

УДК 669.26:616.2:579

АНАЛИЗ АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА CANDIDA, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У РАБОТНИКОВ, ЗАНЯТЫХ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПО ПЕРЕРАБОТКЕ ХРОМОВОЙ РУДЫ И ПРОИЗВОДСТВУ ХРОМОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Гизатуллина Л.Г., Масыгутова Л.М., Чудновец Г.М.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

Показано, что у работников, занятых на предприятиях по переработке хромовой руды и производству хромовых соединений, выделены дрожжеподобные грибы рода Candida. Доминирующими микроорганизмами в 72% случаев были дрожжеподобные грибы C. albicans, в 18% случаев – C. krusei, в 2% – C. glabrata и только у 8% проб биоматериала дрожжеподобные грибы не выявлялись. Рост монокультуры характерен для 95,5% работников, в то время как у 0,5% высевались сразу 2 вида дрожжеподобных грибов рода Candida. В отношении грибов рода C. albicans продемонстрировали чувствительность амфотерицин и флуконазол – 52,7 и 33,2% соответственно, для C. krusei наиболее эффективные противогрибковые препараты – итраконазол (90,2%) и 9,0% грибов C. krusei показали чувствительность к препарату кетоконазол. Самый эффективный противогрибковый препарат в отношении C. glabrata – амфотерицин.

Ключевые слова: резистентность, дрожжеподобные грибы, противогрибковые средства

Для цитирования: Гизатуллина Л.Г., Масыгутова Л.М., Чудновец Г.М. Анализ антимикотической резистентности дрожжеподобных грибов рода candida, выделенных из верхних дыхательных путей у работников, занятых на предприятиях по переработке хромовой руды и производству хромовых соединений. Медицина труда и экология человека. 2019; 1:49-54.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10008>

ANALYSIS OF ANTIMICOTIC RESISTANCE OF CANDIDA YEAST-LIKE FUNGI ISOLATED FROM THE UPPER RESPIRATORY TRACT IN WORKERS OF CHROME ORE PROCESSING AND CHROME COMPOUNDS MANUFACTURING

Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Chudnovets G.M.

Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

It has been shown that Candida yeast-like fungi were isolated from workers of enterprises processing chrome ore and manufacturing chrome compounds. Dominated microorganisms were C. albicans in 72% of cases, C. krusei yeast-like fungi - in 18% of cases, in 2% of cases - C. glabrata, and only in 8% of biomaterial samples yeast-like fungi were not detected. The growth of monoculture was detected in 95.5% of workers, while in 0.5% of cases two species of Candida yeast-like fungi were seeded at once. In terms of C. albicans fungi, sensitivity of amphotericin and fluconazole was detected in 52.7% and 33.2%, respectively. As

for *C. crusei*, the most effective antifungal agents was itraconazole (90.2%) and 9.0% of *C. crusei* fungi showed sensitivity to ketoconazole. The most effective antifungal agent for *C. glabrata* is amphotericin.

Keywords: resistance; yeast-like fungi; antimycotic agent.

For quotation: Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Chudnovets G.M. Analysis of antimicotic resistance of candida yeast-like fungi isolated from the upper respiratory tract in workers of chrome ore processing and chrome compounds manufacturing. *Occupational health and human ecology*.2019; 1:49-54.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10008>

Влияние химических веществ на организм человека, таких как хром, его соединения, соединения фтора и их солей, марганца, никеля, связано с их способностью вступать в реакцию с жидкими средами слизистых оболочек и липоидами клеток слизистых оболочек, растворяться и иметь родство с субстанциями тканей. Актуальность проблемы клинко-функциональных нарушений верхних дыхательных путей (ВДП), приводящих к ранним признакам профессионального поражения полости носа, обусловлена концентрацией химических веществ во вдыхаемом воздухе, которые напрямую влияют на организм, оказывая как токсическое, так и прижигающее действие. Особенно ярко выражено это действие у паров кислот и щелочей, при длительном контакте даже в малых концентрациях приводит к первичной атрофии всех элементов слизистой оболочки и гипосмии. При более высоких концентрациях паров и аэрозолей едких веществ на слизистой оболочке носа могут возникать длительно не заживающие участки некроза. При их заживлении на нижних носовых раковинах и перегородке носа сохраняются белесоватые рубцы на фоне красной атрофичной слизистой оболочки. Кроме того, в результате выраженного некротизирующего и раздражающего действия вредных факторов развивается перфорация носовой перегородки, которая может возникнуть даже при небольшом стаже работы, через 3—4 недели после начала работы. Известно, что огромное значение в очищении вдыхаемого воздуха придается полости носа, которая обеспечивает бактерицидную, транспортную, калориферную функции. В полости носа происходит очищение и кондиционирование поступающего воздуха, создается оптимальная влажность и диапазон температуры. Бактерицидные свойства слизи полости носа, вырабатываемой бокаловидными клетками, способствует частичному обезвреживанию бактерий. Рефлекторную защиту организма от многих внешних воздействий обеспечивают нервные окончания слизистой оболочки полости носа. В результате систематического воздействия вредных факторов, несмотря на устойчивость защитных функций, физиологические барьеры постепенно слабеют и защитная функция полости носа снижается. Вследствие потери или снижения ряда функций органов верхних дыхательных путей происходит размножение условно-патогенных микроорганизмов, что приводит к развитию инфекционных заболеваний у обследованных групп работников.

