

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет медико-фармацевтичних технологій
кафедра мікробіології, вірусології та імунології**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ГЛИБОКІ ЛЕГЕНЕВІ МІКОЗИ: ХВОРОБА ДАРЛІНГА –
СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ»**

Виконав: здобувач вищої освіти
групи ЛДм22(1.5д)-01
Спеціальності: 224 Технології
лабораторної діагностики та лікування
освітньої програми
Лабораторна діагностика
Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ

Керівник: доцент закладу вищої освіти
кафедри мікробіології, вірусології та
імунології к.б.н., с.н.с.
Ольга ШАПОВАЛОВА

Рецензент: завідувач кафедри
нормальної та патологічної фізіології,
д.мед. н., професор
Надія КОНОНЕНКО

Харків-2024 рік

АНОТАЦІЯ

Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ ГЛИБОКІ ЛЕГЕНЕВІ МІКОЗИ: ХВОРОБА ДАРЛІНГА – СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ –
Рукопис

Кваліфікаційна робота: 87 с., 3 рис., 65 джерел літератури.

Об'єкт дослідження: глибокі легеневі мікози, зокрема хвороба Дарлінга.

Предмет дослідження: сучасні методи лабораторної діагностики глибоких легеневих мікозів, зокрема хвороби Дарлінга.

Діагностика гістоплазмозу є важкою та потребує багатофакторного підходу, який включає пряму мікроскопію біоматеріалу, виділення культури та ідентифікацію *Histoplasma capsulatum*, молекулярно-генетичні та серологічні методи.

Ключові слова: глибокі легеневі мікози, діагностика, хвороба Дарлінга.

ANNOTATION

Olena ZADESENETS DEEP PULMONARY MYCOSIS: DARLING'S DISEASE – MODERN LABORATORY DIAGNOSTIC METHODS –
Manuscript.

Qualification work: 87 pages, 3 pictures, 65 sources of information.

The object of the research is deep pulmonary mycoses, in particular Darling's disease.

The subject of the research is modern methods of laboratory diagnosis of deep pulmonary mycoses, in particular, Darling's disease.

Diagnosis of histoplasmosis is difficult and requires a multifactorial approach. It includes identification of *Histoplasma capsulatum* by direct microscopy, isolation of fungal culture, molecular genetic, serological methods.

Key words: deep pulmonary mycoses, diagnosis, Darling's disease

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ,СИМВОЛІВ,СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1 Розповсюдження глибоких легеневих мікозів.....	8
1.2 Етіологія глибоких легеневих мікозів.....	13
1.3 Клінічні ознаки, патогенез глибоких легеневих мікозів.....	22
1.4 Особливості лабораторної діагностики глибоких мікозів.....	25
РОЗДІЛ 2. ОБ’ЄКТИ; МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	33
2.1 Об’єкти дослідження.....	33
2.2 Епідеміологічні методи досліджень.....	33
2.3 Лабораторні методи дослідження.....	34
2.3.1 Мікроскопічне дослідження.....	35
2.3.2 Культуральні дослідження.....	37
2.3.3 Молекулярно-генетичні методи дослідження.....	48
2.3.4 Імунологічні методи дослідження.....	50
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	53
3.1 Етіологія, патогенез, клінічні прояви хвороби Дарлінга.....	53
3.2 Результати дослідження поширеності хвороби Дарлінга.....	60
3.3 Сучасні методи лабораторної діагностики хвороби Дарлінга.....	63
ВИСНОВКИ	74
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	75
ДОДАТКИ	82

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АБЛА - алергічний бронхолегеневий аспергільоз
БАЛ (BAL) – бронхоальвеолярний лаваж
ВІЛ – вірус імунодефіциту людини
ГРДС - гострий респіраторний дистрес-синдром
ГСТ – гіперчутливість сповільненого типу
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ІФА – імуноферментний аналіз
ІФІ – інвазивні грибкові інфекції
КТ – комп’ютерна томографія
ЛЗ – лікарські засоби
МРТ – магнітно-резонансна томографія
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
ПЦП – пневмоцистна пневмонія
РАЛ – один із методів виявлення бактеріальної інфекції
РСР-пневмонія - пневмоцитоз
СМР – магнітно-резонансна томографія серцево-судинної системи
ТБ – туберкульоз (легень)
ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень
ЦНС – центральна нервова система
ЕІА – імуноферментний аналіз
LAMP – ізотермічна петльова ампліфікація

ВСТУП

Актуальність теми. Глибокі легеневі мікози, зокрема гістоплазмоз, залишаються актуальною проблемою у галузі медицини та інфекційних захворювань. Гістоплазмоз є грибовою інфекцією, спричиненою грибом *Histoplasma capsulatum*, який зазвичай зустрічається в ґрунті, збруднених птахами або кажанами. Актуальність цієї теми полягає в наступних аспектах:

В окремих регіонах світу спостерігається збільшення випадків гістоплазмозу, що викликає підвищений інтерес до вивчення цієї інфекційної хвороби.

Розвиток більш точних і ефективних методів діагностики та лікування є важливим напрямком досліджень у зв'язку зі складністю діагностики та лікування гістоплазмозу.

Особливий інтерес викликає поширення гістоплазмозу серед людей зі зниженою імунною системою (наприклад, люди з ВІЛ/СНІДом), що робить цю тему ще більш актуальною.

Розробка стратегій профілактики та контролю поширення гістоплазмозу також є актуальними завданнями для здоров'я населення.

У зв'язку з цим, дослідження, спрямовані на краще розуміння, діагностику, лікування та профілактику гістоплазмозу, є важливими для медичної практики та громадського здоров'я.

Актуальність проблеми, її наукове значення та можливе практичне використання результатів дослідження обумовили вибір теми, визначили мету та завдання дослідження.

Мета роботи полягає у тому, щоб з'ясувати особливості глибоких легневих мікозів, зокрема, хвороби Дарлінга та застосування сучасних методів лабораторної діагностики.

Досягнення вказаної мети передбачає вирішення наступних **завдань**:

- 1) Провести аналіз наукової літератури щодо етіології, епідеміології, патогенезу, лабораторної діагностики, профілактики та лікування глибоких

легеневих мікозів

2) Обрати об'єкти та методи дослідження, охарактеризувати епідеміологічні та лабораторні методи діагностики глибоких мікозів.

3) Дослідити етіологію, патогенез, клінічні прояви, поширеність хвороби Дарлінга. Охарактеризувати сучасні методи лабораторної діагностики хвороби Дарлінга.

Об'єкт дослідження – глибокі легеневі мікози, зокрема хвороба Дарлінга.

Предмет дослідження – сучасні методи лабораторної діагностики глибоких легеневих мікозів, зокрема хвороби Дарлінга.

Методи дослідження. У роботі були застосовані аналіз наукової літератури та публікацій, що стосуються сучасних методів діагностики глибоких легеневих мікозів, зокрема хвороби Дарлінга, огляд та оцінка методів лабораторної діагностики, таких як мікроскопічний, культуральний, молекулярно-генетичний та імунологічний аналіз, для виявлення та ідентифікації грибків, що викликають хворобу Дарлінга, аналіз клінічних випадків хвороби Дарлінга з використанням сучасних методів діагностики з метою оцінки результатів використання сучасних методів діагностики глибоких легеневих мікозів.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути використані при подальшому дослідженні даної проблеми, а також при розробці наукових планів та програм та написанні навчальних посібників.

Структура магістерської роботи обумовлена метою та завданнями дослідження. Магістерська робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків і списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи становить 87 сторінок, з яких 7 сторінок – список використаних джерел із 65 найменувань.

Апробація результатів. Апробація результатів дослідження і публікації. Результати кваліфікаційної роботи представлено у Додадку А:

Задесенець О.І., Шаповалова О.В. Методи визначення чутливості збудника гістоплазмозу до хіміопрепаратів / Сучасна антимікробна терапія: проблеми та шляхи вдосконалення / Харк.нац.фарм.ун-т; [редкол.: проф. Котвіцька А.А., проф. Владимірова І.М, проф.Філімонова Н.І., доц. Кошова О.Ю.]. – Харків : НФаУ, 2023. – С 76-77.

Кваліфікаційна робота виконана на 87 сторінках машинописного тексту, написана за традиційною схемою і складається із вступу, огляду літератури, власних досліджень, в які входять: актуальність проблеми якості діагностики глибоких легеневих мікозів: хвороба Дарлінга, матеріали і методи дослідження, результати дослідження та висновки. Список літератури містить використаних джерел 65.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Розповсюдження глибоких легеневих мікозів

За висновками науковців, грибкові ураження (мікози) відносяться до одних із найбільш поширених інфекцій людини. За даними ВООЗ, кожен п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожен десятий має клінічні прояви інфекції. Частота грибкових захворювань по всьому світу складає до 20-70 % усього населення. З кожним днем число пацієнтів з грибовою інфекцією, незважаючи на очевидні успіхи та досягнення медицини, значно збільшується. Цьому значною мірою сприяли соціальні, медичні та фармакологічні фактори цивілізації. Зокрема, до медичних факторів можна віднести загальне погіршення показників імунітету серед населення, використання інвазивних методів діагностики, зростання кількості випадків різних захворювань, що часто супроводжуються грибовими інфекціями (цукровий діабет, онкологічні захворювання, ВІЛ-інфекція, тощо). Мікози – досить поширена група інфекцій, які викликаються великою кількістю видів (більше 500) різноманітних як патогенних, так і умовно-патогенних грибів. Мікози займають сьоме місце в структурі причин летальних наслідків від інфекцій. Останнім часом список хвороботворних грибів поповнюється в середньому на 10 видів у рік. Зростання випадків мікозів в цілому серед населення пов'язане з погіршенням екологічних умов, порушенням антиінфекційної резистентності людини, порушенням балансу між нормальною флорою і імунною реакцією організму, різкою активацією умовно-патогенних грибів, розширенням спектру збудників, що викликають ураження шкіри і внутрішніх органів. Захворювання, що викликаються патогенними грибами, умовно можна поділити на дві групи: поверхневі мікози та системні, або глибокі мікози. Мікози, що викликаються умовно-патогенними грибами, можуть мати змішаний клінічний перебіг. Поверхневі мікози обмежуються епідермісом, волоссям та нігтями і досить легко

діагностуються за клінічними проявами та культурою. Глибокі мікози зазвичай вражають шкіру, легені або можуть мати розповсюджений дисемінований характер. Глибокі (вісцеральні) мікози (аспергильоз, кандидоз, геотрихоз, зигомикоз, криптококоз та ін.), як правило, зустрічаються в групах ризику: у хворих з ендокринними порушеннями, туберкульозом, бронхіальною астмою, хронічними процесами в легенях, онкологічними та гемобластичними захворюваннями, СНІДом, тощо [3].

Зауважується, що глибокі інфекції вражають системи і органи, стимулюючи генералізовану імунну відповідь [20]. Однією з найбільших проблем мікозів лишається ранній початок ефективної протигрибової терапії для покращення наслідків, особливо при глибоких мікозах [2]. Важливими завданнями є впровадження швидких ідентифікаційних тестів для крові та біологічних середовищ, розробка точних тестів, адаптація експериментальних технологій ідентифікації грибів [25].

Глибокі легеневі мікози (зазвичай викликані грибами, такими як *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides* тощо) є рідкісними, але серйозними інфекційними захворюваннями, які виникають при вдиханні грибних спор в деяких зонах розповсюдження цих грибів.

Розповсюдження таких мікозів може бути пов'язане з географічними факторами, такими як місцевість та умови середовища, в якому знаходиться людська популяція. Деякі з цих грибів можуть бути поширені в піщаних, вологих або різних типах ґрунтів, інші можуть бути специфічними для певних географічних областей, таких як південні штати США, Південна Америка, півні частини Африки та Азії.

Симптоми глибоких легневих мікозів можуть бути різноманітними, від легких та незрозумілих до важких та системних. Це може включати кашель, біль у грудях, лихоманку, втрату ваги та інші загальні симптоми.

Діагностика глибоких легневих мікозів вимагає спеціальних технологій та тестів, таких як мікологічний метод, дослідження крові на антитіла до антигенів грибків тощо.

Лікування глибоких легневих мікозів включає прийом протигрибкових препаратів, таких як ітраконазол, флуконазол або інші, які призначаються залежно від конкретного виду грибка та важкості захворювання. Це серйозна проблема здоров'я, і лікування глибоких легневих мікозів зазвичай потребує спеціалізованої медичної допомоги та довготривалого лікування.

Пневмомікози – це грибкові ураження легенів, які належать до групи глибоких мікозів [1]. У клінічній практиці ці форми спостерігають як ізольовані, так і у вигляді асоційованої патології легенів, у сполученні з туберкульозом, раком, бронхоектазами, хронічними абсцесами й іншими неспецифічними захворюваннями легенів. Збільшення частоти грибкових інфекцій останнім часом пов'язано із широким використанням антибактеріальних і гормональних препаратів, цитостатиків, імунодепресантів. Глибокі мікози можуть також виникати як ускладнення інтенсивної терапії, штучної вентиляції легень з інтубацією трахеї, хірургічних втручань, а також можуть бути пов'язані з катетеризацією великих судин. Щодо причин та епідеміології виникнення мікозів легень, то за видами грибів розрізняють такі форми [1]:

1. Променево-грибкові хвороби: актиномікоз, нордомікоз.
2. Власне мікози:
 - мікози, спричинені дріжджоподібними грибами: геотрихоз, кандидоз, криптококоз;
 - мікози, зумовлені пліснявими грибами: аспергільоз, мукоромікоз, пеніциліоз;
 - мікози, спричинені двофазними грибами: адіаспіромікоз, бластомікоз північноамериканський, гістоплазмоз, кокцидіомікоз, паракокцидіомікоз, споротрихоз;
 - моноспоріоз.
3. Мікоценози:
 - мікоценоз змішаний (грибково-грибковий);

- мікоценоз поєднаний (грибково-бактеріальний, грибково-вірусний та ін.).

На жаль, вітчизняних досліджень щодо даного питання вкрай мало, тому звертаючись до огляду доробку зарубіжних дослідників, зауважимо наступне.

Проведене китайськими лікарями дослідження, що мало на меті систематичну оцінку характеристик поширення та факторів високого ризику збудників легеневого мікозу, показало, що основними типами бактеріальних інфекцій у хворих на мікоз легень були *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans* та *Helicobacter pylori*. Крім легенів, було виявлено, що патогени поширені в кишечнику, сечовивідних шляхах і травному тракті. Крім того, вік пацієнта, застосування антибіотиків і глюкокортикоїдів збільшували захворюваність на легеневий мікоз. Таким чином, на ці фактори слід звертати увагу при клінічному лікуванні хворих на мікоз легень [40].

Вченими із Уганди в іншому дослідженні зазначалося, що роль легневих грибкових інфекцій, спричинених легневими грибковими патогенами, була нещодавно підкреслена, а подібність клінічних і радіологічних характеристик із туберкульозом ще більше ускладнює діагностику та лікування таких легневих інфекцій [36]. Дійсно, легеневі мікози можуть імітувати та легко бути помилково діагностованими як туберкульоз і навпаки. У цьому контексті гриби з часом привернули увагу через те, що вони нещодавно почали виявляти медичне значення в усьому світі. Протягом останніх 30 років гриби перетворилися на ключових етіологічних агентів інфекцій, якими важко керувати, щороку вбиваючи щонайменше один мільйон людей і все ще залишаються серед забутих хвороб у всьому світі. Серйозні інвазивні грибкові інфекції виникають у пацієнтів з ослабленим імунітетом, таких як ВІЛ/СНІД, пацієнти з раком та пацієнти з трансплантацією, у багатьох з яких вони ускладнюють і погіршують захворювання [11]. Наприклад, в Африці легеневі грибкові

інфекції зареєстровані приблизно у 15–35%, головним чином у когортах коінфікованих ВІЛ/ТБ. Крім того, подібність клінічних і діагностичних проявів між туберкульозом і легеневи́ми мікозами вимагає однакової уваги, якщо необхідно спрощувати лікування обох інфекцій. Це створює величезні проблеми для медичних працівників, особливо в умовах обмежених ресурсів, де діагноз не є точним. Цілком можливо, що в багатьох випадках пропущені грибкові легеневі мікози через відсутність специфічних клінічних проявів спричиняють високий рівень захворюваності та смертності у пацієнтів із первинною підозрою на туберкульоз та лікування від нього. Питання тут полягає в тому, чи може грибкова інфекція легень бути первинною чи вторинною при туберкульозній інфекції. Хоча на даний момент відповісти на це питання складно, за допомогою цього дослідження ми намагалися визначити поширеність і співіснування легневих грибкових патогенів, ТБ і ВІЛ серед осіб з клінічними ознаками легеневого туберкульозу в клініці для лікування туберкульозу на південному заході Уганди [45].

