

5. Boyko E.R., Evdokimov V.G., Potolitsyna N.N., Kaneva A.M., Varlamova N.G., Kochan T.I. et al. The pituitary-thyroid axis and oxygen consumption parameters under the conditions of chronic cold exposure in the North. *Fiziologiya cheloveka*. 2008; 34 (2): 93–8. (in Russian)
6. Popkova V.A., Tipisova E.V., Yur'ev Yu.Yu. Endocrine profile specific at pulp and paper industry workers in Arkhangelsk. *Ekologiya cheloveka*. 2009; (3): 26–30. (in Russian)
7. Dobrodeeva L.K., Sen'kova L.V., Lyutfaliev G.T., Kornienko G.B., Prelovskaya I.B., Dobrodeev G.V. Levels of autoantibodies in healthy subjects. *Fiziologiya cheloveka*. 2006; 32 (1): 99–107. (in Russian)
8. Lyutfaliev G.T., Churkina T.S. Autoantibodies' role in adaptive mechanisms of regulation of functional activity of thyroid hormone and thyrotropin hormone of hypophysis in northern inhabitants. *Ekologiya cheloveka*. 2010; (10): 33–6. (in Russian)
9. Repina V.P. Influence different concentration of catecholamines on the functions of immunocompetent cells. *Ekologiya cheloveka*. 2008; (2): 30–3. (in Russian)
10. Maayan M.L., Sellitto R.V., Volpert E.M. Dopamine and L-dopa: inhibition of thyrotropin-stimulated thyroidal thyroxine release. *Endocrinology*. 1986; 118 (2): 632–6.
11. Sapronov N.S., Fedotova Yu.O. *Hormones of the Hypothalamic-pituitary-thyroid System and the Brain [Gormony gipotalamo-gipofizarno-tireoidnoy sistemy i mozg]*. St. Petersburg: Lan<sup>2</sup>; 2002. (in Russian)
12. Melander A. Aminergic regulation of thyroid activity: Importance of the sympathetic innervation and of the mass cells of the thyroid gland. *Acta Med. Scand*. 1977; 201 (4): 257–62.
13. Levey G.S., Klein I. Catecholamine-thyroid hormone interactions and the cardiovascular manifestations of hyperthyroidism. *Am. J. Med*. 1990; 88 (6): 642–6.
14. Gorenko I.N. Dependence of thyroid hormone levels on dopamine concentration in blood of men from Arkhangelsk and Nes (Nenets Autonomous area). *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; (2): 122–4. (in Russian)
15. Trukhacheva N.V. *Mathematical Statistics in Biomedical Research Using Statistica Package [Matematicheskaya statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s primeneniem paketa Statistica]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (in Russian)
16. Nasledov A.D. *Mathematical Methods of Psychological Research. Analysis and Data Interpretation [Matematicheskie metody psikhologicheskogo issledovaniya. Analiz i interpretatsiya dannykh]*. St. Petersburg: Rech<sup>2</sup>; 2012. (in Russian)
17. Gilman A.G., ed. *Clinical Pharmacology by Goodman and Gilman. Volume 1 [Klinicheskaya farmakologiya po Gudmanu i Gilmanu. Tom 1]*. Moscow: Praktika; 2006. (in Russian)
18. Kitaeva Yu.N., Tipisova E.V. Functional activity of the pancreatic gland in local and native wandering population of the European North. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2011; 13 (1–7): 1714–6. (in Russian)
19. Sunahara R.K., Niznik H.B., Weiner D.M., Stormann T.M., Brann M.R., Kennedy J.L. et al. Human dopamine D1 receptor encoded by an intronless gene on chromosome 5. *Nature*. 1990; 347 (6288): 80–3.

Поступила 11.10.16

Принята к печати 29.11.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.282.015.8

Глушакова А.М.<sup>1</sup>, Качалкин А.В.<sup>1</sup>, Ахапкина И.Г.<sup>2</sup>

## МОНИТОРИНГ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИМИКОТИКАМ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», 119991, Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», 105064, Москва