Цель.

Провести анализ устойчивости к антимикотическим препаратам дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выделенных из верхних дыхательных путей у работников, занятых на предприятиях по переработке хромовой руды и производству хромовых соединений.

Материалы.

Микробиологические исследования проведены 67 пациентам клиники ФБУН «Уфимский НИИ МТ и ЭЧ», обследованным в период за 2016-2017 годы. В группу исследования вошли работники следующих профессий: аппаратчики, плавильщики, газоэлектросварщики, машинисты, слесаря разных цехов переработки хромовой руды и производства хромовых соединений. Общая гигиеническая оценка условий труда работников данных профессий по степени вредности и опасности факторов производственной среды и трудового процесса соответствует 3-му классу 3-й степени согласно руководству [1]. У всех работников группы имеется либо дефект, либо перфорация носовой перегородки. Среди осмотренных лица мужского пола составили 70%, в возрасте от 30 до 60 лет. Лица женского пола составили 30%, в возрасте от 35 до 58 лет. Забор и доставка проб в лабораторию проводились в соответствии с действующими нормативными документами [2]. Для микробиологического исследования материал из зева и носа отбирали натошак стерильным ватным тампоном и доставляли в лабораторию в транспортной системе со средой для грибов рода *Candida* в полистироловой пробирке в течение 2 ч. Для выделения и идентификации чистых культур дрожжеподобных грибов рода *Candida* посев биоматериала проводился в соответствии с общепринятыми методами с использованием современных питательных сред Сабуро, хромогенных сред и диагностических тест-систем. Инкубацию проводили в термостате при температурном режиме 37°C 24 ч. [3]. Значимыми считались результаты исследования в случае выявления потенциального патогена в титре не менее 105 КОЕ/тампон.

У выделенных штаммов диско-диффузным методом определяли чувствительность 37 чистым культурам дрожжеподобных грибов рода *Candida* к 6 противогрибковым препаратам: амфотерицин (AP), итраконазол (IT), клотримазол (CC), нистатин (NS), флуконазол (FLC), кетоконазол (КТ) [4]. Для приготовления инокулема использовали культуру, выращенную в течение 1 суток на агаре Сабуро в чашках Петри при +37°C. Затем колонии снимали с поверхности агара бактериологической петлей, суспендировали в пробирке в 5 мл изотонического раствора 0,85% натрия хлорида. Плотность суспензии довели до 0,5 единиц McFarland (1x 10⁶-5x10⁶ КОЕ/мл). Далее исследование проводили на среде агара Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI). Стерильным тампоном наносили суспензию микроорганизмов штрихами на поверхность агара, после подсушивания при комнатной температуре (5-10 минут) накладывали диски с антимикробными препаратами и инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 часов. Достоверные результаты получали, если на чашках был сливной рост культур и равномерные круглые зоны задержки роста. Если этого не наблюдали через 20-24 часа, то результаты учитывали через 48 часов. Категорию чувствительности определяли измерением диаметра зоны задержки роста [5].

Результаты.

В большинстве случаев среди дрожжеподобных грибов, колонизирующих слизистые оболочки верхних дыхательных путей, у работников были идентифицированы условно-патогенные микроорганизмы рода *Candida*. Доминирующими микроорганизмами в 72% случаев были дрожжеподобные грибы *C. albicans*, в 18% случаев – *C. krusei*, в 2% случаев – *C. glabrata*, только у 8% проб биоматериала дрожжеподобные грибы не выявлялись. Рост монокультуры характерен для 95,5% работников, в то время как у 0,5% высевались сразу 2 вида дрожжеподобных грибов рода *Candida*. 52,7% штаммов *C. albicans* продемонстрировали чувствительность к

препарату флуконазол, в 33,2% колоний лизировались препаратом амфотерицин. Данные противогрибковые препараты показали себя как наиболее эффективные в отношении дрожжеподобных грибов *C. albicans*. Наименьшая чувствительность установлена к следующим препаратам: клотримазол, итраконазол, нистатин (до 10%) и кетоконазол (менее 4%). Резистентность проявилась к 4 препаратам – 20,6%, к 6 препаратам - у 7,2% штаммов *C. albicans*. Флуконазол и амфотерицин - наиболее эффективные противогрибковые препараты в отношении штаммов *C. albicans*. Препараты выбора - итраконазол, нистатин, резервный препарат - клотримазол. Наименее эффективный препарат - кетоконазол.