Томас Дж. Волш і Денніс М. Діксон [61] стверджують, що більшість випадків первинних глибоких мікозів є безсимптомними або клінічно легкими інфекціями, що виникають у здорових пацієнтів, які живуть або подорожують в ендемічних районах. Однак пацієнти, які піддалися впливу високої кількості мікроорганізмів, або пацієнти зі зміненими захисними силами хазяїна можуть страждати від небезпечного для життя прогресування або реактивації латентних вогнищ інфекції.

Артроконідії *Coccidioides immitis* вдихаються і перетворюються в легені на сферули. Більшість випадків кокцидіоїдомікозу є клінічно прихованими або легкими інфекціями у пацієнтів, які вдихають інфекційні артроконідії. Однак у деяких пацієнтів прогресуюча легенева інфекція може також поширюватися в мозок, кістки та інші ділянки. Кокцидіозний менінгіт є небезпечною для життя інфекцією, яка потребує довічного лікування.

Бластомікоз, подібний до гістоплазмозу, є первинною легеневою інфекцією в результаті вдихання конідій із фази

міцелію *Blastomyces dermatitidis*, які *in vivo* перетворюються на фазу паразитичних дріжджів. Бластомікоз у бластоконідіальній фазі також викликає первинну легеневу інфекцію. Організм викликає гранулематозну реакцію, яка часто поєднується з вираженою фіброзною реакцією. Клінічна картина легеневого бластомікозу є клінічною картиною хронічної пневмонії. Поширення відбувається найчастіше на шкірі, кістках і, у чоловіків, на простаті [61].

Захворюваність на легеневий мікоз зросла протягом останніх кількох десятиліть через широке використання антибіотиків широкого спектру дії, імунодепресантів і хіміотерапевтичних засобів, а також збільшення частоти респіраторних захворювань, включаючи хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), рак легенів і туберкульоз. Повідомлялося, що загальна частота системної грибкової інфекції становить до 11,3%, і 60% з них вражають бронхи та легені при аутопсії. Однак через відсутність специфічних клінічних проявів і візуалізаційних особливостей діагностика легеневого мікозу є важкою [42].

1.2 Етіологія глибоких легневих мікозів

Глибокі легеневі мікози спричиняються грибами, які належать до різних родів і видів. Ці гриби можуть бути розповсюджені у ґрунті, рослинах або інших природних середовищах, особливо у вологих або теплих кліматичних умовах. Організм може заражатися цими грибами через вдихання їхніх спор або часток, які присутні у повітрі.

Основні групи грибів, що можуть спричиняти глибокі легеневі мікози, включають, але не обмежуються:

Histoplasma capsulatum: цей гриб може бути присутній у ґрунті, де живуть птахи або їхні відходи. Люди можуть заражатися цим грибом через вдихання спор, які виділяються в ґрунті під час робіт з землею або при очищенні пташників.

Blastomyces dermatitidis: цей гриб також має ґрунтове походження і

може бути знахідний у вологих місцях, таких як ліси або заболочені ділянки. Люди можуть заражатися вдихаючи спори цього гриба, які зазвичай розсіюються у повітрі під час будівельних робіт або під час відпочинку на природі.

Coccidioides immitis та *Coccidioides posadasii*: ці гриби зазвичай проживають у ґрунті пустельних або напівпустельних областях. Люди можуть заражатися цими грибами через вдихання спор, які піднімаються в повітрі при роботі з ґрунтом.

Зараження цими грибами може відбуватися в осіб зі зниженим імунітетом, що робить їх більш вразливими перед грибковими інфекціями. Інфекція глибокими легеневиими мікозами може бути серйозною і вимагати адекватного лікування, оскільки незважаючи на рідкість, вона може призвести до важких ускладнень в організмі.

Грибкова інфекція може розвиватись як у імунокомпетентних осіб, так і у пацієнтів з імунною недостатністю. У перших збудниками частіше є *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* та *Blastomyces dermatitidis*, а у пацієнтів з імунною супресією – *Aspergillus*, *Candida species*, *Cryptococci*, *Pneumocystis jiroveci* [1].

Виникнення глибоких легневих мікозів також може бути пов'язане з певними ризиковими факторами, такими як імунодефіцитні стани (наприклад, ВІЛ/СНІД), прийом імуносупресивних ліків або важких захворювань.

Глибокі мікози є рідкісними інфекціями в нашому середовищі. Вони виникають переважно у пацієнтів з імунодепресією або в регіонах з тропічним кліматом, охоплюючи підшкірні та системні мікози [16].

Легеневий мікоз – це грибкова інфекція легенів. Це може бути викликано ендемічними або умовно-патогенними грибами або їх поєднанням. Смертність від легеневого мікозу може сягати 90% у пацієнтів з ослабленим імунітетом, хоча імунокомпетентні пацієнти зазвичай добре реагують на протигрибкову терапію.

Грибкові інфекції легень часто становлять складну діагностичну проблему через відсутність будь-якого патогномічного клінічного синдрому та характерних рентгенологічних ознак. В Індії та інших країнах, що розвиваються, проблема ще більше ускладнюється переважанням легеневого туберкульозу та нестачею діагностичних мікологічних лабораторій.

Клініко-рентгенологічна характеристика мікозу легенів дуже схожий на туберкульоз легенів, через що хворобу легко неправильно діагностувати та неправильно лікувати як туберкульоз. Таким чином, вони можуть страждати від ускладнень, яких можна уникнути через необґрунтовану хіміотерапію [9].

Глибокі грибкові інфекції знаходяться в інших місцях людського тіла, крім шкіри, наприклад у легенях, крові, сечовивідних шляхах або мозку. Деякі з них є опортуністичними інфекціями, тобто вони зазвичай викликають захворювання лише у людей з ослабленою імунною системою.

Глибокі або інвазивні грибкові інфекції включають:

Гістоплазмоз. Гістоплазма, грибок, який викликає гістоплазмоз, може вражати легені, мозок або інші частини тіла. Зазвичай зустрічається в долинах річок Огайо та Міссісіпі.

Кокцидіоїдомікоз (лихоманка долини). Кокцидіоїдомікоз, викликаний грибом *Coccidioides*, може вражати легені та рідко поширюватися на інші частини тіла. Найбільш поширений в Каліфорнії та Арізоні.

Бластомікоз. *Blastomyces*, грибок, який викликає бластомікоз, зазвичай вражає кістки, шкіру та легені. Рідко він також може інфікувати головний і спинний мозок.

Аспергільоз. *Aspergillus*, пліснява, яка викликає аспергільоз, може викликати кілька типів легневих інфекцій, включаючи алергічний бронхолегеневий аспергільоз (АБЛА) і хронічний легневий аспергільоз. Він також може інфікувати інші частини тіла або утворити грибкову кульку (аспергіллому).

Пневмоцистна пневмонія (ПЦП). Грибок *Pneumocystis jirovecii* може

викликати пневмонію.

Мукормікоз. Мукормікоз викликає група плісняви порядку *Mucorales*. Ці гриби можуть інфікувати синуси та мозок (риноцеребральний мукормікоз), легені (легеневий мукормікоз), кишечник (шлунково-кишковий мукормікоз), шкіру (шкірний мукормікоз) або багато частин тіла одночасно (дисемінований мукормікоз).

Криптококоз. *Cryptococcus neoformans* і *Cryptococcus gattii* викликають криптококоз. Зазвичай вони вражають ваші легені, але іноді можуть вражати головний і спинний мозок [28].

Aspergillus є всюдисущим організмом, який найкраще росте у вологому середовищі, хоча аерозолізація та розсіювання спор відбувається в сухому кліматі. Він може проявлятися різними легневими синдромами залежно від неушкодженості імунної системи.

Лікування включає системне або кишковорозчинне застосування азольних препаратів і хірургічну резекцію при нереактивному захворюванні. Інвазивний легневий аспергільоз зустрічається майже виключно у пацієнтів з ослабленим імунітетом із тривалою нейтропенією та асоціюється з поганим прогнозом (рис. 1.1) [62]. Результати КТ включають чітко окреслене(і) ураження(я) з або без навколишнього «ореолу» ослаблення сірого кольору матового скла, повітряного півмісяця та утворення порожнини.

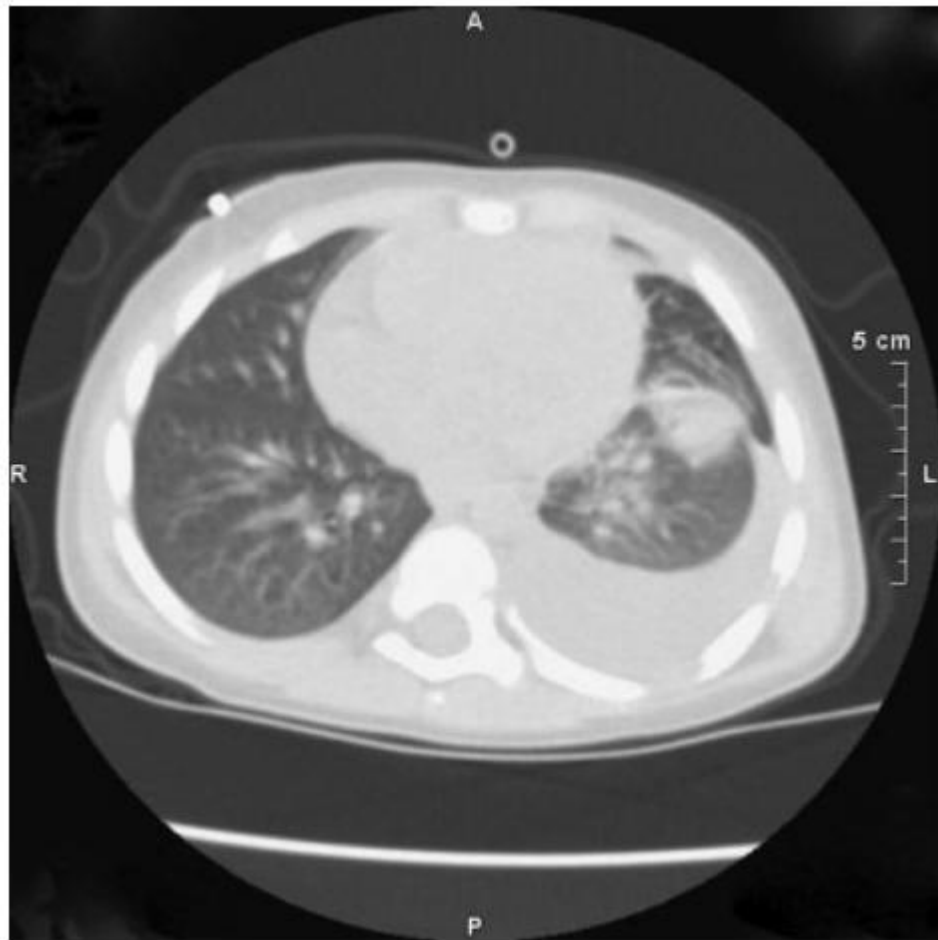


Рис. 1.1. Аксіальні зображення КТ грудної клітки демонструють великий плевральний випіт та інфільтрат лівої нижньої частки у 3-річного хлопчика із синдромом Віскотта-Олдріча після трансплантації кісткового мозку з легенеvim аспергільозом

Види *Aspergillus* зазвичай не виявляють із крові, а виділяють із респіраторних виділень, таких як мокротиння та бронхоальвеолярний лаваж, тоді як біопсія легенів часто сприяє діагностиці. Галактоманнан, вуглевод, що входить до складу клітинної стінки *Aspergillus*, також може відігравати важливу роль у скринінгу пацієнтів із високим ризиком та оцінці відповіді на терапію. Існує широкий діапазон повідомлень про чутливість і специфічність сироваткового галактоманану для скринінгу або діагностики інвазивного аспергільозу в педіатричній популяції з медіаною чутливості приблизно 73% і медіаною специфічності 90% [62]. Повідомляється про аналогічну

чутливість і специфічність для галактоманнану BAL. Однак його використання не рекомендовано для діагностики інвазивного аспергільозу з ураженням легенів.

Алергічний бронхолегеневий аспергільоз є ще одним фенотипом легеневого захворювання, яке описується переважно у пацієнтів з астмою та кістозним фіброзом. Це захворювання легенів, викликане гіперчутливістю до антигенів *Aspergillus* і характеризується центральними бронхоектазами, підвищенням рівня IgE в сироватці крові та сенсibiliзацією проти *Aspergillus*. Діагноз підтверджується позитивним шкірним прик-тестом або підвищеним рівнем сироваткового IgE проти *Aspergillus*. Лікування АБЛА складається з тривалого курсу кортикостероїдів і протигрибкових засобів, таких як кетоконазол або ітраконазол. Пацієнти з кістозним фіброзом також можуть мати легеневу інфекцію, спричинену аспергілом, що розглядається у пацієнтів із виділенням аспергілу з дихальних шляхів, що супроводжується респіраторними симптомами, такими як посилений кашель, хрипи та коричневе мокротиння, зниження функції легенів, зміна зображення грудної клітки та відсутність відповідь на стандартну відповідну антибактеріальну терапію. Однак на сьогоднішній день немає глобального консенсусу щодо конкретних діагностичних критеріїв і лікування [37].

В одному дослідженні *Aspergillus* були виділені у 33% (86/251 випадків) реципієнтів трансплантації легень, які включали колонізацію (n=50), трахеобронхіальні ураження (n=17) або інвазивний аспергільоз (n=19). Крім того, смертність від інвазивного легеневого аспергільозу пацієнтів з нейтропенією становила від 40 до 60% у перших звітах.

Загалом клініцисти повинні залишатися пильними щодо інвазивних та серйозних грибкових інфекцій легенів навіть у осіб, які вважаються лише помірно ослабленими імунітетом [50].

Багато факторів, ймовірно, сприяли виникненню ІФІ, включаючи епідемію ВІЛ, різке зростання кількості пацієнтів, які отримують все більшу кількість імуносупресивної терапії, а також збільшення популяції з частими

нозокоміальними контактами та втручаннями. Однак точна оцінка справжнього тягара IFI є важкою через різницю у визначеннях та обмеження, притаманні наявним методологіям виявлення випадків [63].

Pneumocystis jirovecii спочатку класифікували як найпростіші на основі морфологічних характеристик трофічних і цистових форм, але після аналізу рибосомальної РНК (рРНК) було визначено, що це гриб. Передача *P. jirovecii* відбувається протягом перших років життя через контакт від людини до людини і зазвичай викликає безсимптомну або легку самообмежувальну інфекцію верхніх дихальних шляхів. Дві третини імунокомпетентних осіб мають специфічні антитіла до 4 років. Пневмоцистна пневмонія може виникнути як первинне захворювання, реактивація латентного захворювання або повторне зараження новим штамом у дітей з ослабленим імунітетом з якісними та кількісними дефектами Т-лімфоцитів.

Найбільш точний діагноз РСР пневмонії встановлюється за допомогою гнучкої бронхоскопії з бронхоальвеолярним лаважем, особливо у пацієнтів, які не мають ВІЛ-інфекції, де кількість кіст у нижніх дихальних шляхах невелика. Очікується, що в рідині BAL будуть виявлені мікроорганізми принаймні протягом 72 годин після початку лікування РСР. Тому терапію не слід відкладати, коли існує високий індекс підозри.