*Диско-диффузным методом протестирована чувствительность к антимикотикам 15 штаммов грибов рода Candida, выделенных из природных субстратов, и 25 клинических изолятов. Грибы относились к видам C. albicans, C. glabrata, C. guilliermondii, C. parapsilosis, C. tropicalis. Обнаружена высокая чувствительность клинических изолятов к флуконазолу, нистатину, клотримазолу, итраконазолу, амфотерицину В за исключением штаммов C. glabrata 5 и C. tropicalis 4, которые показали средний уровень чувствительности. Продемонстрирована высокая чувствительность к антимикотикам штаммов, выделенных из природных образцов, за исключением 4 резистентных штаммов C. parapsilosis. Можно предположить, что до четверти природных штаммов грибов рода Candida могут обладать резистентностью к антимикотикам, вызывая разные формы микотических поражений.*

**Ключевые слова:** дрожжи; Candida; флуконазол; микозы; чувствительность к антимикотикам; оппортунистические инфекции.

**Для цитирования:** Глушакова А.М., Качалкин А.В., Ахапкина И.Г. Мониторинг чувствительности к антимикотикам природных штаммов и клинических изолятов дрожжевых грибов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (5): 296–299. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-5-296-299>

Glushakova A.M.<sup>1</sup>, Kachalkin A.V.<sup>1</sup>, Akhapkina I.G.<sup>2</sup>

THE MONITORING OF SENSITIVITY OF NATURAL STRAINS AND CLINICAL ISOLATES OF YEAST FUNGUS TO ANTI-MYCOTICS

<sup>1</sup>The M.V. Lomonosov Moscow state university, 119991 Moscow, Russia

<sup>2</sup>The I.I. Mechnikov research institute of vaccines and sera, 105064 Moscow, Russia

**Для корреспонденции:** Глушакова Анна Марковна, мл. науч. сотр., канд. биол. наук, МГУ им. М. В. Ломоносова; e-mail: [annglushakova@yandex.ru](mailto:annglushakova@yandex.ru)

The disc diffusion technique was applied to test sensitivity to anti-mycotics of 15 strains of fungi genus *Candida* separated from natural substrates and 25 clinical isolates. The fungi were of species *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*. The high sensitivity of clinical isolates to Fluconazole, Nystatin, Clotrimazole, Itraconazole, Amphotericin B was established, except strains *C. glabrata* 5 and *C. tropicalis* 4 demonstrating average level of sensitivity. The high sensitivity to anti-mycotics of strains separated from natural samples was demonstrated except 4 resistant strains *C. parapsilosis*. It can be supposed that up to one fourth of natural strains of fungi genus *Candida* can have resistance to antibiotics, bringing to various forms of mycotic affections.

**Key words:** yeast; *Candida*; Fluconazole; mycosis; sensitivity to anti-mycotics; opportunistic infections.

**For citation:** Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Akhapkina I.G. The monitoring of sensitivity of natural strains and clinical isolates of yeast fungus to anti-mycotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostic)* 2017; 62 (5): 296-299. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-5-296-299>

**For correspondence:** Glushakova A.M., candidate of biological sciences, junior researcher. e-mail: [annglushakova@yandex.ru](mailto:annglushakova@yandex.ru)

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had sponsor support by the Russian Scientific Foundation № 14-50-00029

Received 26.10.2016  
Accepted 29.11.2016

**Введение.** Активное воздействие человека на окружающую среду ведет к существенным изменениям пейзажа сообщества микроорганизмов, развитию в почвенно-растительных субстратах комплекса оппортунистических и патогенных дрожжевых грибов. Отмечено активное развитие в природных субстратах некоторых видов грибов рода *Candida*, способных вызывать различные поверхностные и системные микозы. В сообществах грибов, развивающихся на пыльце ветроопыляемых растений в городской среде, постоянно присутствуют *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, в то время как в лесных массивах в пыльце названные грибы не выявлены [1]. В плодах яблонь и груш, растущих в городских условиях, обнаружено значительное количество *C. parapsilosis*, причем на протяжении всего периода формирования и развития [2]. В условиях крупного мегаполиса в окружающей среде увеличивается доля потенциально опасных для человека видов грибов, контакт с которыми становится постоянным, и соответственно велика доля вероятности инфицирования человека новыми штаммами. Отсутствуют данные о чувствительности к антимикотикам природных штаммов патогенных и условно-патогенных грибов – потенциальных возбудителей микозов. Анализ чувствительности к антимикотикам грибов из природных субстратов в сравнении с клиническими штаммами представляется актуальным.

