. among HIV-infected individuals // *International Journal of Infectious Diseases*. 2016. (49). С. 185–188.

55. Nash A.K. [и др.]. The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort. // *Microbiome*. 2017. № 1 (5). С. 153.

56. Negri M. [и др.]. Insights into *Candida tropicalis* nosocomial infections and

virulence factors // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2012. № 7 (31). С. 1399–1412.

57. Neville B.A. *Candida albicans* commensalism in the gastrointestinal tract // *FEMS Yeast Research*. 2015. № 7 (15). С. fov081.

58. Owotade F.J., Patel M. Virulence of oral *Candida* isolated from HIV-positive women with oral candidiasis and asymptomatic carriers // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2014. № 4 (118). С. 455–460.

59. Oxman D.A. [и др.]. *Candidaemia* associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern? // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010. № 7 (65). С. 1460–1465.

60. Pang W. [и др.]. Prevalence of Opportunistic Infections and Causes of Death among Hospitalized HIV-Infected Patients in Sichuan, China // *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2018. № 3 (244). С. 231–242.

61. Pappas P.G. [и др.]. Guidelines for Treatment of Candidiasis // *Clinical Infectious Diseases*. 2004. № 2 (38). С. 161–189.

62. Patel P.K. [и др.]. The Changing Epidemiology of Oropharyngeal Candidiasis in Patients with HIV/AIDS in the Era of Antiretroviral Therapy // *AIDS Research and Treatment*. 2012. (2012). С. 1–5.

63. Paula S.B. de [и др.]. Oral *Candida* colonization in HIV-infected patients in Londrina-PR, Brazil: antifungal susceptibility and virulence factors. // *Journal of Infection in Developing Countries*. 2015. № 12 (9). С. 1350–9.

64. Pemán J., Quindós G. Aspectos actuales de las enfermedades invasoras causadas por *Candida* y otros hongos levaduriformes // *Revista Iberoamericana de Micología*. 2016. № 3 (33). С. 133–139.

65. Pfaller M.A. [и др.]. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-*albicans* species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004-2008. // *PloS one*. 2014. № 7 (9). С. e101510.

66. Pfaller M.A., Diekema D.J. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution

- methods, 2010 to 2012. // *Journal of clinical microbiology*. 2012. № 9 (50). С. 2846–56.
67. Polke M., Hube B., Jacobsen I.D. *Candida Survival Strategies 2015*. 139–235 с.
68. Pons V., Greenspan D., Debruin M. Therapy for oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients: a randomized, prospective multicenter study of oral fluconazole versus clotrimazole troches. The Multicenter Study Group. // *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 1993. № 12 (6). С. 1311–6.
69. Powderly W.G., Robinson K., Keath E.J. Molecular typing of *Candida albicans* isolated from oral lesions of HIV-infected individuals // *AIDS*. 1992. № 1 (6). С. 81–84.
70. Prescott R.J., Harris M., Banerjee S.S. Fungal infections of the small and large intestine. // *Journal of clinical pathology*. 1992. № 9 (45). С. 806–811.
71. Reinhardt S.W. [и др.]. AIDS-Defining Illnesses at Initial Diagnosis of HIV in a Large Guatemalan Cohort. // *Open forum infectious diseases*. 2017. № 4 (4). С. ofx249.
72. Rex J.H. [и др.]. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and candida infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. // *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1997. № 2 (24). С. 235–47.
73. Rubaihayo J. [и др.]. Frequency and distribution patterns of opportunistic infections associated with HIV/AIDS in Uganda. // *BMC research notes*. 2016. № 1 (9). С. 501.
74. Samaranayake L.P. Oral mycoses in HIV infection // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1992. № 2 (73). С. 171–180.
75. Sánchez-Vargas L.O. [и др.]. Oral *Candida* isolates colonizing or infecting human immunodeficiency virus-infected and healthy persons in Mexico. // *Journal of clinical microbiology*. 2005. № 8 (43). С. 4159–62.
76. Santiwongkarn P. [и др.]. Prevalence of oral *Candida* carriage in Thai

adolescents // *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 2012. № 1 (3). С. 51–55.