Вид *Cryptococcus*. **Криптококова пневмонія** виникає у пацієнтів з тяжким імунодефіцитом і найчастіше у пацієнтів з ВІЛ-інфекцією та низьким вмістом Т-лімфоцитів. Найважливішими **патогенами** є *Cryptococcus neoformans* і *Cryptococcus gattii*, які зазвичай зустрічаються в ґрунті, особливо в місцях, де живуть птахи та кажани [21]. Первинне зараження відбувається при вдиханні грибкових елементів і може протікати безсимптомно, легко або бути причиною довічної латентної інфекції. Однак імуносупресовані пацієнти, особливо після підліткового віку, ризикують реактивувати грибкове захворювання, основними проявами якого є криптококова пневмонія та **менінгоенцефаліт**.

Криптококова пневмонія характеризується кашлем, болем у грудях і конституціональними симптомами. Дані на рентгенограмах грудної клітки та комп'ютерній томографії можуть відрізнятися від відсутності аномалій до вузликів, альвеолярних інфільтратів і лімфаденопатії. Колонізація *Cryptococcus* є незвичайною; отже, виділення в мокротинні або посіві БАЛ, що відповідає клінічним ознакам, є достатнім для встановлення діагнозу [54]. Виявлення криптококового антигену в плазмі є корисним для діагностики дисемінованої форми, але воно може бути негативним при криптококовій пневмонії, тоді як виявлення антигену в мокроті або БАЛ не має оптимальної чутливості. Лікування криптококової пневмонії залежить від тяжкості захворювання та супутнього менінгоенцефаліту. Амфотерицин В і пероральний флуцитозин протягом 6–10 тижнів застосовуються при важких проявах, тоді як захворювання середньої тяжкості відповідає пероральному флуконазолу.

Золотим стандартом лабораторної діагностики гістоплазмозу є виявлення дріжджів при патологічному дослідженні тканини та виділення плісняви в культурі клінічних зразків. Цитопатологічне дослідження рідини БАЛ має чутливість приблизно 50% для легеневого гістоплазмозу, а в поєднанні з тестуванням на антиген БАЛ вона підвищується до 97%. Дослідження на антиген сечі можна використовувати для діагностики дисемінованих випадків, тоді як дослідження на антитіла призначене для підгострих і хронічних форм гістоплазмозу [7]. У здорових людей легеневий гістоплазмоз може спонтанно зникати без будь-яких клінічних наслідків. При тяжкому легеневому гістоплазмозі та дисемінованому захворюванні рекомендується амфотерицин В, але помірні легеневі інфекції можна лікувати ітраконазолом.

Рід *Blastomyces*. *Blastomyces* мешкає переважно в районах Сполучених Штатів і Канади, що оточують річки Огайо та Міссісіпі. Зазвичай він зустрічається у вологому середовищі та місцях, багатих органічними матеріалами. Бластомікоз викликає спектр клінічних синдромів, що

вважають майже кожен орган, але найчастіше вражають легені, причому найбільш серйозні та поширені прояви виникають у пацієнтів з ослабленим імунітетом.

Первинне захворювання легень зазвичай виникає внаслідок вдихання спор і часто має субклінічний характер [27]. Симптоматичні пацієнти мають раптове підвищення температури, озноб, продуктивний кашель і плевритний біль у грудній клітці, який може зникнути без протигрибкового лікування протягом 2–3 тижнів. Грибкову інфекцію іноді помилково приписують вірусній або бактеріальній пневмонії. У рідкісних випадках гострий легеневий бластомікоз може призвести до гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) навіть у імунокомпетентних пацієнтів, ймовірно, через вплив великої кількості конідій або енергійну реакцію організму на інфекцію.

Позалегенові прояви у дітей зазвичай включають скелетні ознаки, такі як літичні ураження довгих кісток, параспінальні абсцеси, дискит і, рідше, ураження шкіри [17]. Рентгенологічні знахідки варіабельні та включають плямисті або злиті консолидації, вузлики або кавітацію, тоді як некротичні гранульоми, особливо гнійного типу, виявляються під час гістопатологічного аналізу. Діагноз встановлюється шляхом прямої візуалізації *Blastomyces* у мокротинні або БАЛ, посівом або виявленням антигенів *Blastomyces* у респіраторному секреті. Серологічний тест не є чутливим і демонструє перехресну реакцію з іншими грибами. Лікування легеневого бластомікозу передбачає щонайменше 6 місяців перорального прийому ітраконазолу.

Види роду *Coccidioides* є ендемічними на південному заході США, Мексиці та деяких районах Центральної та Південної Америки. Первинна інфекція виникає при вдиханні спор і протікає безсимптомно або проходить самостійно у 60% дітей. Симптоматичні пацієнти, у яких розвивається гостра кокцидіїдна пневмонія, мають неспецифічні ознаки нездужання, лихоманки, кашлю та болю в грудях, які можуть зберігатися протягом тижнів або

місяців. В ендемічних районах на частку кокцидіоїдної пневмонії припадає 17–29% усіх випадків позалікарняної пневмонії, і в цих регіонах часто розглядають можливість проведення рутинного кокцидіоїдного тестування. Позалегеневі прояви включають мультиформну еритему, вузлувату еритему та артралгію, які можуть допомогти в діагностиці. Рентгенологічні дані відповідають сегментарній або лобарній пневмонії, при цьому зазвичай спостерігається супутня медіастинальна або внутрішньогрудна лімфаденопатія. У деяких випадках початкові інфільтрати розвиваються в товстостінні або тонкостінні порожнини, які можуть розірватися в плевральній порожнині, викликаючи бронхолегеневі фістули або гідропневмоторакс.

Крім того, легеневі інфільтрати можуть зберігатися у вигляді вузликів протягом десятиліть і зазвичай помилково діагностуються як злоякісні пухлини пізніше в житті. У дорослого населення також описано хронічне фіброзно-кавітарне захворювання, що супроводжується постійним кашлем, втратою ваги та нічним потовиділенням.

Дисеміноване захворювання найчастіше виникає у пацієнтів з ослабленим імунітетом із рентгенологічними ознаками дифузного ретикуло-нодулярного малюнка або міліарних вузликів. Діагноз легеневого кокцидіоїдомікозу встановлюється за допомогою гістопатологічного дослідження та посіву рідини бронхоальвеолярного лаважу. Однак культури становлять серйозну біологічну небезпеку для персоналу лабораторії [38].

1.3. Клінічні ознаки, патогенез глибоких легеневих мікозів

Глибокі легеневі мікози є серйозними інфекційними захворюваннями, які спричинені грибами, і можуть мати різноманітний клінічний перебіг. Основні види грибів, що викликають ці захворювання (наприклад, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides*), мають різні шляхи патогенезу та клінічні прояви, хоча загальні симптоми можуть бути схожими.

Клінічні ознаки глибоких легеневих мікозів можуть включати:

Легеневі симптоми: це може включати кашель, біль у грудях, затруднене дихання, спутаність, непродуктивний кашель тощо. Ці симптоми можуть зростати поступово протягом декількох тижнів або навіть місяців.

Системні симптоми: хвороби можуть супроводжуватися загальними симптомами, такими як втомленість, лихоманка, м'язова слабкість, втрата апетиту та ваги.

Локальні ураження: глибокі легеневі мікози можуть також викликати формування вузлових утворень, абсцесів, та інших локальних уражень у легенях.

Патогенез глибоких легеневих мікозів пов'язаний зі спроможністю грибів викликати інфекцію у легенях при вдиханні спор або мікроскопічних часток. Гриби, як правило, відкладаються у дихальних шляхах, спричинюючи відповідь імунної системи. В деяких випадках, особливо у людей зі слабким імунітетом, гриби можуть поширюватися далі в організм, призводячи до важкого захворювання, такого як дисемінована мікозність, коли грибки поширюються через кров до інших органів, таких як шкіра, нирки, центральна нервова система та інші.

Знання клінічних ознак і патогенезу глибоких легеневих мікозів допомагає лікарям вчасно розпізнавати та ефективно лікувати ці захворювання, запобігаючи ускладненням та покращуючи прогноз для пацієнтів.

Інвазивний легеневий аспергільоз (ІПА) – це важка інфекція зі швидким поширенням з легенів у мозок, серце, нирки або шкіру. Це основна причина смерті пацієнтів з ослабленим імунітетом (наприклад, пацієнтів з лейкомією та реципієнтів трансплантатів гемопоетичних стовбурових клітин), що відповідає рівню смертності від 70 до 90%.

Основні клінічні прояви включають артралгію, цефалгію, озноб і лихоманку, біль у грудях, сухий кашель, кашель із кровохарканням, свистяче дихання, задишку, симптоми з боку очей, ураження шкіри, втома та втрату

ваги.

Більшість пацієнтів (60%) з кокцидіоїдомікозом залишаються безсимптомними. У третини пацієнтів розвивається легенева хвороба; у 0,5–2% випадків інфекція поширюється на інші ділянки тіла (наприклад, шкіру, кістки, суглоби, центральну нервову систему). Найбільш поширені симптоми включають артралгію, цефалгію, біль у грудях, озноб, кашель, кровохаркання, задишку, втома, лихоманку, міалгію, вузлики в легенях, висипання, гіпергідроз уві сні та втрату ваги [46].

Кокцидіомікоз. Ця інфекція викликається спорами двофазного гриба *Coccidioides immitis*. Ендемічними регіонами є південний захід США і Мехіко. Розрізняють первинний і вторинний кокцидіомікоз. Первинний перебіг має форму доброякісного респіраторного захворювання. Вторинний кокцидіомікоз розвивається у 0,2-1% хворих при генералізації інфекції з основного вогнища. Гостра форма інфекції, що проявляється бронхопневмонією, в основному пов'язана з ексудацією нейтрофілів і подальшою гранулематозною інфільтрацією. Більшість пацієнтів не мають жодних рентгенологічних проявів. Однак приблизно у 40% пацієнтів спостерігаються симптоми захворювання і неоднорідні поля ущільнення, які зникають через кілька тижнів. Збільшення лімфовузлів коренів легенів спостерігається у 20% хворих.

Дисемінація захворювання зазвичай відбувається у хворих з імунodefіцитом. При цьому рентгенологічне зображення характеризується дифузним ретикулонодулярним малюнком або кількома вузлами.

Морфологічно патологічний процес проявляється ураженням у вигляді некротичного гранулематозного запалення, але іноді без некрозу [58].

Патогенез. Імовірність розвитку клінічно вираженого захворювання визначається станом специфічних та неспецифічних захисних реакцій організму: лише при кокцидіоїдозі, гістоплазмозі та деяких бластомікозах потрапляння заражаючої форми грибів в організм майже постійно супроводжується захворюванням. Однак і при перелічених мікозах

вираженість клінічних проявів хвороби дуже широко варіює, частина заражених *C.immits* відзначається лише грипоподібне захворювання.

Найчастіше з проблемою пневмомікозу стикаються терапевти, пульмонологи, алергологи та реаніматологи. В даний час проблеми діагностики і подальшого лікування мікозів остаточно не вирішені через труднощі диференціальної діагностики, суперпозиції мікогенної інфекції із захворюваннями легень і соціально-економічних проблем. Запідозрити мікогенну інфекцію слід через атиповий перебіг захворювання легенів, його загострення та відсутність клінічної відповіді на стандартну терапію. Також необхідно пам'ятати про пацієнтів з групи ризику по мікозу - з порушеною імунною відповіддю.

1.4 Особливості лабораторної діагностики глибоких мікозів

Діагностика глибоких мікозів є складним завданням і вимагає інтегрованого підходу, який включає клінічні огляди, лабораторні методи та інструментальні дослідження. Для точної діагностики використовуються такі методи:

Мікроскопія та культивування грибів: це одні із ключових методів діагностики. Проба з бронхоскопії може бути використана для виявлення грибів у матеріалі, отриманому з легеневих шляхів. Після збору зразків, їх аналізують на мікроскопічному рівні та культивують для ідентифікації виду гриба.

Серологічні та імунологічні тести: деякі глибокі мікози можуть бути діагностовані за допомогою тестів на наявність специфічних антитіл у крові.

У діагностиці глибоких мікозів можуть використовуватися серологічні методи у вигляді виявлення в крові хворих антитіл, які з'являються тільки при інвазивних формах цих інфекцій.

Для підтвердження грибкової природи алергії на реакін, асоційованої з мікозами, необхідно визначити в крові хворих грибоспецифічний Ig E.

Цінним елементом ретроспективної діагностики та прогнозу мікозів є

імунологічні реакції «клітинного» типу та шкірні алергічні проби, оскільки вони виявляють формування у пацієнтів гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ).

Матеріалом для дослідження є мокрота, кров, спинномозкова рідина, сеча, біопсійний матеріал. У патологічному матеріалі (просвітленому лугом), мазках по Романівському-Гімзі, гістологічних препаратах, забарвлених за методом Periodic Acid-Schiff, гематоксиліном та еозином або срібленням по Грокотту-Гоморі визначаються тканинні (дрожоподібні) форми збудника. При гістоплазмозі вивчаються лише забарвлені препарати (мазки крові, біоптати) [51].

У серологічній діагностиці використовуються тести імунопреципітації та фіксації комплементу та більш сучасні – латексаглютинації та імуноферментні. Реакції фіксації комплементу стають позитивними пізніше за інші тести, їх титри корелюють з тяжкістю захворювання (наростають при дисемінації) і можуть падати при вкрай тяжкій його течії. Можливі перехресні реакції. Реакції латекс-аглютинації та імунопреципітації дозволяють виявити ранні антитіла класу IgM. Найбільш специфічними вважаються тести імунодифузії [51].

Молекулярно-генетичні методи: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та інші молекулярні техніки можуть виявляти ДНК або РНК грибів у біологічних матеріалах.

Отримати конверсію фази вдається не завжди, причому це вимагає часу.

Останнім часом розроблені досконаліші засоби ідентифікації – ДНК гібридизація та тести з екзоантигенами збудників [51].

Біопсія: іноді для отримання матеріалу для дослідження призначається біопсія, де зразки тканин легень відправляють на лабораторні аналізи.

Діагностика мікозів тільки клінічними методами неможлива, оскільки їх клінічні прояви та ознаки не мають абсолютної специфічності. Діагностика мікозів не може базуватися лише на даних лабораторного дослідження,

оскільки багато збудників мікозів можна виявити на слизових оболонках і шкірі здорових людей.

Тому для діагностики мікозу використовується комплекс клініко-лабораторних обстежень хворого, який включає:

1. Анамнез (прийом антибіотиків, імунодефіцитні стани).
2. Клінічні прояви мікотичної інфекції.
3. Виділення даного гриба з підтвердженням його участі в даному інфекційному процесі:
 - а) мікроскопічне дослідження нативних або пофарбованих мазків;
 - б) виділення збудника на живильному середовищі;
 - в) серологічні методи;
 - г) шкірні алергічні проби [8].

Шкірні тести (аналоги реакції Манту) мають обмежене застосування в діагностиці ендемічних мікозів, за винятком кокцидіоїдозу. Позитивні шкірні тести зберігаються після перенесеної інфекції при тому, що інфікованою є значна частина населення ендемічних зон.

Діагностика кандидозної пневмонії складна. Клінічні та рентгенологічні ознаки неспецифічні і не дозволяють відрізнити кандидозну пневмонію від бактеріальної або іншої мікотичної. Серологічні та ПЛР-методи діагностики не розроблені. Виявлення *Candida spp.* при мікроскопії та посіві мокротиння або БАЛ зазвичай свідчить про поверхневу колонізацію бронхів або глотки, не є діагностичним критерієм кандидозної пневмонії та показанням для призначення протигрибкових ЛЗ [51].