Таблица 1

Чувствительность к антигрибковым препаратам *C. albicans*

Антимикотик	Символ	Содержание в диске	Чувствительность (%)	Резистентность (%)
Амфотерицин В	AP	100 ЕД	33,2	66,8
Клотримазол	CC	10 мкг	3,1	96,9
Флуконазол	FU	25 мкг	52,7	47,3
Итраконазол	IT	10 мкг	3,4	96,6
Кетоконазол	KT	10 мкг	4,0	96,0
Нистатин	NS	100 ЕД	3,5	96,5

Для дрожжеподобных грибов *S. krusei* наиболее эффективные противогрибковые препараты – итраконазол (90,2%), а остальные 9,0% грибов *S. krusei* показали чувствительность к препарату кетоконазол. Лишь 0,8% были чувствительны к амфотерицину. Противогрибковые препараты нистатин, клотримазол и флуконазол эффективности к данному микроорганизму не проявили. Немногочисленная группа грибов *C. glabrata*, выделенная из верхних дыхательных путей работников, занятых на предприятиях по переработке хромовой руды и производству хромовых соединений, проявила резистентность к 5 противогрибковым препаратам - итраконазол, нистатин, клотримазол, кетоконазол, флуконазол. Самый эффективный противогрибковый препарат в отношении *C. glabrata* – амфотерицин (78,6%).

Выводы.

1. Неблагоприятное воздействие комплекса химических факторов в процессе трудовой деятельности приводит к нарушению микробного пейзажа слизистой оболочки верхних дыхательных путей (увеличивается количество условно-патогенной микрофлоры, возрастает носительство условно-патогенных микроорганизмов).

2. Значительная часть изолятов дрожжеподобных грибов рода *Candida* проявляет полирезистентность к основным антигрибковым препаратам эмпирической терапии.
3. Негативные воздействия вредных факторов не снижают профессиональную трудоспособность работника, но требуют целенаправленного лечения выявленных патологий и своевременную реабилитацию нарушенных функций органов верхних дыхательных путей.

Список литературы:

1. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды трудового процесса. Критерии и классификации условий труда: Р. 2.2.2006-05.М.;2005.
2. МУ 4.2.2039-05 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. М.; 2006.
3. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М., 1985.
4. МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам».
5. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», февраль 2015 <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinical-recommendations/>
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. CLSI document M44-A2. – CLSI, Wayne, PA, USA, 2009.
7. Fungal disease frequency <http://www.gaffi.org/why/fungal-disease-frequency/>
8. Климко Н.Н., Козлова Я.И., Васильева Н.В. и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program. Проблемы медицинской микологии.2014.Т 16(1):3-8.
9. Рауш Е.Р. Особенности возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: СПб. СЗГМУ им. И.И. Мечникова. 2015.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing.

References

1. Guidance on the hygienic assessment of factors of the work environment of the work process, criteria and classification of working conditions: R. 2.2.2006-05.М.;2005.
2. Techniques of collecting and transporting biomaterials in microbiological laboratories: MG 4.2.2039-05.М.;2006
3. The unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions: Order of the USSR Ministry of Health of April 22, 1985 No. 535. М.; 1985.
4. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotic drugs: MG 4.2.1890-04. М.; 2004.
5. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs. Clinical recommendations. - М.; 2015. <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinical-recommendations/>

6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. CLSI document M44-A2. - CLSI, Wayne, PA, USA; 2009
7. Fungal disease frequency <http://www.gaffi.org/why/fungal-disease-frequency/>
8. Klimko N.N., Kozlova Ya.I., Vasilyeva N.V. et al. The prevalence of severe and chronic mycotic diseases in the Russian Federation according to the model of the LIFE program. Problems of medical mycology 2014; V. 16(1):3 - 8.
9. Raush E.R. Features of causative agents of nosocomial invasive candidiasis [Synopsis of Ph.D. thesis in medicine]. SPb .: Mechnikov NW SMU; 2015
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing