

осаждения геля алюминия гидроксида, промывки, фильтрации, розлива и стерилизации, в соответствии с заявляемым на стадии осаждения, процесс ведут при таких температурах:

- приготовления растворов, осаждения геля алюминия гидроксида, фильтрации- 20-25 °С;

- промывка осуществляется при непрерывной подаче воды для инъекций «inbulk» с температурой от 50 °С до 60 °С;

- стерилизация 30 минут до  $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$  и 1,30 часа при  $(100 \pm 2)^\circ\text{C}$ , давление до  $(0,21 \pm 0,01)$  МПа.

Данные условия являются оптимальными для сорбционной активности геля алюминия гидроксида, как адьюванта для вакцин.

### Список литературы

1. HemStanley L., JohnstonCliff T. Разработка и производство вакцин. Hoboken, NJ, USA: JohnWiley&Sons, Inc .; 2014. Производство и характеристика алюминийсодержащих адьювантов; С. 319-346.

2. He P, Zou Y, Hu Z. Достижения в исследованиях адьювантов на основе гидроксида алюминия и его механизма. Hum. Вакцин иммуноterapia. 2015;

3. Дей АК, Маляла П. Сингх М. Физико-химическая и функциональная характеристика вакцинных антигенов и адьювантов. Эксперт-рев. Вакцин.

4. Cain DW, Sanders SE, Cunningham MM, Kelsoe G. Разнообразные адьювантные свойства среди трех составов вакцины «квасцы» . 2013;

5. Kolade OO, Jin W, Tengroth C, Green KD, Bracewell DG. Влияние сдвига на свойства адьювантных свойств фосфата алюминия в вакцинных лекарственных препаратах. J. Pharm. Sci. 2015;

6. Shardlow E, Mold M, Exley C. От бутылочки до вакцины: выяснение распределения частиц по размерам алюминиевых адьювантов с использованием динамического рассеяния света. Фронт. Химреагент 2016;

7. Marrack P., McKee AS, Munks MW (2009). На пути к пониманию адьювантного действия алюминия.

УДК 615.282.84:616-022.7

## ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ГРИБІВ РОДУ *CANDIDA* ДО ДЕЯКИХ ГРУП АНТИМІКОТИКІВ

*Шкарлат Г.Л., Калюжная О.С., Стрелець О.П., Стрельников Л.С.*

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Вступ.** За останні роки різко зросла кількість хворих на кандидоз серед людей і тварин, який викликається дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Зростання захворюваності кандидозом пов'язано з нераціональним використанням антибіотиків, гормонів, стероїдних препаратів, імунодепресантів і інших препаратів, а також посиленням патогенності самих дріжджоподібних грибів роду *Candida* [2, 3]. Кандидоз проявляється в різних формах, у тому числі найбільшу небезпеку становлять системний і

вісцеральний кандидоз. Вони характеризуються тривалим перебігом хвороби, мають різні клінічні прояви і часті рецидиви. Такі форми кандидозу важко піддаються лікуванню сучасними медикаментозними засобами, в тому числі і протигрибковими антибіотиками.

Лікарський арсенал вітчизняної мікології при етіотропній фармакотерапії обмежений чотирма групами препаратів, з яких основні представлені антифунгальними антибіотиками і похідними азолу. Антибіотики, як правило, володіють вузьким спектром дії, ефективні щодо бактеріальної флори, що створює значні незручності в терапії кандидозу, ускладнених бактеріальним компонентом. Похідні азолу також не позбавлені серйозних недоліків. Їх тривале і системне застосування призводить до кумуляції в організмі, викликає пригнічення імунної системи, статевих і надниркових залоз. Крім того, традиційна фармакотерапія мікозів часто призводить до появи резистентних штамів патогенних мікроорганізмів, алергічних проявів і порушень нормального біоценозу. У 2016 році був спалах захворюваності з летальністю 60 %, що викликаний грибом *Candida auris*, який нечутливий до всіх протигрибкових лікарських засобів [3].

Таким чином, на сьогоднішній день існує велика кількість препаратів для лікування кандидозу - антимікотиків, але в зв'язку з розвитком стійкості до них дріжджоподібних грибів, а також посиленням патогенності самих грибів, необхідний постійний контроль чутливості грибів роду *Candida* до сучасних препаратів.

**Мета роботи.** Вивчення чутливості дріжджоподібних грибів *Candida spp.*, які є збудниками багатьох кандидозних захворювань, до сучасних препаратів - антимікотиків.