Методи діагностики:

- КТ або рентгенографія легень;
- посів крові як при діагностиці кандидемії чи ОДК;
- біопсія вогнищ ураження (через бронхіальна, трансторакальна, відкрита);
- мікроскопія біопсійного матеріалу з обробкою білим калькофлюором;
- гістологічне дослідження біоптату;

- посів біопсійного матеріалу;
- обов'язковою є ідентифікація виду виявленого збудника;
- обстеження хворого виявлення джерела інфекції та інших вогнищ дисемінації.

Ефективність мікроскопічного дослідження збільшується після обробки респіраторних субстратів каліфлюором білим. Мікроскопію та посів БАЛ та інших респіраторних субстратів для виявлення *Aspergillus spp.* необхідно проводити повторно, оскільки діагностична чутливість цих методів невелика. Слід зазначити, що навіть при дисемінованому аспергільозі збудник дуже рідко виділяють при посіві крові [48].

Помилкові результати тесту *Platelia Aspergillus* пов'язують із застосуванням деяких антибактеріальних лікарських засобів (наприклад, піперациліну/тазобактаму), а також з перехресними реакціями з екзоантигенами інших мікроміцетів. У дітей неправдиво позитивні результати тесту *Platelia Aspergillus* відзначають частіше, ніж у дорослих. Хибнонегативні результати можуть бути пов'язані з профілактичним або емпіричним застосуванням протигрибкових препаратів. Ефективність гістологічного дослідження біоптату підвищується при використанні імпрегнації сріблом по Гоморі-Грокотту.

При позалегенової локалізації діагноз встановлюють на підставі дослідження матеріалу з осередку ураження. Аспергільоз ЦНС необхідно виключити у всіх випадках після явища неоясненої неврологічної симптоматики у хворих з інвазивним аспергільозом іншої локалізації. Діагностичне значення високого рівня фібриногену та прокальцитоніну у сироватці крові не визначено. Підвищення рівня С-реактивного білка неспецифічне.

Основним методом діагностики криптокозу є виявлення *C.neoformans* при мікроскопії та посіві СМР, крові та інших субстратів, а також визначення криптококового антигену в СМР та крові. Діагностична чутливість мікроскопії СМР з фарбуванням тушшю становить 40-70%. На стандартних

середовищах колонії *C. neoformans* зазвичай виявляють через 3-10 днів. Діагностична чутливість посіву СМР – 50–70%.

Виявлення *C. neoformans* у будь-якому клінічному дослідженні з високою ймовірністю свідчить про наявність інфекції. Визначення криптококового антигену в СМР та сироватці крові має важливе значення в ранній діагностиці криптокока коза. Показники специфічності та чутливості стандартних тестів для визначення криптококового антигену (Pastorex Crypto-Plus, Bio-Rad) перевищують 90%. Хибнопозитивні результати визначення криптококового антигену зустрічаються рідко, вони можливі при злоякісному новоутворенні, високому титрі ревматоїдного фактора в сироватці крові, а також при інфекціях, зумовлених *Trichosporon spp.*, *Carpocytophaga canimorsus* і *Stomatococcus mucilaginosus*. Люмбальна пункція з визначенням тиску СМР повинна бути проведена за будь-якої локалізації криптококової інфекції, оскільки криптококовий менінгіт може протікати асимптомно, а нормалізація внутрішньочерепного тиску є найважливішим методом зниження ранньої летальності [48].

Методи діагностики:

- люмбальна пункція з визначенням тиску СМР (при будь-якому клінічному варіанті криптококозу);
- загальноклінічний та біохімічний аналіз СМР;
- мікроскопія СМР, інших біологічних рідин, матеріалу з вогнищ ураження (забарвлення тушшю, альціановим синім);
- посів СМР, крові, сечі, матеріалу з вогнищ ураження;
- визначення антигену *C. neoformans* у СМР та крові тестом латекс-аглютинації (Crypto-Plus, BioRad);
- МРТ чи КТ головного мозку, КТ чи рентгенографія легень;
- виявлення джерела інфекції та вогнищ дисемінації, отримання матеріалу з вогнищ ураження.

Гістоплазмоз. Хоча докази занадто мізерні, щоб рекомендувати конкретну діагностичну схему, комбінація принаймні двох з наступних

діагностичних методів виглядає розумною:

(a) Гістологія. Як правило, у біоптаті виявляються туберкулоїдні гранульоми з великою кількістю поліморфноядерних лейкоцитів і гістіоцитів з внутрішньоклітинними дріжджовими клітинами. Диференціація від туберкульозу або саркоїдозу може бути важкою, особливо в умовах низької поширеності. Чутливість і специфічність гістології значною мірою залежать від досвіду патолога, але можуть бути посилені фарбуванням грибками, наприклад, фарбуванням метенаміном срібла Гоморі та фарбуванням періодичної кислоти–Шиффа. Маленькі форми дріжджів (приблизно 2 мкм) легко не помітити.

(b) Чутливість залежить від клінічних проявів, статусу імунітету господаря та грибкового навантаження – вона низька у пацієнтів з гострим легенеvim гістоплазмозом. Може знадобитися повторне виділення мокротиння та/або бронхоальвеолярний лаваж та/або аспірат кісткового мозку для посіву та тривалий інкубаційний період посіву (до 6 тижнів).

(c) Тест на антиген. Імуноферментний аналіз для виявлення галактоманнану *H.capsulatum* у крові, сечі та БАЛ комерційно доступний у США. У багатоцентровому дослідженні за участю 111 пацієнтів із доведеним прогресуючим дисемінованим гістоплазмозом ІФА досягла чутливості 91% і специфічності 99% у сечі. Схоже, що чутливість нижча в імунокомпетентних господарів, ймовірно, через менший грибковий тягар. Так само чутливість нижча при локалізованому захворюванні легень. Слід зазначити, що існує сильна перехресна реактивність з іншими ендемічними мікозами, такими як бластомікоз, паракочидіоїдомікоз і таларомікоз. *Histoplasma spp.* містять галактоманнан у клітинній стінці та можуть дати позитивний результат у тестах на галактоманнан, які використовуються для діагностики аспергільозу.

(d) Тест на антитіла. Специфічні до гістоплазми антитіла можна виявити за допомогою імунодифузії, фіксації комплементу або за допомогою ІФА, і комерційний аналіз доступний у США. Через час, необхідний для

вироблення специфічних антитіл (до 3 місяців), негативний тест не завжди виключає гістоплазмоз. На відміну від тестування на антиген, чутливість вища в імунокомпетентних господарів, і тому антиген і антитіло часто використовуються разом, щоб максимізувати загальну чутливість. Шкірний тест на гіперчутливість уповільненого типу з гістоплазміном використовується в основному для епідеміологічних досліджень і не є достатньо точним для використання в діагностиці окремих випадків

(е) ПЛР. У літературі описано декілька протоколів, що використовують різноманітні молекулярні мішені, але роль ПЛР у діагностичному обстеженні ще не визначена [7]. Також була описана флуоресцентна гібридизація *in situ*.

Кокцидіоїдомікоз. Серологія є основним методом діагностики інфекції *Coccidioides* у США, де ІФА для специфічних IgM та IgG комерційно доступні. Підтверджувальний імунодифузійний тест слід замовити після позитивного імуноферментного аналізу через більш високу специфічність. На відміну від більшості інших інфекційних захворювань, антикокцидіодні антитіла будуть позитивними лише у випадку поточної або нещодавно перенесеної інфекції. Обмеження полягає в тому, що антитіла утворюються лише після періоду затримки в кілька тижнів; тому відсутність антитіл не виключає інфікування на ранніх стадіях захворювання.

Пряме мікроскопічне дослідження клінічних зразків та/або культури може бути швидшим способом діагностики інфекцій, спричинених *Coccidioides*. Ріст грибків можна спостерігати протягом 1 тижня, після чого ідентифікація здійснюється комерційно доступним Genprobe із виявленням послідовності нуклеїнової кислоти, специфічної для *S.immitis*. Щоб підтвердити дисемінований кокцидіоїдомікоз, зазвичай необхідно візуалізувати гриби в позалегеневих біопсіях [29].

Паракокцидіоїдомікоз. Точний діагноз паракокцидіоїдомікозу можна поставити після прямого мікроскопічного дослідження характерних дріжджових форм у зразках тканини (мокротиння, асцит, біопсія, зішкріб з уражень шкіри тощо), забарвлених грибовими плямами (великі дріжджові

клітини, оточені мультиполярними дочірніми клітинами, що брунькуються, схожими на «голову Міккі Мауса» або «штурвал») або культивуванням організму [55]. Вирощування культури може тривати до 1 місяця; тому пряма мікроскопія залишається наріжним каменем у діагностиці параксидіозної інфекції. Серологічні методи, зокрема метод кількісної імунодифузії, широко поширені в ендемічних регіонах. Однак у більшості випадків серологія не потрібна для діагностики параксидіомікозу. Хоча це може бути корисним інструментом для моніторингу успіху лікування, досі серологічна діагностика не стандартизована, і результати різних лабораторій можуть суперечити. Не існує валідованих серологічних методів діагностики інфекції *P.lutzii*.

Бластомікоз. Для точного діагнозу бластомікозу та вибору методу необхідний прямий доказ інфікування бластомікозами – шляхом посіву або візуалізації дріжджових форм. Культивування мікроорганізмів *Blastomyces* із респіраторних зразків уражених пацієнтів має високу чутливість близько 90%, але займає 1–4 тижні. Пряме мікроскопічне дослідження типових дріжджових організмів із широкими бруньками є характерним для *Blastomyces*; однак мікроскопія має низьку діагностичну ефективність – до 40%. Серологічні тести на бластомікоз ускладнені їх низькою чутливістю та недостатньою специфічністю через перехресну реактивність проти інших ендемічних мікозів, зокрема проти гістоплазмозу. Користь ПЛР-тестів для виявлення *B.dermatidis* ще не підтверджена великими клінічними дослідженнями. Нарешті, подібно до гістоплазмозу, єдиний аналіз на виявлення антигену доступний у США. Аналіз має високу чутливість близько 90%, але йому також бракує специфічності через перехресну реактивність, особливо при гістоплазмозі [53].

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ; МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

У ході нашої роботи ми досліджували вітчизняну та зарубіжну наукову літературу, що стосується особливостей глибоких легеневих мікозів, зокрема хвороби Дарлінга та сучасних методів їх лабораторної діагностики. Технологія лабораторної діагностики включає в себе різні методи, такі як мікроскопічний, культуральний, молекулярно-генетичний та імунологічний, що використовуються в комплексі.

Сучасні методи лабораторної діагностики характеризуються поєднанням цих різних методів, використанням переваг кожного з них. Технологічні схеми діагностики глибоких легеневих мікозів, таких як гістоплазмоз, містять в собі молекулярно-генетичні компоненти, які забезпечують переваги цих сучасних методів перед традиційними методами лабораторної діагностики.

2.2 Епідеміологічні методи дослідження

Епідеміологічні методи дослідження глибоких легеневих мікозів включають різні підходи для збору даних, аналізу та вивчення поширення цих захворювань в популяції. За допомогою епідеміологічних досліджень груп ризику здійснюється аналіз для визначення факторів, що сприяють поширенню захворювання.

В загальному це наступні методи:

- Ретроспективний аналіз випадків хвороби, за допомогою якого здійснювалося вивчення минулих випадків глибоких легеневих мікозів, що дозволяє зібрати дані про тенденції, розподіл, часові зміни в поширенні та фактори ризику.
- Профілактичні програми та реєстрація випадків: встановлення

системи реєстрації випадків цих мікозів, що дозволило визначити частоту виникнення та оцінити ефективність профілактичних заходів.

- Дослідження шляхів передачі інфекції: визначення можливих джерел інфекції та шляхів передачі грибків, що спричиняють легеневі мікози, включаючи аналіз контактів з ґрунтом, рослинами чи тваринами. Ці методи дозволяють отримати важливі дані для розуміння епідеміології глибоких легневих мікозів, їхнього поширення та факторів, що впливають на розповсюдження захворювання в популяції.

Клінічний та епідеміологічний анамнез, а також візуалізаційні дослідження можуть привести до передбачуваного діагнозу, яким лікарі керуються під час збору клінічних зразків. Такі дані вказують на найбільш прийнятну методику обробки для уточнення етіології, включаючи вибір методики мікроскопічного дослідження (візуалізація грибка в його паразитичній формі) та підбір живильного середовища, температури та інкубаційного періоду (виділення гриба). Грибок для подальшої ідентифікації). Усі ці фактори взаємопов'язані, і відсутність одного або вибір неправильної процедури на будь-якому з цих кроків може поставити під загрозу інтерпретацію кінцевого результату.

Ідеальна комбінація для діагностики легеневої грибкової інфекції повинна включати наступне:

- 1) клінічні ознаки (лихоманка, хрипи, хрипи та рентгенологічні зміни)
- 2) виділення грибів та ідентифікація сумісних грибів
- 3) ідентифікація грибкових елементів, що інвазують тканину
- 4) мікроморфологічна подібність ізольованого гриба до характеристик, що спостерігаються при гістопатологічному дослідженні або при прямому дослідженні
- 5) імунологічна відповідь на виявлений грибок [64].

2.3 Лабораторні методи дослідження

До лабораторних методів відносять мікроскопічні, культуральні,

молекулярно-генетичні та імунологічні методи дослідження.

2.3.1 Мікроскопічне дослідження

Безпосереднє дослідження полягає в мікроскопічній оцінці клінічного зразка, розміщеного між скельцем і накривним скельцем, за допомогою реагентів або барвників для візуалізації грибкових структур. Пряме обстеження є вирішальним для діагностики певних легневих мікозів, таких як пневмоцистоз, паракокцидіоїдомікоз (рис. 2.1) [64].

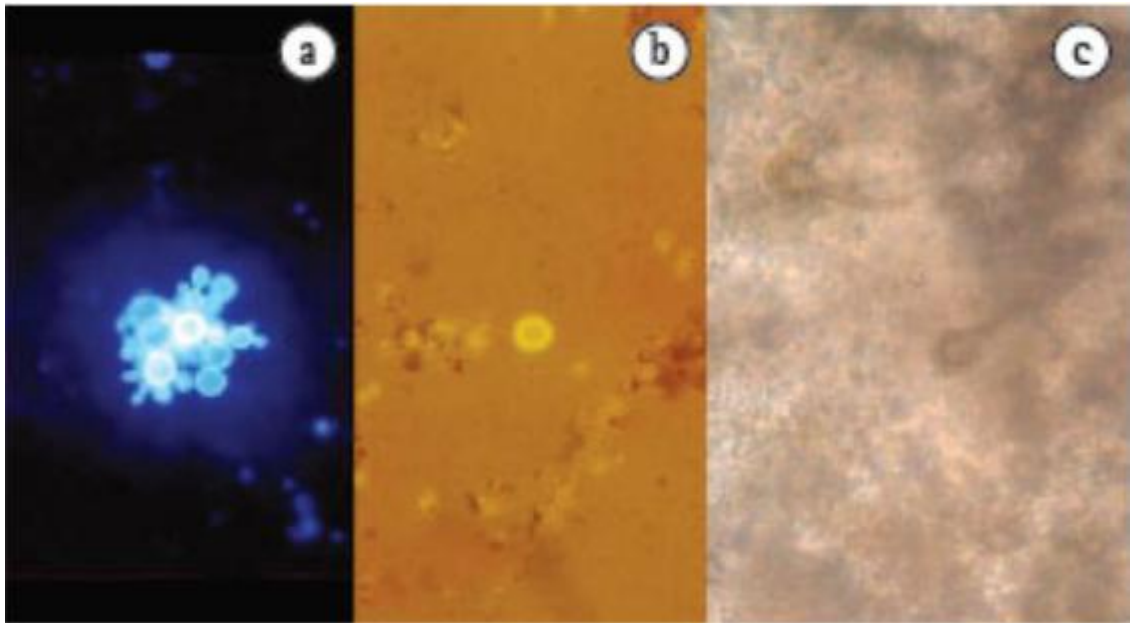


Рис. 2.1 Збудники легневих мікозів під мікроскопом: (а) – пневмоцистоз, паракокцидіоїдомікоз, (б) – криптококоз, (с) – аспергільоз

Однак у більшості випадків прямого обстеження недостатньо для встановлення етіологічного агента. Фрагменти тканин, мокротиння та бронхоальвеолярний лаваж можна аналізувати шляхом додавання розчину, що містить 20% гідроксиду калію, з синьо-чорним чорнилом Parker, білим кальцофлуором або нігрозином або без них. Мазки гною, крові, ексудату, рідини БАЛ та аспірату органів можна зафіксувати та пофарбувати за допомогою фарбування за Гімзою або Грокоттом [64].