77. Santos Abrantes P.M. dos, McArthur C.P., Africa C.W.J. Multi-drug resistant oral *Candida* species isolated from HIV-positive patients in South Africa and Cameroon // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014. № 2 (79). С. 222–227.

78. Schuman P. [и др.]. Weekly fluconazole for the prevention of mucosal candidiasis in women with HIV infection. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. // *Annals of internal medicine*. 1997. № 9 (126). С. 689–96.

79. Schuman P. [и др.]. Mucosal candidal colonization and candidiasis in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. HIV Epidemiology Research Study (HERS) Group. // *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1998. № 5 (27). С. 1161–7.

80. Selik R.M., Starcher E.T., Curran J.W. Opportunistic diseases reported in AIDS patients: frequencies, associations, and trends. // *AIDS (London, England)*. 1987. Т. 1. № 3. 175–82 с.

81. Silva B.V. da [и др.]. Species Distribution, Virulence Factors, and Antifungal Susceptibility Among *Candida parapsilosis* Complex Isolates Recovered from Clinical Specimens // *Mycopathologia*. 2015. № 5–6 (180). С. 333–343.

82. Simon J. [и др.]. Echinocandins in invasive candidiasis // *Mycoses*. 2013. № 6 (56). С. 601–609.

83. Smith D.E. [и др.]. Itraconazole versus ketaconazole in the treatment of oral and oesophageal candidosis in patients infected with HIV. // *AIDS (London, England)*. 1991. № 11 (5). С. 1367–71.

84. Sociedade Brasileira de Infectologia. A.L. [и др.]. The Brazilian journal of infectious diseases. / A.L. Sociedade Brasileira de Infectologia., T. Guimarães, L.F.A. Camargo, R. Richtmann, F. de Queiroz-Telles [и др.], Elsevier Editora Ltda, 2013. 283-312 с.

85. Stock I. Fungal diseases of vulva and vagina caused by *Candida* species // *Medizinische Monatsschrift fur Pharmazeuten*. 2010. № 9 (33). С. 324–326.

86. Stuehler C. [и др.]. Immune recovery in HIV-infected patients after *Candida*

esophagitis is impaired despite long-term antiretroviral therapy // AIDS. 2016. № 12 (30). С. 1923–1933.

87. Tachikawa N., Yasuoka A., Oka S. Improvement of onychomycosis without antifungal therapy after initiation of highly active anti-retroviral therapy (HAART) in an HIV-infected patient. // Japanese journal of infectious diseases. 1999. № 6 (52). С. 245–6.

88. Taff H.T. [и др.]. Mechanisms of *Candida* biofilm drug resistance // Future Microbiology. 2013. № 10 (8). С. 1325–1337.

89. Telenti A., Zanger U.M. Pharmacogenetics of Anti-HIV Drugs // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2008. № 1 (48). С. 227–256.

90. Thanyasrisung P. [и др.]. Oral *Candida* carriage and immune status in Thai human immunodeficiency virus-infected individuals // Journal of Medical Microbiology. 2014. № Pt_5 (63). С. 753–759.

91. Theodoros K. [и др.]. Successful treatment of azole-resistant *Candida* spondylodiscitis with high-dose caspofungin monotherapy // Rheumatology International. 2012. № 9 (32). С. 2957–2958.

92. Tumbarello M. [и др.]. Analysis of the risk factors associated with the emergence of azole resistant oral candidosis in the course of HIV infection // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1996. № 4 (38). С. 691–699.

93. Valdivia A. [и др.]. Restoring Cytokine Balance in HIV-Positive Individuals with Low CD4 T Cell Counts. // AIDS research and human retroviruses. 2017. № 9 (33). С. 905–918.

94. Vasicek E.M. [и др.]. UPC2 is universally essential for azole antifungal resistance in *Candida albicans*. // Eukaryotic cell. 2014. № 7 (13). С. 933–46.

95. Vazquez J.A. [и др.]. Randomized, Comparative, Double-Blind, Double-Dummy, Multicenter Trial of Miconazole Buccal Tablet and Clotrimazole Troches for the Treatment of Oropharyngeal Candidiasis: Study of Miconazole Lauriad[®] Efficacy and Safety (SMiLES) // HIV Clinical Trials. 2010. № 4 (11). С. 186–196.

96. Viljoen J. [и др.]. A phase 2, randomized, double-blind, multicenter trial to evaluate the safety and efficacy of three dosing regimens of isavuconazole compared

with fluconazole in patients with uncomplicated esophageal candidiasis. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015. № 3 (59). С. 1671–9.

97. Warriar S.A., Sathasivasubramanian S. Human immunodeficiency virus induced oral candidiasis. // *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2015. № Suppl 2 (7). С. S812-4.

98. Whaley S.G. [и др.]. UPC2A is required for high-level azole antifungal resistance in *Candida glabrata*. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014. № 8 (58). С. 4543–54.

99. Wilcox C.M. [и др.]. Fluconazole compared with endoscopy for human immunodeficiency virus- infected patients with esophageal symptoms // *Gastroenterology*. 1996. № 6 (110). С. 1803–1809.

100. Xu Y. [и др.]. ERG11 mutations and expression of resistance genes in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates // *Archives of Microbiology*. 2015. № 9 (197). С. 1087–1093.

101. Yeh C.K. [и др.]. Oral defense mechanisms are impaired early in HIV-1 infected patients. // *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 1988. № 4 (1). С. 361–6.

102. Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Горшкова Г.И. Диагностика микозов / Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Горшкова Г.И., под ред. СПбМАПО, СПб., 2006. 186 с.

103. Афтаева Л.Н., Мельников В.Л. В.К.А. Особенности клинических проявлений ВИЧ-инфекции. Москва: Общество с ограниченной ответственностью «Актуальность.РФ», 2017. 18–19 с.

104. Баранов А.А. Методы нормализации пищеварения у детей с дисбактериозом (пособие для врачей под ред. академика РАМН А.А.Баранова) / Баранов А.А., Баранов А.-е изд., Москва., 2005. 38-39 с.

105. Баринова А.Н., Плавинский С.Л., Зайцева Е.Е. Микозы у ВИЧ-инфицированных больных. // *Проблемы медицинской микологии*, Издательство: Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург). 2012. № 2 (14). С. 34–38.

106. Белобородова Н.В., Вострикова Т.Ю. Мониторинг грибковых инфекций в ОРИТ // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2009. № 11 (1). С. 22–30.

107. Бурова С.А., Лессовой В.С., Липницкий А.В., Очкурова О.М. Кандидоз ротовой полости // Проблемы мед. микологии. 2003. № 1 (5). С. 21–26.

108. Веселов А.В. К.Р.С. Инвазивный кандидоз: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, терапии и профилактики у различных категорий пациентов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016. № 18 (2). С. 21–23.

109. Волчкова Е., Шатохин А., Колаева Н. Значимость клинических проявлений поражений ротовой полости для верификации диагноза ВИЧ-инфекции // Врач. 2013. (5). С. 83–86.

110. Гайнулин Ш.М., Гребенюк В.Н., Глебова Л.И., Кулешов А.Н., Комлев М.В. Распространенные кандидоз и пиодермия, ассоциированные с ВИЧ-инфекцией. // Клиническая дерматология и венерология. 2012. № 6 (10). С. 29–32.

111. Гилман А.Г. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману / Гилман А.Г., под ред. Гилман А.Г., Москва: Практика, 2006. 1850 с.

112. Гяургиева О.Х. Кандидоз кожи при ВИЧ-инфекции. // Успехи современной науки и образования. 2016. № 3 (1). С. 20–22.

113. Донгак Д.А., Карноухова О.Г., Коган Г.Ю., Распопина Л.А., Ботвинкин А.Д. Частота выделения и лекарственная резистентность грибов рода *Candida* от больных ВИЧ-инфекцией в Иркутске // Сибирский медицинский журнал (Иркутск) Издательство: Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск). 2013. № 5 (120). С. 57–59.

114. Елинов Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека // Проблемы медицинской микологии. 2002. № 4 (4). С. 37.

115. Ермак Т.Н., Кравченко А.В. Ш.В.И. Вторичные заболевания у больных ВИЧ-инфекцией в России // // Российская науч.-практ. конф. «Инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами», сб. материалов. С. 32–33.

116. Зверев В.В., Бойченко М.Н. Б.А.С. и др Основы микробиологии и иммунологии / Б.А.С. и др Зверев В.В., Бойченко М.Н., Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 368 с.

117. Ивашкин В.Т. Гастроэнтерология XXI века // РМЖ. 2000. № 17 (8). С. 697–703.

118. Кулешов И.В., Лин В.Н., Цабак Н.Н., Кириуцов А.М. Дерматологические аспекты ВИЧ-инфекции (собственные наблюдения) // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. 2013. № 49 (2). С. 145–148.

119. Лахтин М.В., Алешкин В.А., Лахтин В.М. Поведение патогенных грибов рода *Candida* в присутствии пробиотических лектинов. // Астраханский медицинский журнал. 2011. (2). С. 73–76.

120. Лессовой В.С., Липницкий А.В., Очкурова О.М. Микозы пищеварительного тракта // Проблемы мед. микологии. 2004. № 2 (6). С. 19–23.

121. Мазус А.И., Каминский Г.Д. З.В.Н. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению ВИЧ-инфекции у взрослых / З.В.Н. и др. Мазус А.И., Каминский Г.Д., Москва:, 2014. 33-36 с.

122. Макеева И.М. [и др.]. Препарат, содержащий стафилококковый бактериофаг в качестве препарата для лечения кандидоза // 2009.

123. Минздрав РФ Форма федерального государственного статистического наблюдения №61 2017.

124. Минздравсоцразвития России приказ Минздравсоцразвития России от 09.07.2007г. № 474 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)». 2007.

125. Минздравсоцразвития России приказ Минздравсоцразвития России от 09.07.08г. № 475 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью вызванной, вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) при оказании специализированной медицинской помощи)» 2008.

126. Митрофанов В.С. Системные антифунгальные препараты // Проблемы медицинской микологии. 2001. № 2 (3). С. 6–14.

127. Митрохин С.Д., Ардатская Е.В., Никушин Е.В. Комплексная диагностика, лечение и профилактика дисбактериоза (дисбиоза) кишечника в клинике внутренних болезней: метод. рекомендации. Москва, 1997.

128. Михайлова Ю. В., М. В. Руднева Г.А.Ч. Идентификация возбудителей микозов с помощью секвенирования ДНК // Проблемы медицинской микологии. 2013. № 2 (15). С. 105–106.

129. Михед Т.М., Красавцев Е.Л. Р.Д.Д. Кандидоз ротовой полости у ВИЧ-инфицированных // Проблемы здоровья и экологии. 2010. № 1 (23). С. 43–47.

130. Нарзуллаев Н.У., Сулейманов С.Ф. В.У.Н. Лабораторная диагностика кандидоза ротоглотки у ВИЧ-инфицированных больных, получавших АРВ-терапию. // Российская ринология. 2013. № 2 (21). С. 2.

131. Несвижский Ю.В., Богданова Е.А., Зверев В.В. Колонизация *Staphylococcus aureus* биотопов желудочно-кишечного тракта крыс // Вестник РАМН. 2009. № 4. С. 28–30.

132. Покровский В.В. ВИЧ-инфекция и СПИД: Национальное руководство. / Покровский В.В., Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 608 с.

133. Покровский В.В. Эпидемиологическая ситуации по ВИЧ-инфекции в России. 2015.

134. Покровский В.В. Ю.О.Г. [и др.]. Сборник нормативно-правовых актов и методических документов по вопросам диагностики, лечения, эпидемиологического и поведенческого надзора ВИЧ/СПИД и сопутствующих заболеваний / Ю.О.Г. Покровский В.В., Б. Кравченко А.В., Беляева В.В., Ермак Т.Н., Шахгильдян В.И., Козырина Н.В., Б.Е.В. Е.В., Нарсия Р.С., Ладная Н.Н., Круглова А.И., Шипулин Г.А., К. Серебровская Л.В., Голубцова Е.В., Фролова О.П., Ганкина Н.Ю., Китаева Е.В., В.Г., Голиусова М.Д., под ред. М. и социального развития Р. и ФСИН, 2007. 296 с.

135. Покровский В.И. Классификация и клиническая картина ВИЧ-инфекции. 2006.

136. Полянская Л.Н. Особенности проявлений ВИЧ-инфекции в полости рта. // Современная стоматология. Издательство: ЮпокомИнфоМед (Минск).

2017. № 66 (1). С. 60–63.

137. Прилепская В.Н. Вульвовагинальный кандидоз: клиника, диагностика, принципы терапии / Прилепская В.Н., Москва: Гэотар Медиа, 2010. 80 с.

138. Рахманова А.Г., Бубочкин А.Б., Виноградова А.Н., Дмитриева М.И. А.А.Д. Кандидоз у больных с ВИЧ/СПИДом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2015. № 1 (7). С. 60–68.

139. Роспотребнадзор Форма мониторинга ПНП Здоровье Роспотребнадзора. 2014.

140. Сидоренко С.В. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии под редакцией Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова С.Н.К. Механизмы резистентности микроорганизмов / С.Н.К. Сидоренко С.В. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии под редакцией Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, Москва:, 2002. 43 с.

141. Собкова Ж.В. П.Е.. Видовой состав и чувствительность к антимикотикам *Candida spp.*, выделенных у пациентов отделения рефимации и интенсивной терапии // «Главный военный клинический госпиталь» МО Украины, Киев, Медицинские новости. 2014. № 8. С. 101.

142. ТереховаТ. Н., Козловская Л. В. К.Л.П. Оральный кандидоз у детей / К.Л.П. ТереховаТ. Н., Козловская Л. В., Минск: БГМУ, 2008. 6 с.

143. Толкачева Т. В. Частота выделения и видовой спектр дрожжевых грибов в кишечнике у больных гемобластозами // Успехи медицинской микологии. 2003. (1). С. 30–32.

144. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе, Роспотребнадзора. Спид.Ф.Ц.Н. эпидемиологии Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2017 г. 2017.

145. Федеральным научно-методическим центром по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. федеральное государственное статистическое наблюдение Минздравсоцразвития РФ Форма № 61 Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 30 июня 2017 г. 2017.

146. Филиппова В.С. Р.К.И. Особенности микозов кожи и ее придатков у пациентов с ВИЧ-инфекцией: эпидемиология, этиология, патогенез, клинические проявления. // Клиническая дерматология и венерология. 2014. № 6 (12). С. 47–53.
147. Чарушин А.О., Еловиков А.М., Чарушина И.П., Воробьева Н.Н. Характерные клинические проявления орофарингеального кандидоза у пациентов на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. // Российская оториноларингология. 2017. № 89 (4). С. 97–101.
148. Шахгильдян В.И., Васильева Т.Е., Перегудова А.Б. Спектр, особенности клинического течения, диагностика оппортунистических и сопутствующих заболеваний у ВИЧ-инфицированных больных инфекционного стационара Москвы // Терапевтический архив. 2008. № 80. С. 10–17.
149. Шевяков М.А., Медведева Т.В., Тимошенко Н.А. Диагностика и лечение перианального кандидоза // Проблемы медицинской микологии. 2004. № 2 (6). С. 131–132.
150. Шевяков М.А. Антибиотик ассоциированная диарея и кандидоз кишечника: возможности лечения и профилактики // Антибиотики и химиотерапия. 2004. № 49 (10). С. 26–29.
151. Шевяков М.А. А.Е.Б. Кандидозный дисбиоз, как особая форма дисбиоза кишечника под ред. СпецЛит, СПб., 2007. 238 с.
152. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание, т. 1-2. Москва, 1998.
153. Юрин О.Г. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / под ред. Акад. РАМН В.В. Покровского / Юрин О.Г., Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 608 с.