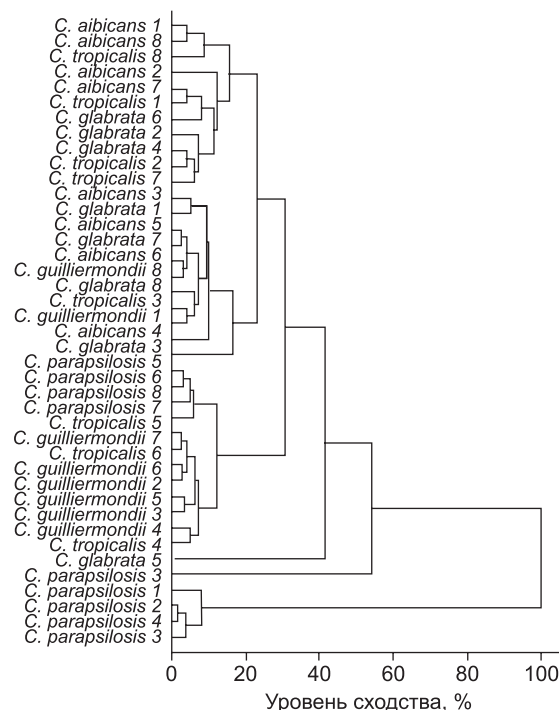
Цель исследования – мониторинг чувствительности к антимикотикам природных штаммов и клинических изолятов грибов рода *Candida*.

**Материал и методы.** Использованы стандартные диски с антимикотиками: флуконазол (40 мкг/диск), нистатин (80 мкг/диск), клотримазол (10 мкг/диск), амфотерицин В (40 мкг/диск), итраконазол (10 мкг/диск) производства НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, а также агаризованная глюкозо-пептонная среда лабораторного приготовления (агар – 20 г/л, пептон – 5 г/л, дрожжевой экстракт – 2,5 г/л, глюкоза – 10 г/л). Выделены 25 клинических изолятов и 15 штаммов из природных субстратов *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*. Чувствительность к антимикотикам определяли диско-диффузионным методом. Готовили инокулят каждого штамма, соответствующего по плотности 0,5 по МакФарланду, содержащий примерно  $1,4 \cdot 10^8$  КОЕ/мл. 1 мл инокулята засевали газоном на чашки Петри. Через 15 мин после инокуляции на поверхность питательной среды наносили диски с антибиотиками. Посевы инкубировали при 25 и 37°C в течение 72 и 24 ч соответственно. Результаты учитывали в отраженном свете при помощи штангенциркуля. Диаметр зон задержки роста измеряли с точностью до 1 мм. Все штаммы исследовали для каждого антимикотика в трех повторностях. Статистическую

обработку данных проводили с использованием программы Statistica 8.0.

**Результаты.** Исследовано 40 штаммов *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*. Чувствительность исследованных штаммов к антимикотикам приведена в таблице.

Все штаммы *Candida*, выделенные от иммунокомпрометированных больных, чувствительны к протестированным антимикотикам ( $d > 25$  мм) за исключением штаммов *C. glabrata* 5 и *C. tropicalis* 4. Эти штаммы продемонстрировали промежуточную чувствительность ( $d = 15–20$  мм) к клотримазолу, итраконазолу, амфотерицину В; *C. glabrata* 5 – к флуконазолу; *C. tropicalis* – к нистатину. Грибы, выделенные из природных субстратов, оказались чувствительными к антимикотикам. Исключением явились штаммы *C. parapsilosis* 1–4, которые показали высокую степень резистентности ко всем протестированным антимикотикам, наиболее часто применяемым в настоящее время.



Классификация исследованных штаммов по степени чувствительности к антимикотикам.