Під час дослідження біоматеріалів на пневмомікози використовують стандартні методики прямої мікроскопії, які включають незабарвлені

(нативні) та забарвлені препарати: забарвлення за Грамом, за Романівським-Гімзі та каліфлюором білим (люмінесцентна мікроскопія). Ці методики ефективно застосовуються для виявлення елементів міцеліальних та дріжджових грибів у дихальних біосубстратах, матеріалах із ураженнями у легенях, вмісту легеневих та плевральних порожнин. Використання фіксованих препаратів (над полум'ям пальника) з зразків мокротиння (без центрифугування) та матеріалів після фібробронхоскопії (осад після центрифугування проби при 1500 об/хв протягом 10 хв) забарвлюють за Грамом та при необхідності за Романовським-Гімзом (додаткове фарбування). Препарати з аспіратів та ексудатів із порожнинних утворень (рідкий матеріал) готують з осаду після центрифугування (1500 об/хв протягом 10 хв), без забарвлення або у поєднанні з забарвленням за Грамом (при необхідності). Препарати з щільного біопсійного та резекційного матеріалу готують з додаванням 10% розчину лугу (КОН) – з забарвленням каліфлюором білим або без забарвлення.

При мікроскопічному дослідженні використовують збільшення у x400 та x1000 у світловому мікроскопі та x200 та x400 у люмінесцентному мікроскопі з каліфлюором. Метод мікроскопії з лугом, який використовує різні варіанти забарвлення, є доступним і відомий при опрацюванні біоптатів та резекційного матеріалу з легеневої тканини. Проте впровадження спеціалізованого гістологічного дослідження біоптатів з легеневої тканини у лабораторіях, які займаються туберкульозом, часто ускладнене організаційними та методичними проблемами.

Пряма мікроскопія біоматеріалів є простим і доступним методом лабораторної діагностики пневмомікозів, який дозволяє швидко виявляти елементи грибів у зразках легеневої тканини з ураженням, у бронхоальвеолярному лікворі та мокротинні. Результати мікроскопічного дослідження діагностичних матеріалів є важливими для визначення мікотичної природи бронхо-легеневих інфекцій та встановлення морфологічної форми гриба в організмі хворого (дріжджова або міцеліальна

форма). Варто зауважити, що культуру грибків легеневого мікозу не завжди вдається отримати із зразків легеневої тканини або бронхів, і виявлення клітин та структур гриба при мікроскопії може бути єдиним лабораторним підтвердженням розвитку захворювання.

Для зразків, що містять ураження некротичної тканини, використання спеціальних барвників є важливим, оскільки на зрізах гематоксиліну та еозину багато грибів не видно в некротичних залишках. Обговорюються результати з різними видами грибів. Оскільки розпізнавання грибів у тканинах із гранулематозною реакцією часто визначає специфічну та ефективну терапію, їх ідентифікація є важливим аспектом роботи патолога [56].

При огляді під мікроскопом відзначають середню кількість елементів грибів у полі зору препарату («поодинокі клітини/структури», «помірно», «значно», «рясно») та оцінюють морфологію та розміри вегетативних та репродуктивних структур грибів. Серед них: дріжджові клітини; дріжджові клітини, що ниркуються; фрагменти псевдоміцелію; комбінації дріжджових клітин, псевдогіф та/або гіф; фрагменти істинного міцелію – гіфи (з оглядом септованості гіф, наявності гіф з гілками); артроконідії; конідії; структури конідіального спороношення [56].

Дані прямої мікроскопії є одним із показників активності гриба у процесі хвороби. Діагностична цінність позитивних результатів мікроскопія визначається характером клінічного матеріалу; при дослідженні нестерильних у нормі біологічних субстратів визначального діагностичного значення ці дані немає. У цілому нині при позитивному результаті культурального дослідження діагностична значимість позитивного результату мікроскопії зростає.

2.3.2 Культуральні дослідження

Культивування полягає в забезпеченні грибка, присутнього в клінічному зразку, необхідними поживними речовинами *in vitro*, щоб він міг

розмножуватися, формувати репродуктивні структури та бути ідентифікованим. Таке обстеження слід проводити, навіть якщо під мікроскопом можна ідентифікувати грибок, який має особливу морфологію. Якщо мікроскопічно ідентифікувати грибок неможливо, його необхідно виділити в культуральному середовищі та ідентифікувати для встановлення діагнозу мікозу.

Культуральним середовищем, яке найчастіше використовується в мікологічних лабораторіях, є 2% глюкозний агар Сабуро (рис. 2.2) [64].

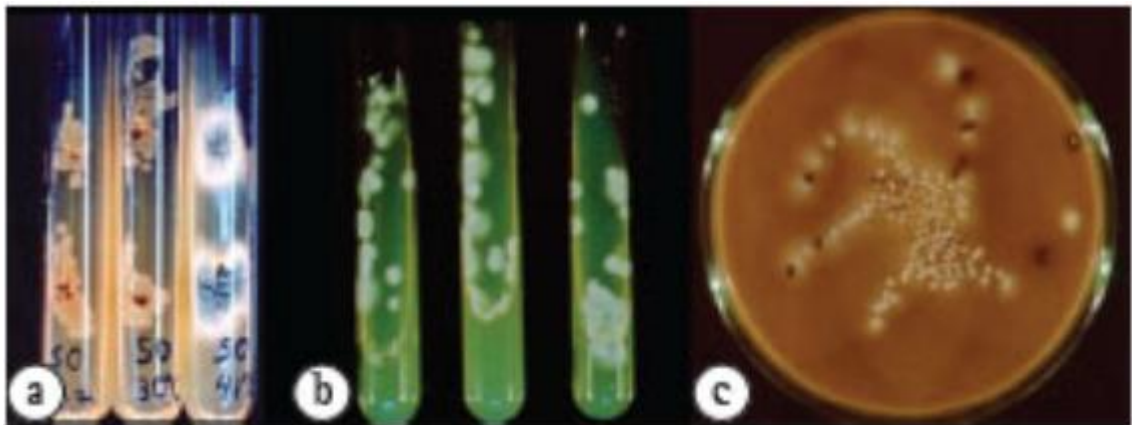


Рис. 2.2. Культуральні середовища, які найчастіше використовуються в мікологічних лабораторіях: (a) Сабуро з циклогексимідом, (b) Сабуро з хлорамфеніколом (c) агар Staib для *Cryptococcus sp.*

Вибір культурального середовища залежить від клінічних даних, результатів мікроскопічного дослідження або обох. Агар Сабуро використовується для виділення швидкозростаючих грибів, тоді як агар Сабуро з циклогексимідом або хлорамфеніколом, які є протигрибковими та антибактеріальними, використовується для виділення грибів, які потребують більш тривалого інкубаційного періоду, таких як диморфні гриби (наприклад, *H.capsulatum*). У цих випадках антимікробні агенти, додані до середовища, пригнічують ріст грибів і бактерій, які перешкоджають росту та виділенню справжнього етіологічного агента. Агар Сабуро з антибактеріальним препаратом хлорамфеніколом: універсальне середовище

для селективного виділення дріжджових та пліснявих грибів різних груп, здатне виявляти дріжджові та плісняві гриби навіть у матеріалі, з контамінацією бактеріями, використовується для вивчення мікоморфології та ідентифікації дріжджів.

Для діагностики хвороби, викликаной пліснявим збудником і підозрі на пневмомікоз, лікарі проводять посів хірургічного матеріалу на два типи живильних середовищ - агар Сабуро з хлорамфеніколом та бульйон Сабуро. Для підвищення чутливості до пліснявих збудників у набір живильних середовищ додають картопляно-декстрозний агар.

Проведення посіву відрізняється залежно від консистенції хірургічного матеріалу. Щільний матеріал розтирають на поверхні агару Сабуро, а також поміщають у пробірку з бульйоном Сабуро для збагачення. Рідкий матеріал засівають на агар Сабуро та рівномірно розподіляють по поверхні, а залишки рідини переносять у бульйон Сабуро.

Посіви інкубують при 30°C та щодобово перевіряють на наявність грибків. Якщо зростання колоній відбувається, вони оцінюються за інтенсивністю: мізерне, помірне або рясне. Якщо зростання відсутнє, інкубацію продовжують на 7-10 днів, після чого виконують повторний посів.

Зразки крові засівають у комерційні флакони BACTEC Myco/F-Lytic, Becton Dickinson та інкубують в автоматичному аналізаторі Bactec 9050, Becton Dickinson. Вміст флаконів Myco/F-Lytic після виявлення зростання забарвлюють за Грамом і пересівають на живильне середовище Сабуро для виділення гемокультур грибів. Інша методика включає: первинний посів крові у флакони двофазної системи «HiCombi», HIMEDIA, інкубацію посівів при 37°C протягом 10 діб і висів на живильне середовище Сабуро при виявленні ознак зростання.

Інші специфічні культуральні середовища можна використовувати у випадках очевидної клінічної підозри, наприклад, стерилізований хліб на етіологічні агенти зигомікозу та агар Staib (насіння *Guizotia abyssinica*) на *Cryptococcus sp.* у зразках, отриманих із бронхіального дерева (рис. 2.2

(с)).

Інкубаційний період і температура також залежать від етіологічного агента, який необхідно виділити. Загалом, дріжджоподібні та нитчасті гриби демонструють швидкий розвиток, виділяючись протягом одного тижня, тоді як диморфні гриби потребують більш тривалого інкубаційного періоду (два-три тижні для *H.capsulatum* та *P.brasiliensis*).

Що стосується температури, матеріал в ідеалі має бути інкубований при 25°C і 35°C, що дозволяє ізолювати всі мікроорганізми та швидко ідентифікувати термічно диморфні гриби.

Для ідентифікації більшості родів нитчастих грибів, відповідальних за легеневі мікози, використовують морфологічні характеристики, виявлені у звичайних культуральних середовищах. Проте для точної ідентифікації деяких видів грибів потрібні спеціальні середовища, наприклад, середовище Чапека-Докса для *Aspergillus* або канаванин-гліцин-бромтимоловий синій для відрізнєння *C.neoformans* і *C.gattii*.

Ще одним корисним методом ідентифікації нитчастих грибів є культивування предметних стекол на картопляно-морквяному агарі, що стимулює утворення конідій і полегшує візуалізацію повних структур споруляції.

Для ідентифікації дріжджів проводяться біохімічні тести, включаючи визначення асиміляції/ферментації вуглеводів, визначення активності уреаз, вимагається автоматизований аналіз, такий як ID 32C і система експресії.

Хоча досі існує неправильна думка, що для отримання результатів мікологічного дослідження потрібно багато часу, більшість грибів, що викликають захворювання людини, можна виділити протягом 7 днів (дріжджоподібні та нитчасті гриби), за винятком диморфних грибів, яким може знадобитися більш тривалий інкубаційний період (два-три тижні) для розвитку характерних структур.

Важливо відзначити, що різноманітні гриби, які викликають легеневі мікози, спочатку вважалися умовно-патогенними мікроорганізмами, тобто

такими, які раніше розглядалися як контамінанти без клінічного значення. Однак ці гриби зараз визнані як патогени та є ключовими етіологічними агентами у людей з ослабленим імунітетом. Зокрема, гриби роду *Aspergillus* відповідають цьому опису; це гриби, які поширені повсюдно і пов'язані з високим рівнем смертності в певних групах пацієнтів, таких як хворі на гематологічні захворювання та отримувачі трансплантатів кісткового мозку.

Отже, культури грибів варто ретельно інтерпретувати, особливо у випадку *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* та зигоміцетів, розглядаючи можливість забруднення зразка або їхню реальну патогенну природу. Остаточний діагноз вимагає поєднання додаткових тестів, таких як патогістологічне або серологічне дослідження.

Слід також зазначити, що диморфні гриби *Histoplasma sp.* і *Coccidioides spp.* є високовірулентними у їхній ниткоподібній фазі. Отже, під час маніпуляцій з грибковими культурами рекомендується використовувати захисний ковпак, а при виділенні *Coccidioides spp.* – працювати з формаліновими культурами.

За останні два десятиліття досягнуто значний прогрес у системах ізоляції грибів з периферичної крові [38]. Починаючи від двофазних середовищ, наразі доступні системи, такі як система лізису-центрифугування культури крові (Wampole Isolator; Wampole Laboratories, Cranbury, NJ, USA), а також автоматизовані системи з безперервним контролем, наприклад, BACTEC (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) і BacT/Alert (bioMérieux).

Ці методи дозволяють ефективно виділяти дріжджі (роди *Candida*, *Trichosporon* і *Cryptococcus*), проте система лізис-центрифугування культури крові вважається золотим стандартом для виділення термічно диморфних грибів, особливо *H.capsulatum*, у зразках крові.

Система лізису-центрифугування культур крові використовується для отримання гемокультур шляхом стерильної венозної пункції. Отриману кров слід засіяти у спеціальний флакон, що містить поліанетолсульфонат натрію, поліпропіленгліколь і сапонін, після чого здійснюється процес гомогенізації

та центрифугування зі швидкістю 5100 обертів на хвилину. Після отримання гемкультури отриманий осад рекомендується посіяти на два види культуральних середовищ: агар Сабуро при 25°C і агар для інфузії при 35°C. Ці культури слід культивувати протягом трьох тижнів.

Компоненти у флаконі виконують певні функції: поліанетолсульфонат натрію діє як антикоагулянт, поліпропіленгліколь виступає як протипінна речовина, а сапонін грає ключову роль у цій системі. Сапонін сприяє лізису білих і червоних кров'яних клітин і блокує комплемент та інші антимікробні речовини плазми. Цей метод виявляє вищу чутливість порівняно з іншими методами отримання гемокультур [64].

Для виділення грибів з біологічного матеріалу (такого як мокрота, вміст бронхів, вміст легеневих та плевральних порожнин, біоптати тканин, виділені з зіва, кров) використовують спеціалізовані живильні середовища:

Селективні хромогенні середовища: використовуються для виявлення змішаних культур дріжджових грибів та одночасної прямої або орієнтовної ідентифікації хвороботворних *Candida spp.*

Картопляно-декстрозний агар: використовується для швидкої ізоляції та ідентифікації пліснявих грибів різних груп.

Ці методи допомагають виявляти та ідентифікувати гриби у біоматеріалі, що дозволяє точніше діагностувати пневмомікози та визначати відповідний лікувальний підхід [27, 12]. Оптимальною температурою для виділення умовно-патогенних грибів при сівбі респіраторного та хірургічного матеріалів є температура 30°C; за відсутності термостата, що підтримує цей режим, посіви можна культивувати при кімнатній температурі 22-25°C. Проведення парних посівів респіраторних матеріалів та їх одночасна інкубація при температурі 30°C та 37°C необхідні виявлення можливого диморфізму збудника мікозу (дрожжева та міцеліальна форма) та дозволяють диференціювати збудники, які ростуть і не здатні до зростання *in vitro* при 37 ° C [25, 32].

Посів мокротиння та матеріалу проводять кількісним методом для

подальшого обліку числа вирослих колоній грибів певного виду (облік однотипних дріжджових колоній проводять через 48 год інкубації, пліснявих колоній – через 2-5 діб). Перед посівом мокротиння протягом 5-10 хв гомогенізують струшуванням із трипсином, потім розводять стерильним фізіологічним розчином (ізотонічний розчин хлориду натрію) у співвідношенні 1:10 і сіють з даного розведення (1:10) [1, 9].