**Об'єкти і методи дослідження.** За даними літератури при аналізі таксономічної структури збудників інвазивних грибкових інфекцій [1], більше 95% дріжджових грибів складають *Candida spp.* (19 видів), при цьому провідним видом є *C. albicans* (56,3%), значно рідше реєструється *C. glabrata* (11,8%), *C. parapsilosis* (7,0%), *C. krusei* (5,1%) і *C. tropicalis* (3,3%). Тому в якості об'єктів дослідження використовували штами видів *C. albicans* штами АТСС 885-653, *C. tropicalis* штам АТТС 20336, *C. glabrata* та *C. krusei* з колекції кафедри біотехнології Національного фармацевтичного університету (еталонні мікроорганізми Української колекції мікроорганізмів), і штами, виділені з біоматеріалу хворих дисбактеріозом кишечника, запальними захворюваннями порожнини рота, жінок, хворих на генітальний кандидоз, і ідентифіковані, як *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* та *C. krusei*.

Аналіз резистентності *Candida spp.* проводили на підставі аналізу даних літератури та власних досліджень. В ході проведення експериментів застосовували мікроскопічні, культуральні методи досліджень і лабораторні процедури, які проводили за загальноприйнятими в біотехнології методиками.

Виділення дріжджовий флори з біоматеріалу проводили шляхом посіву на агар Сабуро, 5% кров'яний агар. Ферментативну активність грибів визначали шляхом посіву чистої культури на ряд вуглеводів: лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу, галактозу. Вид гриба ідентифікували на підставі сукупності ознак -

морфологічних, культуральних, біохімічних [1].

Вивчення протигрибкових властивостей проводили на кафедрі біотехнології НФаУ методом дифузії в агар (методом «колодязів») з додаванням у лунки антімікотиків. Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту, включаючи діаметр лунок.

Обробку експериментальних даних проводили за допомогою методів математичної статистики відповідно до вимог ДФУ з використанням MS Excel 7.0. із застосуванням статистичних методів.

**Результати досліджень.** Значення показників резистентності грибів *Candida spp.* були уточнені після проведення великого дослідження в рамках міжнародної програми спостереження за антимікробною резистентністю, яка діє з 1997 р. Результати цього дослідження за 2010-2011 рр. підсумовані М.А. Pfaller et al. [1, 4] щодо 3 ехінокандинів (каспофунгін, мікафунгін, анідулафунгін) і 4 тріазолів (флуконазол, ітраконазол, воріконазол, позаконазол) (табл. 1). Протестовано 3418 клінічних штамів грибів (методи CLSI), виділених з різних біоматеріалів хворих у 4 регіонах світу: США (1349 штамів), Європа (1191 штамів), Латинська Америка (492 штами), країни Азіатсько-Тихоокеанського регіону (384 штами). У таблиці 1 представлені результати дослідження, отриманого в рамках SENTRY [4].

Таблиця 1

Дослідження в рамках міжнародної програми спостереження за антимікробною резистентністю (SENTRY, узагальнені дані по 4 регіонах) по 5 основним видам *Candida* [4]

<i>Candida spp.</i>	Антифунгальний препарат	% резистентних штамів
<i>C. albicans</i>	Каспофунгін	0,2
	Мікафунгін	0,1
	Анідулафунгін	0,0
	Флуконазол	0,4
	Воріконазол	0,4
	Позаконазол	4,4
<i>C. glabrata</i>	Каспофунгін	1,6
	Мікафунгін	1,2
	Анідулафунгін	1,8
	Флуконазол	8,8
	Воріконазол	10,5
	Позаконазол	3,5
<i>C. parapsilosis</i>	Каспофунгін	0,0
	Мікафунгін	0,0
	Анідулафунгін	0,5
	Флуконазол	2,1
	Воріконазол	0,2
	Позаконазол	2,3
<i>C. tropicalis</i>	Каспофунгін	0,0

	Мікафунгін	0,0
	Анідулафунгін	0,0
	Флуконазол	1,3
	Воріконазол	0,3
	Позаконазол	5,3
<i>C. krusei</i>	Каспофунгін	0,0
	Мікафунгін	0,0
	Анідулафунгін	0,0
	Воріконазол	1,3
	Позаконазол	15,2

За даними цього дослідження (табл. 1) були зроблені наступні висновки: в цілому, рівень резистентності кандид до ехінокандинів і триазолів був низьким; рівень резистентності *C. glabrata* щодо флуконазолу і ехінокандинів вимагає постійного спостереження, оскільки резистентність *C. glabrata* до ехінокандинів за останні роки зростає у 3 рази [4, 5].