**Чувствительность дрожжевых грибов к антимикотикам**

№ штамма	Место выделения	Диаметр зоны задержки роста, мм*				
		флуконазол	нистатин	клотримазол	итраконазол	амфотерицин В
<i>C. albicans</i> 1	Почва	43	28	27	28	25
<i>C. albicans</i> 2	Пыльца березы	40	33	26	25	25
<i>C. albicans</i> 3	Кожа головы	33	30	27	28	25
<i>C. albicans</i> 4	То же	31	25	25	31	26
<i>C. albicans</i> 5	" "	33	26	25	26	27
<i>C. albicans</i> 6	Кожа вокруг глаз	34	27	26	26	25
<i>C. albicans</i> 7	То же	37	26	25	26	26
<i>C. albicans</i> 8	Кожа предплечья	44	28	26	26	25
<i>C. parapsilosis</i> 1	Мякоть яблока	2	2	2	3	2
<i>C. parapsilosis</i> 2	Плоды пижмы	3	1	2	2	2
<i>C. parapsilosis</i> 3	Почва	3	1	3	2	4
<i>C. parapsilosis</i> 4	Пыльца березы	2	1	2	2	2
<i>C. parapsilosis</i> 5	Кожа на поясице	25	25	26	26	25
<i>C. parapsilosis</i> 6	Кожа вокруг рта	26	25	27	25	25
<i>C. parapsilosis</i> 7	Кожа головы	25	26	26	28	26
<i>C. parapsilosis</i> 8	Кожа вокруг глаз	25	25	29	26	26
<i>C. glabrata</i> 1	Кишечный тракт таракана рыжего	31	29	27	29	27
<i>C. glabrata</i> 2	Цветки копытня европейского	42	28	29	29	28
<i>C. glabrata</i> 3	Пыльца березы	38	25	32	30	30
<i>C. glabrata</i> 4	Зев	38	27	29	27	27
<i>C. glabrata</i> 5	Кожа голени	16	35	16	15	15
<i>C. glabrata</i> 6	Кожа головы	37	30	27	28	25
<i>C. glabrata</i> 7	Кожа вокруг глаз	33	27	26	26	27
<i>C. glabrata</i> 8	То же	36	26	27	28	28
<i>C. tropicalis</i> 1	Пыльца березы	37	27	27	25	25
<i>C. tropicalis</i> 2	Почва	40	28	29	27	28
<i>C. tropicalis</i> 3	Кожа вокруг глаз	33	27	28	27	26
<i>C. tropicalis</i> 4	Кожа предплечья	36	15	16	15	17
<i>C. tropicalis</i> 5	Зев	31	25	26	26	27
<i>C. tropicalis</i> 6	Кожа голени	31	26	26	28	26
<i>C. tropicalis</i> 7	Кожа головы	41	27	27	26	27
<i>C. tropicalis</i> 8	Кожа стопы	45	25	26	25	28
<i>C. guilliermondii</i> 1	Плоды шиповника	33	25	27	28	27
<i>C. guilliermondii</i> 2	Цветки клевера лугового	30	28	26	26	26
<i>C. guilliermondii</i> 3	Плоды кокосовой пальмы	30	26	29	26	26
<i>C. guilliermondii</i> 4	Пыльца березы	32	26	27	25	25
<i>C. guilliermondii</i> 5	Зев	29	27	25	25	25
<i>C. guilliermondii</i> 6	Кожа вокруг глаз	31	27	26	27	26
<i>C. guilliermondii</i> 7	Кожа на животе	31	26	25	26	27
<i>C. guilliermondii</i> 8	Кожа предплечья	34	28	25	26	26

Примечание. \* – средняя величина диаметра зоны задержки роста без указания доверительного интервала, который составлял  $\pm 2$  практически для всех позиций.

**Обсуждение.** Более 20 видов грибов рода *Candida* могут быть этиологическими агентами инвазивного кандидоза у человека; более 90% кандидозов связаны с *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* [3–15].

Для исследования взяты штаммы *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*. Последний является анаморфой *Meyerozyma guilliermondii*, широко распространен в природе, являясь эврибионтным видом,

встречается в самых различных субстратах и регионах, ассоциирован с различными, прежде всего кожными, инфекциями. Кластеризация исследованных штаммов по чувствительности к протестированным антимикотикам показывает высокое сходство разных видов и штаммов грибов. Исключение составляют природные штаммы *C. parapsilosis* (см. рисунок). Это требует особого внимания, поскольку данный вид активно развивается в природных субстратах и с течением времени может вытеснить чувствительные штаммы как этиологический агент оппортунистических инфекций. *C. parapsilosis* представляет потенциальную опасность для иммунокомпрометированных пациентов и детей младшего возраста с не полностью сформировавшейся иммунной системой. В нашем исследовании наиболее активным антимикотиком оказался флуконазол.