Виділені при культуральних дослідженнях на пневмомікоз штами грибів слід ідентифікувати. Ідентифікація культури гриба – найважливіший етап мікологічного дослідження, необхідний точної диференціації етіології мікозу, коректної інтерпретації отриманих результатів і підбору протигрибкових препаратів на лікування.

При перегляді первинного посіву на агарі Сабуро визначають належність колоній мікроміцетів до дріжджових або пліснявих грибів за їх культуральними ознаками: наявність або відсутність повітряного міцелію, структура та характер поверхні колонії, швидкість та характер зростання, колір колонії та її зворотного боку (реверзumu) та ін. Штами певного морфологічного типу виділяють у чистій культурі на живильному середовищі. Перед цим слід переконатися у чистоті культури.

При подальших дослідженнях виділених штамів використовують спеціальні методики для ідентифікації та визначення чутливості дріжджових або пліснявих грибів.

Нитки псевдоміцелію (частина видів), і дріжджоподібні гриби, що розмножуються артроспорами (формують гіфи міцелію, які розпадаються на поодинокі артроконідії; у крайовій частині колоній характерно утворення помітного субстратного міцелію). При роботі з культурами дріжджових збудників пневмомікозів і глибоких мікозів з ураженням легень важливо диференціювати групи збудників, що різняться за рівнями природної чутливості до лікарських засобів препаратів: аскоміцетові білі дріжджі (*Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*), базидіоміцетні білі дріжджі (*Cryptococcus*, *Malassezia*), базидіоміцетні червоні дріжджі (*Rhodotorula*,

Sporobolomyces), аскоміцетові гриби дріжджі (*Trichosporon*). Для швидкої диференціації дріжджових культур пропонуємо використовувати прості морфологічні характеристики: ознаки колоній (колір поверхні та синтез каротиноїдів, характер поверхні, край колонії, наявність міцеліальних структур) та мікоморфологічні ознаки: наявність клітин, що ниркуються, або артроспор (мікроскопія нативних препаратів), наявність капсул (мікроскопія тушевих) препаратів), а також стандартний біохімічний тест на наявність ферменту уреазу для поділу аскоміцетів (не утворюють уреазу) та базидіоміцетів (утворюють уреазу).

Видова ідентифікація штамів дріжджових грибів включає визначення їх специфічних біохімічних та фізіологічних характеристик з обов'язковим вивченням морфологічних ознак.

Для рутинних досліджень достатньо використовувати одне з перерахованих вище хромогенних середовищ; мініатюризовані ручні тест-системи (ELIchrom FUNGI), Elitech MICROBIO; "Auxacolor 2", Bio-Rad) - для ідентифікації клінічно значущих дріжджових грибів пологів *Candida*, *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Kloeckera* (*Hanseniaspora*), *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Saprochaete*, *Trichosporon* з ауксонограми (здатність до аеробної асиміляції вуглеводів), ферментативної активності та додаткових тестів. Для рутинних досліджень достатньо використати одну з перерахованих вище тест-систем; тести швидкої ідентифікації збудників кандидозу ELITex Bicolor dubliniensis, Elitech MICROBIO (ідентифікація *C. dubliniensis* – тест РАЛ), ELIchrom glabrata», Elitech MICROBIO (ідентифікація *C. glabrata* – трегалозний тест), «ELITex krusei», Elitech MICROBIO (ідентифікація *C. krusei* – тест РАЛ); макроморфологічні ознаки росту на середовищі агар Сабура – ознаки колоній: колір поверхні та синтез каротиноїдів (присутність каротиноїдних) пігментів специфічно для базидіоміцетових червоних дріжджів), консистенція та характер зростання, характер поверхні, край колонії, наявність або відсутність міцеліальних структур (субстратний міцелій, короткий повітряний міцелій);

мікроморфологічні ознаки на середовищі агар Сабуро та хромогенних середовищах – форма та розмір дріжджових клітин, наявність та форма клітинних структур (освіта нирок, псевдоміцеліальних та міцеліальних структур), наявність та розміри артроспор (діагностична ознака дріжджоподібних грибів *Geotrichum*, *Saprochaete*, *Trichosporon*), наявність та розміри капсули (діагностична ознака грибів *Cryptococcus*). Мікроморфологію культур вивчають у вологих незабарвлених препаратах з додаванням дистильованої води, у тушевих препаратах (капсулоутворення) та при необхідності в мазках, пофарбованих за Грамом. Препарати досліджують при $\times 400$ та $\times 1000$ збільшеннях; тести на толерантність до підвищеної температури – здатність до зростання на середовищі агар Сабуро при 37°C (додаткова диференціююча ознака для подібних за основними характеристиками видів) та 45°C , при необхідності – додаткова диференціююча ознака для *C.albicans* (зростає при 45°C) та *C. dubliniensis* (не росте при 45°C). Тест на здатність до асиміляції нітратів (за потреби) – здатність до зростання на середовищі з KNO_3 як єдине джерело азоту.

При роботі з культурами цвілевих грибів, важливо розрізняти різні групи збудників пневмомікозів, оскільки вони відрізняються за своєю природною чутливістю до лікарських засобів.

Тестування чутливості до лікарських засобів – необхідний етап проведення лабораторної діагностики пневмомікозів; результати тестування дозволяють визначити спектр активних препаратів та своєчасно виявити у збудника стійкість до широко застосовуваних антимікотик. Для визначення чутливості дріжджових та цвілевих грибів слід користуватися стандартизованими доступними методиками, що забезпечують високу відтворюваність.

Результати дозволяють проводити клінічну інтерпретацію тестування штамів: чутливі до препарату штами, стійкі до препарату штами, штами з проміжною чутливістю (невизначений результат терапії) або чутливі дозозалежні штами (для ефективної терапії слід підбирати дозу препарату,

що перевищує середню терапевтичну).

Лідери у цій сфері, такі як Інститут клінічних та лабораторних стандартів (CLSI) та Європейський комітет з антимікробної чутливості (EUCAST), розробили міжнародні стандарти для тестування чутливості дріжджових та цвілевих грибів. Основними методиками є метод серійних розведень у бульйоні із використанням середовища RPMI 1640. Ці організації встановлюють межі значень мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) лікарських засобів, що отримані за стандартними та порівняльними методиками.

Для правильної інтерпретації МІК препаратів, отриманих різними методами, EUCAST та CLSI встановлюють граничні значення. Метод мікророзведення у бульйоні з використанням середовища RPMI 1640 і визначенням МІК є рекомендованим та адаптованим для роботи з патогенними дріжджовими та цвілевими грибами [36].

Проводити тестування чутливості штамів дріжджових грибів до антимікотикам (у збудників кандидозу, криптококкозу, рідкісних дріжджових інфекцій) рекомендується модифікованим методом мікророзведень у бульйоні з колориметричною оцінкою результатів – за допомогою ручних стандартизованих комерційних тест-систем (системи "Sensititre", TREK Diagnostic Systems; "FUNGIFAST AFG", ELITech MICROBIO та аналогічні ручні тести).

Використовувана для діагностичної та науково-дослідної роботи система «Sensititre» (колориметричний тест «YeastOne»), TREK Diagnostic Systems відповідає стандарту тестування чутливості дріжджових грибів CLSI [49] і включає препарати групи азолів (флуконазол, ітраконазол, воріконазол, позаконазол, кетоконазол), групи ехінокандинів (анідулафунгін, каспофунгін, мікафунгін), амфотерицин В, флуцитозин. Тестування чутливості проводиться в 11 (7, 10) або 12 концентраціях.

Тестування чутливості штамів цвілевих грибів роду *Aspergillus* до антимікотиків дослідниками рекомендується проводити методом

мікророзведень у бульйоні за допомогою тест-системи «Sensititre» (колориметричний тест "YeastOne"), TREK Diagnostic Systems. Система відповідає стандарту тестування чутливості міцеліальних грибів CLSI [21], включає препарати, що мають активність щодо грибів роду *Aspergillus* і адаптована для визначення лікарської чутливості у збудників аспергільозу (необхідна умова – здатність виділеного штаму *Aspergillus spp.* зростати *in vitro* при 35 °C).

У зарубіжних лабораторіях для отримання спорових суспензій грибів *Aspergillus spp.* використовується модифікована методика з метою підвищення точності результатів (за допомогою видалення фрагментів міцелію методом фільтрування) та забезпечення безпеки тестування чутливості (використання пробірок зі скошеним агаром замість чашок Петрі) [16]. Гриби роду *Aspergillus* пересівають у пробірку зі скошеним агаром (картопляно-декстрозний агар або агар Чапека-Докса) та інкубують при 35°C впродовж 5-7 днів. Культуру візуально контролюють на розвиток спороношення. Зазвичай після 5-ти діб інкубації штами п'яти видів *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus*), що часто викликають аспергільоз, утворюють достатню кількість конідій для тестування.

Перед інокуляцією спорової суспензії у пробірці зі стерильною культурою додають 5 мл стерильного фізіологічного розчину з 0,05% Твін 20, після чого отриману спорову суспензію фільтрують через стерильний фільтр діаметром пір 10-11 мкм [21]; при відсутності стерильних фільтрів їх замінюють на стерильну марлю у два шари. Фільтрат розводять фізіологічним розчином до необхідної щільності, яку визначають за методикою «Sensititre» на нефелометрі (до 0,5 од. за МакФарланд). Якщо потрібно, проводять контрольне мікроскопічне дослідження для оцінки концентрації конідій та підтвердження відсутності міцелію.

Референтні методики CLSI [21] та EUCAST [36, 53] для міцеліальних грибів подібні одна до одної та до методики «Sensititre» за процедурою

тестування, вимогами до температури і часу інкубації, візуального обліку результатів. Це дозволяє використовувати методику Sensititre для оцінки чутливості грибів [29].

2.3.3 Молекулярно-генетичні методи дослідження

Серед сучасних молекулярних методологій діагностичні лабораторії та дослідники мають широкий спектр методів, з яких можна вибрати, від методів ідентифікації з використанням ампліфікації, таких як ПЛР, вкладена ПЛР, ПЛР у реальному часі, флуоресцентний резонансний перенос енергії (FRET), мікроматриці та ПЛР з повторюваними елементами, до методів ідентифікації на основі секвенування, таких як секвенування Сенгера, піросеквенування або секвенування нового покоління, а також Штрихове кодування ДНК [31].

Молекулярні методи були ключовими для таксономічного розміщення та виявлення загадкових видів [24], але їх застосування для клінічної діагностики далеке від рутинного використання. Більшість специфічних методів ПЛР були розроблені референтними лабораторіями без консенсусу щодо використовуваної технології (звичайна ПЛР, кількісна ПЛР, LAMP тощо) або геномних ділянок, на які спрямовані аналізи.

Методи, засновані на ПЛР (традиційній або в режимі реального часу) для виявлення *H.capsulatum*, спрямовані на різні геномні області: багатокопійні ділянки рибосомної ДНК (рДНК), такі як 18S, регіони ITS1 і ITS2 і рибосомальної малої субодиниці РНК, або мішені унікопії як гени, що кодують 100-кДа-подібний білок або М-антиген і, нещодавно, РРК і CFP4 гени [30]. ДНК із клінічних і еталонних ізолятів та/або клінічних зразків використовувалася для підтвердження цих специфічних аналізів ПЛР.

Методи вилучення нуклеїнової кислоти з клінічних зразків також відрізнялися залежно від аналізу: деякі включали попередню обробку зразка, а інші використовували загальну кількість нуклеїнових кислот, останній вводив етап зворотної транскрипції перед ампліфікацією мішені для

підвищення чутливості [5]. Хоча кількість клінічних зразків була дуже обмеженою, значення чутливості, про які повідомлялося в цих дослідженнях, становили 70–100%. Недавній мета-аналіз [12, 44], присвячений ВІЛ-інфікованим пацієнтам із прогресуючим дисемінованим гістоплазмозом, повідомив про загальну чутливість і специфічність (95%, 95,4% (88,8–101,9) і 98,7% (95,7–101,7), відповідно, для різних типів зразків, включаючи дихання, біопсії, крові та кісткового мозку.

Для діагностики бластомікозу описано менше аналізів. Ген BAD1, важливий консервативний білок, що сприяє адгезії, і фактор вірулентності *Blastomyces* spp. був обраний як мішень у кількох аналізах, розроблених для виявлення грибка в ґрунті або в клінічних зразках. Інші мішені, такі як ген DRK1, також використовувалися. Хоча існує мало доказів корисності цих аналізів у клінічних умовах, отримані результати були дуже багатообіцяючими з високими значеннями специфічності та чутливості [60].

Техніка ПЛР характеризується ферментативною ампліфікацією коротких ділянок ДНК *in vitro*. Праймери (олігонуклеотиди або короткі філаменти нуклеїнових кислот) використовуються для специфічного розпізнавання та гібридизації послідовностей ДНК-мішеней. Після розпізнавання молекули ДНК-мішені копіюються термостабільним ферментом ДНК-полімерази (Taq-полімераза) в присутності оптимальних концентрацій магнію та дезоксинуклеотидів (основи А, С, Т і G). Завдяки повторюваним циклам нагрівання та охолодження, що виконуються в термоциклері (ПЛР-апараті), кількість молекул ДНК у реакції експоненціально збільшується. Це розмноження відбувається за допомогою поділу ланцюгів ДНК (денатурація) з наступним приєднанням праймерів до молекули ДНК (відпал) і дії ферменту ДНК-полімерази (подовження), який подовжує утворювальну молекулу за допомогою вільних дезоксинуклеотидів у реакція. Наприкінці кожного циклу кожна нова синтезована молекула ДНК діє як нова мішень для наступного циклу. Теоретично цей метод дозволяє генерувати мільярди копій цільової ДНК з однієї копії ДНК у надзвичайно

швидкому темпі. Кінцевий продукт реакції аналізують за допомогою електрофорезу в агарозному гелі, розмір отриманого фрагмента ДНК визначають шляхом порівняння з маркерами відомого розміру. Цей кінцевий продукт також можна очистити та використовувати для інших застосувань у молекулярній біології, таких як геномне секвенування (визначення молекулярного складу продукту або його нуклеотидної послідовності).

Критичні моменти цієї методики пов'язані з методом екстракції ДНК і вибором реакційних праймерів, які мають ампліфікувати, зокрема, ДНК гриба замість ДНК людини. Обнадійливі результати були отримані у випадках інвазивного аспергільозу з використанням зразків сироватки та БАЛ із чутливістю від 79% до 100% і специфічністю від 81% до 100%. Однак, через поточні труднощі зі стандартизацією ПЛР-тестів, ця методика ще не включена в якості діагностичного тесту для легеневих мікозів [64].

Молекулярні методи, включаючи метагеноміку, мають здатність швидко й ефективно виявляти потенційно патогенні гриби в біологічних зразках людини [47].

2.3.4 Імунологічні методи дослідження

Імунодифузійний тест заснований на утворенні імунокомплексів, які через свою високу молекулярну масу випадають в осад і утворюють лінію преципітації, яку можна спостерігати макроскопічно. Це відносно швидкий і легкий тест. Результати можна отримати протягом тижня; однак це лише якісні результати.

Імунодифузійний тест можна проводити на предметних стеклах або чашках Петрі, що містять 1% агарового гелю у фосфатному або Трис-буфері. У гелі за допомогою спеціальних перфтораторів створюють лунки для розміщення антигену в центрі та сироватки навколо центру. Сироватка та антиген дифундують в агарі, і, коли вони зустрічаються, вони реагують і випадають в осад, утворюючи непрозору лінію, яку можна візуалізувати через непряме освітлення на темній стороні. У цій реакції слід

використовувати позитивний контрольний зразок сироватки (стандартна сироватка), щоб полегшити зчитування та остаточну інтерпретацію тесту. Позитивний зразок утворює лінію преципітації, пов'язану з лінією, утвореною стандартною сироваткою, також відомою як «лінія ідентичності», що означає, що дві сироватки містять антитіла проти одного антигену. Окрім сироватки, можна використовувати інші клінічні зразки, такі як цереброспінальна рідина та сеча. Цей тест зазвичай використовується для ідентифікації антитіл при легневих мікозах, спричинених *H.capsulatum*, *P.brasiliensis* і *Aspergillus sp.* (алергічний аспергільоз і мікоз). Хибно негативні результати часто спостерігаються у пацієнтів з ослабленим імунітетом [64].

Час, необхідний для розвитку антитіл проти *H.capsulatum*, становить від двох до шести тижнів після впливу грибка [59]. Деякі з доступних серологічних тестів для виявлення антитіл проти гістоплазми включають імунодифузію, зв'язування комплементу, латекс-аглотинацію, ELISA та Вестерн-блот. Двома найбільш використовуваними методами донедавна для виявлення антитіл у біологічних зразках є імунодифузія та фіксація комплементу, які зазвичай виконуються в референс-лабораторіях через зручність, доступність і точність цих аналізів.

Імунодифузія з використанням антигену гістоплазміну (HMIN), антигенного препарату, отриманого з культур у формі міцелію *H.capsulatum*, виявляє наявність антитіл через появу преципітинів Н і М. Преципітин Н зазвичай співіснує з преципітином М; однак останнє часто відбувається поодиночі. Анти-М антитіла виявляються при гострому або хронічному гістоплазмозі та в деяких осіб, які провели шкірний тест на гістоплазмін. Крім того, антиген М може зберігатися роками.

В тесті імунодифузії для діагностики гістоплазмозу утворюються дві лінії преципітації, відомі як смуги Н і М. Смуга Н встановлює діагноз захворювання і виявляється в 10-25% позитивних зразків, на відміну від смуги М, яка не дозволяє відрізнити попередню інфекцію від поточної і може

бути знайдена в 75-85 % позитивних проб.

Для виявлення антитіл проти гістоплазміну, які показують активну інфекцію, часто застосовують реакцію зв'язування комплементу. Цей метод, хоча й більш чутливий (72–95%), ніж імунодифузія, є менш специфічним і може викликати перехресну реактивність з іншими видами грибів, такими як *B.dermatitides*, *C.immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* та *Candida sp.* Титри антитіл 1:32 або чотирикратне збільшення титрів свідчать про активну інфекцію. Титри 1:8 зазвичай вказують на попередню експозицію до *H.capsulatum*.

Тести латексної аглютинації були використані для діагностики гістоплазмозу, хоча їхню специфічність скомпрометовано. Ці тести можуть давати хибнопозитивні результати у пацієнтів з іншими захворюваннями, такими як туберкульоз або ревматоїдний артрит.

Ще одним методом виявлення антигену гістоплазми є імуноферментний аналіз (ІФА), включаючи кількісний аналіз, який дозволяє виявити галактоманнановий антиген *H.capsulatum* [55].

Остаточний лабораторний діагноз можна поставити безпосередньо, шляхом виявлення присутності мікроорганізму, або опосередковано, дослідивши специфічну реакцію хазяїна на грибок. Однак слід зазначити, що результати лабораторних досліджень слід інтерпретувати з урахуванням клінічної та епідеміологічної історії. Серологічний скринінг, гістопатологічне дослідження (реакція тканин і документування грибкових елементів у тканинах) і результати прямого мікроскопічного дослідження направляють правильну інтерпретацію результатів лабораторних досліджень і початкове терапевтичне рішення. Результати посівів можуть підтвердити або змінити це рішення. Мікробіолог повинен повідомити лікаря, чи достатні результати тесту для визначення терапевтичних дій.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Етіологія, патогенез, клінічні прояви хвороби Дарлінга

Гістоплазмоз – це первинна легенева інфекція, що виникає внаслідок вдихання конідій *Histoplasma capsulatum*, які *in vivo* перетворюються на бластоконідіальну (дріжджову) форму. Поширення в пригрудні та середостінні лімфатичні вузли, селезінку, печінку, кістковий мозок і мозок може становити загрозу для життя немовлят та інших пацієнтів з ослабленим імунітетом. Гістоплазмоз (як і туберкульоз) характеризується внутрішньоклітинним ростом збудника в макрофагах і гранулематозною реакцією в тканинах. Ці гранулематозні вогнища можуть реактивуватися та спричинити поширення грибів на інші тканини. Ці моделі первинної інфекції та реактивації подібні до тих, які викликають *Mycobacterium tuberculosis*. Гістоплазмоз також може бути пов'язаний із хронічним запальним процесом, відомим як фіброзний медіастиніт, де рубцева тканина зазіхає на життєво важливі структури в середостінні [61].

Histoplasma capsulatum зустрічається в ґрунті та, швидше за все, у місцях, де ґрунт вологий і рН близький до 7,4 [43]. Ґрунт, збагачений екскрементами птахів і кажанів, і високий вміст азоту сприяє пишному росту організму. Спалахи привертають більше уваги, особливо коли залучено багато сотень або тисяч людей; часто їх можна пов'язати з точковим джерелом і діяльністю, яка розсіює велику кількість конідій.

Особливо важливим є ризик спелеології в печерах, де ночує велика кількість кажанів. Професійна шкідливість, особливо серед тих, хто працює на руйнуванні чи будівництві будівельних конструкцій, що передбачає переміщення ґрунту, очищення чи піскоструминну обробку існуючих конструкцій, а також руйнування старих конструкцій, піддається ризику зараження великими дозами *H.capsulatum*. Мандрівники до районів, у яких поширений збудник, знаходяться під загрозою розвитку інфекції

H.capsulatum, якщо їхня діяльність включає спелеологію або контакт з ґрунтом та рослинністю [39].

Гістоплазмоз особливо поширений у центральній та східній частині США, особливо в районах навколо долин річок Огайо та Міссісіпі. Гриб також живе в деяких частинах Центральної та Південної Америки, Африки, Азії та Австралії, але рідко зустрічається в Європі. Інфекції можуть виникати епізодично, під час спалахів, коли погодні умови сприяють поширенню спор. Клінічні прояви включають легеневе або дисеміноване захворювання, яке може бути гострим або хронічним.

Гострий легеневий гістоплазмоз проявляється неспецифічними симптомами, які включають гарячку, нездужання, кашель, задишку та біль у грудях, які зберігаються від 2 днів до 2 тижнів. Пацієнти також можуть відчувати такі симптоми, як артрит, мультиформна та вузлувата еритема, які є запальною реакцією на гостру інфекцію, а не дисемінацією [32]. Хронічний легеневий гістоплазмоз виникає у дорослих пацієнтів при наявності основного захворювання легенів. Рентгенограми грудної клітки можуть бути нормальними або показувати зміни, подібні до тих, що спостерігаються при туберкульозі, включаючи середостінну/грудну лімфаденопатію та вузлики, які являють собою некротизуюче гранулематозне запалення, яке також може кальцифікуватися. Дисемінована хвороба виникає у пацієнтів з ослабленим імунітетом і в інших здорових немовлят і дітей віком до 2 років і призводить до високої смертності. Візуалізація грудної клітки у випадках дисемінації часто демонструє військовий або дифузний ретикуло-вузликовий малюнок.

Симптоми гістоплазмозу нагадують інші захворювання, такі як позалікарняна пневмонія, туберкульоз, саркоїдоз, хвороба Крона та злоякісні пухлини. Симптоми включають артралгію, цефалгію, біль у грудях, озноб, кашель, втома, лихоманку та міалгію. Основними факторами ризику є вік (<5 років; >55 років), прийом ліків (хіміотерапевтичні препарати, кортикостероїди, імунодепресори, інгібітори фактора некрозу пухлини) та основні захворювання (захворювання легенів, пацієнти після трансплантації,

ВІЛ/СНІД та інші вторинні імунodefіцити) [46].

Відомо п'ять серотипів *H.capsulatum*, включаючи деякі авірулентні штами. Види гістоплазм мають міцеліальну форму при кімнатній температурі. Спори *H.capsulatum* (мікроконідії) потрапляють у повітря, коли відбувається контакт з ґрунтом. Початкова реакція нейтрофілів неефективна проти дріжджової форми. Макрофаги поглинають дріжджі, але вони продовжують розмножуватися. Для знищення мікроорганізмів необхідний специфічний імунітет, який виникає через 10-21 день після зараження. Конкретний помічник Т-клітини здатні активувати макрофаги з утворенням гранульом, характерних для захворювання. Природні клітини-кілери опосередковують позаклітинне знищення, яке посилюють антитіла. Пневмоніт з переважаючим мононуклеарним інфільтратом досягає піку через 2 тижні після інфікування. Гранульоми можуть утворюватися в легеневій паренхімі, а також у лімфатичних вузлах пригрудного відділу та середостіння. Ці ураження можуть бути казеозними і можуть з часом розвинути кальцифікацію та фіброз. У більшості інфекцій фунгемія, ймовірно, виникає в якийсь момент, оскільки гранульоми селезінки спостерігаються після безсимптомної інфекції. В осіб із порушенням імунітету, опосередкованого Т-клітинами, іншими осередками інфекції є кістковий мозок, печінка, надниркові залози, ЦНС, суглобові щілини, серцеві клапани та кровоносні судини. У звітах описуються інфекційні ускладнення майже в кожній тканині. Реактивація інфекції може статися в осіб, у яких імуносупресія сталася через тривалий час після первинної інфекції; ця реактивація пояснює багато випадків, що спостерігаються в неендемичних областях.

Повторне зараження може виникнути в умовах важкого конідіального тягаря, але, як правило, легке через специфічний імунітет. Недавні дослідження на тваринах показали, що клітини інтерлейкіну (IL)-1, фактора некрозу пухлин (TNF)-альфа та GR 1(+) важливі для локалізації та контролю інфекції *Histoplasma*. YPS3 і альфа-(1, 3)-глюкан клітинної стінки

Histoplasma також пов'язані з вірулентністю [22].

Гострий легеневий гістоплазмоз. Пацієнти можуть бути безсимптомними та мати ознаки гранулематозного захворювання на рентгенограмі грудної клітки. Легені є точкою входу для інфекційних частинок або конідій, які потрапляють до господаря. Реакція тканин на інвазію призводить до утворення гранульом. Ці гранульоми можуть бути казеозними або неказеозними гранульомами, в яких може відкладатися кальцій. Функція гранульом полягає в стримуванні росту грибків. Організоване гранулематозне запалення зазвичай спостерігається при самообмеженій хворобі. Відсутність організованої запальної відповіді свідчить про порушення клітинної імунної відповіді, у цьому випадку у пацієнта розвивається прогресуючий дисемінований гістоплазмоз. Утворення гранульом вимагає генерації IFN-гамма, TNF-альфа та IL-17.

X-зчеплений синдром гіперімуноглобуліну М пов'язаний з дефектом генерації IL-17, і у більшості цих осіб розвивається дисемінований гістоплазмоз.

Первинні інфекції часто протікають безсимптомно, або пацієнти, як правило, ігнорують легкі грипоподібні симптоми. Основним фактором, що визначає симптоми, є розмір інокулята. Типовий інкубаційний період становить від семи до 21 дня. Основними симптомами є висока температура, головний біль, непродуктивний кашель і біль у грудях. Цей біль у грудній клітці не є плевритним, а локалізується в передній частині грудної клітки і, як вважають, пов'язаний зі збільшенням медіастинальних або внутрішньогрудних лімфатичних вузлів. Більшість симптомів зникають через 10 днів. У невеликої кількості пацієнтів (6%, переважно у жінок) можуть виникати такі ревматологічні прояви, як артралгії, вузлувата або мультиформна еритема. Цей синдром менш частий при гістоплазмозі порівняно з кокцидіодомікозом. Візуалізація показує нерівний дифузний пневмоніт і пригрудкову лімфаденопатію. Гранулематозного запалення немає, оскільки клітинний імунітет дозріває через два тижні первинної

інфекції. Під час гострих легеневих інфекцій шкірна проба може бути позитивною більш ніж у 90% випадків, антитіла до *H. capsulatum* може бути присутнім у 25–85% випадків, антиген сечі може бути позитивним у 20% випадків, а посів мокротиння з легень може бути позитивним у менш ніж 25% випадків.

Під час первинної інфекції приблизно у 6% пацієнтів розвивається гострий перикардит. Ймовірною причиною перикардиту є гранулематозна запальна реакція, яка локалізується в лімфатичних вузлах середостіння, що прилягають до перикарда. Однак був виявлений випадок гострого перикардиту внаслідок прямої *Histoplasma capsulatum* інфекції, що призвела до гранулематозного запалення всередині навколосерцевої сумки. повідомлено.

Пацієнти, які живуть в ендемічній зоні, можуть мати повторний вплив *H. capsulatum*. Захворювання починається раніше, протягом трьох днів, і тривалість захворювання є короткою при повторному впливі. На характерній рентгенограмі грудної клітки у випадках множинних рецидивуючих гострих інфекцій є один із численних дрібних вузликів, які дифузно розсіяні по обох легеневих полях. Ця ознака була названа міліарним гранулематозом; пригрудкова або медіастинальна лімфаденопатія відсутня.

Іноді через присутність дріжджів початкова гранульома може продовжувати рости в шарах запальних клітин, які відкладаються концентрично в спробі контролювати дріжджі. На периферії спостерігається активне запалення, а центральне ядро може мати кальцифікацію, що створює вигляд злоякісного новоутворення. Часто для цих легеневих утворень проводиться біопсія, щоб виключити злоякісність, і дріжджові грибки часто виявляються випадково. Потім пацієнтів направляють на терапію до інфекціоністів, які протягом трьох місяців лікують схоже на неконтрольовану гостру інфекцію. Обґрунтування полягає в тому, що після біопсії дріжджі більше не містяться анатомічно і тепер мають доступ до легеневої паренхіми, щоб викликати прогресуюче захворювання.

У процесі загоєння збільшені вузли середостіння, спаяні з середостінням, можуть спричинити втягнення дихальних шляхів, що призводить до постобструктивної пневмонії, гіпоксемії та бронхоектазів. Це рідко, але спостерігається в ендемічних регіонах. Немає необхідності лікувати це ускладнення гострого гістоплазмозу через фіброз.

Хронічний легеневий гістоплазмоз може проявлятися як порожнинним або непорожнинним захворюванням. Під час початкових описів хвороби під час епідемій в Індіанapolisі здавалося, що курці-чоловіки з основним важким хронічним обструктивним захворюванням, швидше за все, мають карієс. Остання оцінка показала, що це неправда. П'ятдесят відсотків жінок із хронічним легеневим гістоплазмозом могли мати карієс, і лише 20% пацієнтів мали хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ). Загалом у 40% пацієнтів з хронічним легеневим гістоплазмозом виникали карієси. Більшість порожнин були розташовані у верхніх частках, а посів мокротиння був позитивним. Під час хронічних легеневих інфекцій шкірна проба може бути позитивною в 70-90% випадків, антитіла до *H.capsulatum* може бути присутнім у 75–95% випадків, антиген сечі може бути позитивним у 40% випадків, а посів із легень може бути позитивним у 5–70% випадків. Посів мокротиння або бронхоальвеолярного лаважу малоімовірно позитивний при непорожнинній формі захворювання (5%). На візуалізації непорожнинна форма хронічного легеневого гістоплазмозу виявляє вузлики, інфільтрати, лімфаденопатію середостіння. Хвороба локалізується, але тканини не очищаються від дріжджів, при непорожнинній формі хронічного легеневого гістоплазмозу. Тому показано лікування.

Після загоєння у 20% пацієнтів може виникнути рецидив порожнинних уражень, що потребує повторного лікування; прогноз не змінюється при цьому рецидиві. Рівень відповіді на терапію кращий при непорожнинній формі хронічного легеневого гістоплазмозу порівняно з порожнинною формою. Загалом частота рецидивів становить від 15% до 20%. Смерть дуже малоімовірна від хронічного легеневого гістоплазмозу, але часто спричинена

легеневими супутніми захворюваннями.