При визначенні чутливості штамів *Candida spp.*, що виділені від хворих дисбактеріозом і запальними захворюваннями верхніх дихальних шляхів, до таких антимікотиків, як флуконазол, ністатин, леворин, кандибене, орунгал, були отримані результати, представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Ріст грибів *Candida spp.*, виділених з біоматеріалу хворих дисбактеріозом та запальними захворюваннями верхніх дихальних шляхів, при впливі антимікотиків

Вид гриба	Рівень чутливості (КУО, %)				
	флуконазол	ністатин	леворин	кандибене	орунгал
Виділені з біоматеріалу хворих на дисбактеріоз					
<i>C. albicans</i>	55,4±0,5	51,2±0,7	42,3±0,4	33,2±0,1	15,8±0,9
<i>C. krusei</i>	62,3±0,4	61,7±0,5	56,1±0,5	50,8±0,4	33,6±1,1
Виділені з біоматеріалу хворих на запальні захворювання роту					
<i>C. albicans</i>	54,4 ± 0,5	44,5 ± 0,3	45,1 ± 0,6	31,1 ± 0,7	12,3 ± 0,4
<i>C. tropicalis</i>	55,5 ± 1,1	50,5 ± 0,9	49,5 ± 1,2	49,5 ± 0,5	27,3 ± 0,5
<i>C. krusei</i>	64,7 ± 1,1	60,7 ± 1,4	59,4 ± 0,8	50,8 ± 1,0	38,4 ± 1,8

Еталонні штами при впливі всіх взятих препаратів практично не виявляли зростання, виявилися у 95% випадків чутливими до даних препаратів. Представлені у табл. 2 дані свідчать про те, що гриби *Candida spp.* різних видів мають неоднакову чутливість до антимікотиків, незалежно від місця виділення біоматеріалу. При порівнянні отриманих даних до еталонного музейного штаму *C. albicans* ATCC 885 - 653, найбільш високий відсоток пригнічення росту при дії флуконазолу, ністатину, леворина, кандибене і орунгала спостерігався у циркулюючих штамів *C. albicans*, потім у *C. tropicalis* і у *C. krusei*. Отже, найбільш чутливими до даних антимікотиків були штами *C. albicans*, потім - *C. tropicalis*, а найменш чутливі - *C. krusei*. Ці системні антимікотичні препарати в однаковій мірі пригнічують ріст колоній, виділених з різних біоматеріалів. Найбільш високий відсоток пригнічення росту циркулюючих

штамів *C. albicans*, *C. tropicalis* і *C. krusei* спостерігався при використанні орунгала і кандибене також незалежно від місця виділення біоматеріалу.

При визначенні чутливості виділених від хворих на генітальний кандидоз штамів *Candida spp.* до таких антимікотиків, як ністатин, клотримазол, амфотерицин, були отримані наступні результати: у 56% випадків штами *C. albicans* були чутливі до всіх трьох антимікотичних препаратів, інші штами найбільш чутливі до клотримазолу - у 73% досліджень і стійкі у більшості випадків до ністатину (68%), амфотерицину (71%). Тобто, полієнові антибіотики - ністатин і амфотерицин-В, що застосовуються у даний час для лікування генітального кандидозу, є менш ефективними в порівнянні з препаратом імідазолового ряду - клотримазолом.

**Висновки.** Згідно з аналізом літератури відповідно до отриманих *in vitro* даних з резистентності для терапії кандидозів, обумовлених *C. albicans*, найбільш підходящими для етіотропної терапії антифунгальними засобами є ехінокандини; для *C. parapsilosis* - позаконазол, ехінокандини; для *C. glabrata* - Ехінокандини; для *C. tropicalis* - представники всіх груп вивчених засобів; для *C. krusei* - позаконазол і ехінокандини. Також, слід підкреслити значення постійного моніторингу щодо виявлення штамів з потенційною резистентністю, для прогнозування зниження чутливості до антифунгальних засобів. Отримані дані диктують необхідність широкого застосування сучасних антимікотичних засобів.

#### Список літератури

1. Багірова Н.С. Определение резистентности *Candida spp.* к антифунгальным препаратам системного действия эпсилотрихическим методом (Е-тест) с учетом видоспецифических особенностей кандид / Н.С. Багірова, Н.В. Дмитриева // Журнал инфектологии. - Том 7, № 3, 2015. – С. 91 -102.

2. Покас О. В. Мікробіологічний моніторинг етіології та антибіотикорезистентності збудників опортуністичних інфекцій: Автореф. дис. кандидата мед. наук. – К., 2007. – 23с.

3. Рибалкін М.В. Наукове та експериментальне обґрунтування складу та технології ін'єкційного розчину Вакцини «кандидоцид» для попередження та лікування кандидозу : Автореф. дис. Доктора фарм. наук. – Х., 2018. – 50с.

4. Pfaller M.A., Shawn A. Messer, Leah N. Woosley, etc. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: Application of New CLSI Clinical Breakpoints and Epidemiological Cutoff Values for Characterization of Geographic and Temporal Trends of Antifungal Resistance. *J. Clin. Microbiol.* August 2013 Vol. 51 № 8: 2571 - 2581.

5. Pfaller MA, Andes D, Arendrup MC, etc. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida spp.* revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 70: 330 - 343.