В условиях активного изменения окружающей среды происходит перестройка природных сообществ дрожжевых грибов, все более значительную долю среди них начинают занимать оппортунистические и патогенные виды, которые раньше встречались спорадически. Некоторые из них могут обладать резистентностью к наиболее часто назначаемым антифунгальным препаратам. Изучена чувствительность к антимикотикам только 15 штаммов, причем случайно выбранных из природных субстратов, среди которых 4 оказались резистентными. Можно предположить, что около четверти природных штаммов грибов рода *Candida* могут нести потенциальную опасность развития микозов у людей. Мониторинг чувствительности к антимикотикам и вирулентности грибов из антропогенной среды представляется целесообразным и своевременным.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке грантом РНФ 14-50-00029.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 5–15 см. REFERENCES)

1. Глушакова А.М., Качалкин А.В., Желтикова Т.М., Чернов И.Ю. Дрожжевые грибы, ассоциированные с ветроопыляемыми растениями – ведущими пыльцевыми аллергенами в средней полосе России. *Микробиология*. 2015; 84 (5): 612–5.
2. Глушакова А.М., Качалкин А.В. Эндофитные дрожжи в сочных плодах в условиях антропогенизации. *Микробиология*. 2016; 85 (6): 725–31.
3. Лебедева Т.Н. Патогенез аллергии к *Candida species* (обзор). *Проблемы медицинской микологии*. 2004; 6 (1): 3–8.
4. Рунке М. Грибковые инфекции у иммунокомпрометированных пациентов (эпидемиология, диагностика, терапия, профилактика). *Проблемы медицинской микологии*. 2000; 2 (1): 4–16.

#### REFERENCES

1. Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Zheltikova T.M., Chernov I.Yu. Yeasts associated with wind-pollinated plants – leading pollen allergens in Central Russia. *Mikrobiologiya*. 2015; 84 (5): 612–5. (in Russian)
2. Glushakova A.M., Kachalkin A.V. Endophytic yeasts in *Malus domestica* and *Pyrus communis* fruits under anthropogenic impact. *Mikrobiologiya*. 2016; 85 (6): 725–31. (in Russian)
3. Lebedeva T.N. Pathogenesis of allergy to *Candida species* (Review). *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2004; 6 (1): 3–8. (in Russian)
4. Runke M. Fungal infections in immunocompromised patients (epidemiology, diagnosis, therapy, prophylaxis). *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2000; 2 (1): 4–16. (in Russian)
5. Davies J.M., Stacey A.J., Gilligan C.A. *Candida albicans* hyphal invasion: thigmotropism or chemotropism. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 171 (2): 245–9.
6. Gautret P., Rodier M.H., Kauffmann-Lacroix C. et al. Clustering of *Candida parapsilosis* blood stream infections in the hospital of Poitiers, France: a retrospective study. *J. Mycol. Med.* 2000; 10: 197–202.
7. Hickey W.F., Sommerville L.H., Schoen F.J. Disseminated *Candida glabrata*: a report of a uniquely severe infection and a literature review. *Ann. J. Clin. Pathol.* 1983; 80: 724–7.
8. Hiruma M., Maeng D.J., Kobayashi M., Suto H., Ogawa H. Fungi and atopic dermatitis. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 1999; 40 (2): 79–83.
9. Jobst D., Kraft K. *Candida species* in stool, symptoms and complaints in general practice a crosssectional study of 308 outpatients. *Mycoses*. 2006; 49: 415–20.
10. Kuhn M.D., Mukherjee P.K., Clark A.T., Pujol C., Chandra J., Hajjeh R.A. et al. *Candida parapsilosis* characterization in an outbreak setting. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10 (6): 1075–81.
11. Meis J., Petron M., Bille J., Ellis D., Gibbs D. A global evaluation of the susceptibility of *Candida species* to fluconazole by disk diffusion. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2000; 36 (4): 215–23.
12. Prescott R.J., Harris M., Banerjee S.S. Fungal infections of small and large intestine. *J. Clin. Pathol.* 1992; 45 (9): 806–11.
13. Rinaldi M.G. Problems in the diagnosis of invasive fungal diseases. *Rev. Infect. Dis.* 1991; 13 (3): 493–5.
14. Stone H.H., Kolb L.D., Currie C.A., Geheber C.E., Cuzzell J.Z. *Candida species*: pathogenesis and principles of treatment. *Ann. Surg.* 1974; 179 (5): 697–711.
15. Wingard J.R. Importance of *Candida species* other than *C. albicans* as pathogens on oncology patients. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20 (1): 115–25.

Поступила 26.10.2016  
Принята к печати 29.11.2016