Прогресуючий дисемінований гістоплазмоз. З точки зору патогенезу, усі інфекції гістоплазмозу стають дисемінованими, оскільки макрофаги постійно переміщуються між легень та іншими органами. Тому використовується кваліфікатор «прогресивний» і стосується неконтрольованого росту організму в багатьох системах органів. У цих пацієнтів спостерігається лихоманка, втрата ваги, гепатоспленомегалія та гематологічні розлади. Під час прогресуючого дисемінованого гістоплазмозу шкірна проба може бути позитивною в 3–55% випадків, антитіла до *H. capsulatum* може бути присутнім у 70%–90% випадків, сечовий антиген може бути позитивним у 70%–90% випадків, а посів з легень може бути позитивним у 50–70% випадків.

Прогресуючий дисемінований гістоплазмоз також можна класифікувати як гострий, підгострий або хронічний. Ця класифікація заснована на симптоматиці. Якщо гостра легенева інфекція має затяжний характер і прогресує до дисемінованого захворювання, це вважається гострим прогресуючим дисемінованим гістоплазмозом. У минулому це називали інфантильною формою, оскільки у цих пацієнтів була початкова первинна інфекція. У підгострих і хронічних формах, однак, симптоми є тривалими і незрозуміло, чи хвороба спричинена первинною інфекцією чи реактивацією.

Прогресуючий дисемінований гістоплазмоз може бути легким, помірним або важким залежно від гостроти та тяжкості симптомів. Прогресуючий дисемінований гістоплазмоз спостерігається у пацієнтів з ослабленим імунітетом. Важкі випадки мають такі ускладнення, як гемофагогістіоцитоз. Якщо не лікувати, прогресуючий дисемінований гістоплазмоз є 100% летальним [4].

Ризик розвитку гістоплазмозу підвищений у осіб, які мають роботу або хобі, які можуть створювати великі концентрації грибка. Це включає:

Дослідження печер (спелеологія).

Сільське господарство.

Утримання птахів.

Знесення або конструювання будівельних споруд.

Більший ризик отримати важкі або хронічні випадки гістоплазмозу, якщо: людина має ослаблену імунну систему. ВІЛ та імуносупресивні препарати є поширеними причинами ослаблення імунної системи. ХОЗЛ або емфізема. Вік старше 55 років або менше 1 року.

Ускладнення гістоплазмозу: рубці або інші пошкодження легень, фіброзуючий медіастиніт, гострий респіраторний дистрес-синдром.

Гістоплазмоз центральної нервової системи. Якщо грибок поширюється на мозок, це може спричинити набряк мозку, головний біль, сплутаність свідомості, порушення мислення та симптоми, схожі на інсульт.

Очний гістоплазмоз. Якщо інфекція *Histoplasma* поширюється на око, це може призвести до погіршення або втрати зору [34].

3.2 Результати дослідження поширеності хвороби Дарлінга

Histoplasma capsulatum зустрічається по всьому світу. Він ендемічний у деяких районах Сполучених Штатів, зокрема в штатах, що межують з долиною річки Огайо та нижньою течією річки Міссісіпі. Він також поширений у печерах Південної та Східної Африки. Позитивні шкірні проби на гістоплазмін зустрічаються у 80% людей, які живуть у регіонах, де *H.capsulatum* поширений, наприклад у східних і центральних Сполучених Штатах.

В США, за оцінками, 50 мільйонів людей інфіковані *H.capsulatum*. По всій країні приблизно 22% населення мають позитивні результати шкірних тестів на гістоплазмін, хоча цей показник може досягати 80% в ендемічних районах центральних Сполучених Штатів, зокрема в долинах річок Огайо та Міссісіпі. З 500 000 осіб, які щорічно піддаються впливу збудника, у 50 000-200 000 розвиваються симптоми, а 1500-4000 потребують госпіталізації.

H.capsulatum є диморфним грибом, який мешкає в ґрунті або

розкладеній органічній речовині під час стадій вільного життя міцелію. Утворює плодові тіла у вигляді мікронідій (2-5 мкм) і макронідій (5-18 мкм). Зараження відбувається при вдиханні мікронідій, які можуть досягати нижніх дихальних шляхів. Також вважається, що первинна грибова інфекція також може виникнути через ковтання організму, але це не було продемонстровано експериментально. Інкубаційний період становить від 12 до 16 днів, протягом якого мікронідії перетворюються на дріжджову фазу та розмножуються шляхом брунькування. Ці дріжджі згодом фагоцитуються макрофагами. Грибова інфекція або очищається, або організм продовжує внутрішньоклітинно розмножуватися та поширюватися по всьому організму через лімфатичну та гематогенну циркуляцію [22].

Хоча *Histoplasma* є поширеним в усьому світі, філогенетичні види цього гриба розподілені нерівномірно. Наприклад, *H.mississippiense* та *H.ohiense* більш розповсюджені в США, де вони зустрічаються разом. *H.capsulatum* та *H.suramericanum* співіснують в Колумбії. *H. capsulatum* вар. *duboisii*, збудник африканського гістоплазмозу, зустрічається переважно в Африці та Мадагаскарі та вважається окремим видом. Окрім географічних відмінностей, філогенетично споріднені види *Histoplasma* мають різну вірулентність. Необхідно встановити, чи спричинені ці відмінності в клінічних проявах у великій групі пацієнтів.

Попередні дослідження показали, що *H.suramericanum* викликає гостре легеневе захворювання з вираженою легеневою патологією та високою смертністю, тоді як *H.mississippiense* і *H.ohiense* спричиняють хронічне легеневе захворювання. *H.capsulatum* вар. *duboisii* було пов'язано зі СНІДом і дисемінованим захворюванням в імунокомпетентних осіб.

На молекулярному рівні проводилися дослідження генетичного різноманіття та структури популяції *Histoplasma* з використанням молекулярних маркерів, від секвенування ДНК до відбитків ДНК. У Бразилії висока генетична різноманітність корелює з географічним походженням. Проте походження бразильських популяцій *Histoplasma* та їх зв'язок з

глобальними популяціями залишаються невідомими, особливо враховуючи запропоновані таксономічні зміни [52].

Отримані дані, включаючи широку глобальну панель ізолятів, вказують на високу генетичну мінливість серед бразильських ізолятів. Це підтверджує ідею, що Бразилія є центром розповсюдження *Histoplasma* в Південній Америці, можливо, через міграцію господарів, таких як птахи та кажани [52].

Перші загальнопопуляційні дослідження гістоплазмозу проводилися за допомогою шкірних тестів на гістоплазмін. В Африці позитивний показник чутливості шкіри коливається від 0 до 35% [38]. Поширеність гістоплазмін-позитивних шкірних проб коливається від 0 до 10% у різних районах Уганди, при цьому найвищий показник поширеності становить 12% у регіоні Бусога на сході Уганди [16< a i=4>]. Хоча ці дані дають нам оцінку позитивності *Histoplasma*, дані були зібрані до початку епідемії СНІДу. Нещодавно було виявлено, що в групі пацієнтів із підозрою на криптококовий менінгіт у Кампалі, Уганда, не було випадків позитивної реакції на антиген гістоплазмозу, і 1,3% (2/151) з них мали позитивний результат на антитіла [27]. Проте когорта амбулаторних пацієнтів, які звертаються за допомогою у зв'язку з ВІЛ, швидше за все, є більш узагальненою щодо скринінгу на гістоплазмоз, поширеності та результатів у програмах з ВІЛ. Загалом 388 зразків сечі учасників перевірили на антиген *Histoplasma*, і 4 (1,2%) були позитивними. Показники позитивної проби коливалися від 2,6 до 4 одиниць. У *Histoplasma*-негативній групі середній вік становив 33 роки (IQR: 28–40), 56% раніше не отримували АРТ, а середній рівень CD4 кількість клітин становила 122 клітини/мкл (IQR: 50–193). *Histoplasma*-позитивні учасники мали середній вік 43 роки (IQR: 31–45), 75% раніше не отримували АРТ і мали середній рівень CD4 кількість клітин 39 клітин/мкл (IQR: 16–54). Поширеність серед учасників із CD4 < 100 клітин/мкл становив 2,5% (4/158), і жоден учасник із CD4 > 100 клітин/мкл були позитивними. Два випадки проявилися симптоматично з анамнезом кашлю, втрати ваги та фізичної слабкості; в одного була лише втрата ваги; а

інший не мав легеневих або системних симптомів. Жоден з учасників із антигенурією *Histoplasma* не був позитивним на криптококовий антиген [57].

У Сполучених Штатах приблизно від 60% до 90% людей, які живуть у районах, що оточують долини річок Огайо та Міссісіпі (де *Histoplasma* поширений у навколишньому середовищі) піддавалися впливу грибка в певний момент протягом свого життя. В одному дослідженні було підраховано частоту захворюваності на гістоплазмоз у дорослих віком 65 років і старше в США до 3,4 випадків на 100 000 населення. Показники були найвищими на Середньому Заході, за оцінками, 6,1 випадків на 100 000 населення. У 12 штатах, для яких протягом 2011–2014 рр. були доступні дані епіднагляду за гістоплазмозом, щорічні показники захворюваності в штаті коливалися від 0 до 4,3 випадків на 100 000 населення, а середня захворюваність на рівні округу коливалася від 0 до 39 випадків на 100 000 населення.

У всьому світі гістоплазмоз найчастіше зустрічається серед людей, які мають ВІЛ/СНІД або ослаблену імунну систему з іншої причини. Це особливо проблема в регіонах світу, де антиретровірусна терапія (АРТ) не є широко доступною, оскільки АРТ допомагає ВІЛ-інфікованим людям не досягти стадії, коли вони є найбільш вразливими до гістоплазмозу та інших опортуністичних інфекцій. Наприклад, у Латинській Америці гістоплазмоз є однією з найпоширеніших опортуністичних інфекцій серед людей, які живуть з ВІЛ, і приблизно 30% пацієнтів з ВІЛ/СНІДом, у яких діагностовано гістоплазмоз, помирають від нього [35].

3.3 Сучасні методи лабораторної діагностики хвороби Дарлінга

Діагностика гістоплазмозу є важкою та потребує багатофакторного підходу. Ідентифікація *Histoplasma capsulatum* за допомогою прямої мікроскопії на основі характерних внутрішньоклітинних дріжджів та/або виділення культури гриба в біологічних зразках є золотим стандартом діагностики. Однак ці тести мають свої обмеження:

1. Низька чутливість, яка залежить від клінічної форми ГПМ;
2. Час, необхідний для культивування грибка (від 4 до 6 тижнів), який ще вимагає перетворення в дріжджоподібну форму;
3. Потреба в лабораторії безпеки 3 рівня для роботи з *H.capsulatum*.

У зв'язку з цим імунологічні методи виявлення антитіл і антигенів у клінічних зразках, таких як сироватка, плазма, спинномозкова рідина, сеча та бронхоальвеолярний лаваж, а також виявлення ДНК грибка, є альтернативою для передбачуваної діагностики гістоплазмозу. Аналітична ефективність тестів для діагностики гістоплазмозу залежить від стадії захворювання та клінічної форми [23].

Виявлення антигену. Антигенний тест на гістоплазмоз у сечі та сироватці вперше був розроблений у 1986 році і став важливим методом діагностики Гістоплазмоз революціонізував діагностику цього захворювання. Антиген, що виділяється клітинами гриба, можна виявити в біологічних зразках: сечі, сироватці, СМР, БАЛ. Тести на визначення антигену в сечі більш чутливі, ніж тести на виявлення сироватки, результати доступні протягом кількох годин, вони мають високу чутливість і специфічність, а також хорошу негативну прогностичну цінність.

Було розроблено два тести, засновані на методі твердофазного імуоферментного аналізу, з хорошими діагностичними результатами, але обмеженою доступністю. Їх використання обмежується розвиненими ендемічними регіонами і рідко застосовується в неендемічних регіонах, ймовірно, через низьку економічну ефективність за межами цих регіонів.

Тести ІФА були кілька разів модифіковані, щоб забезпечити кількісний тест, який можна використовувати в рідинах організму, крім сечі та сироватки [7], а також уникати впливу радіоактивності на лабораторний персонал.

Перший розроблений тест був виготовлений компанією MiraVista® (MiraVista Diagnostic, Індіанаполіс, Індіана, США) як напівкількісний тест другого покоління, а потім кількісний тест третього покоління на антиген.

Нещодавно MiraVista Diagnostic розробила аналіз на основі бічного потоку для виявлення антигенів гістоплазмозу в сечі. Це одноформатний, «схожий на тест на вагітність», продукт із маркуванням CE, який простий у виконанні (менше 1 хвилини для виконання тесту, 40 хвилин для отримання результату), він не потребує спеціального лабораторного обладнання чи комплексу інфраструктури або висококваліфікованого персоналу, використовує сечу з чутливістю та специфічністю понад 90%, і має відповідність між тестами MVD ELISA та LFA 84%. Ця методика була вперше розроблена для виявлення *Aspergillus galactomannan* з дуже хорошими результатами, і MiraVista випустила подібний тест для виявлення антигену *Histoplasma capsulatum* за допомогою імунохроматографічного сендвіч-аналізу. Таким чином, MVD LFA є перспективним інструментом для тестування на місці лікування при підозрі на гістоплазмоз, особливо у людей, які живуть з ВІЛ/СНІД (ЛЖВС). Дослідження, проведене для порівняння MVD LFA та MVD ELISA, показало чутливість 96% для обох тестів і специфічність 96% для LFA та 77% для ІФА [15].

Єдиним діагностичним тестом *in vitro*, схваленим FDA та CE, є Альфа Гістоплазма Антиген ІФА, виробництва Immuno Mycologics (IMMY, Норман, Оклахома, США). Цей тест, у якому використовуються моноклональні антитіла, триває 3 години, має високу чутливість 98%, специфічність 97% і негативну прогностичну цінність 100% у пацієнтів з ВІЛ та гістоплазмозом [14], а також можуть проводитися в окремих лабораторіях. Ці експрес-тести на антиген дуже важливі в регіонах з низьким рівнем доходу та високим рівнем смертності, особливо серед ЛЖВС [10].

Мета Міжнародної групи IHAG на 2025 рік полягає в тому, щоб принаймні одна лабораторія в кожній країні Латинської Америки мала швидкий тест (виявлення антигену або молекулярний тест) для діагностики гістоплазмозу [13].

Ці тести є надзвичайно важливими для пацієнтів із ВІЛ та

гістоплазмозом, оскільки в таких випадках рівень антитіл зазвичай низький. У людей із ВІЛ та дисемінованим гістоплазмозом, можна виявити антиген у сечі у 90% випадків та в сироватці крові у 50% випадків. Виявлення антигену також виявилось корисним у бронхоальвеолярному лаважі у пацієнтів із гістоплазмальною пневмонією [33].

Антиген виявляється приблизно у 75% пацієнтів із гострим легеневим гістоплазмозом протягом перших кількох тижнів хвороби, особливо у пацієнтів, які зазнали впливу високих рівнів грибкового інокулята. У пацієнтів із фіброзом середостіння або гранулематозним медіастинітом. У пацієнтів з менш важкими та хронічними формами легеневого (наприклад, порожнинного) гістоплазмозу або у пацієнтів з місцевими ускладненнями легеневого гістоплазмозу (наприклад, медіастинальна гранульома) антиген виявляється у 10–20% пацієнтів.

У пацієнтів з гістоплазмозним менінгітом, антиген можна виявити в СМР, хоча посів СМР часто є негативним. Доступні обмежені дані щодо використання тесту на антиген у пацієнтів з дисемінованим гістоплазмозом, не інфікованих ВІЛ, але тест, здається, також є чутливим для цієї групи пацієнтів. 92% пацієнтів мають антигенурію, але антиген присутній у сироватці лише у половини з них. Також немає даних про корисність цього тесту для БАЛ у пацієнтів, не інфікованих ВІЛ.

Виявлення антигену також можна використовувати для оцінки відповіді пацієнта на лікування; він має бути нижче межі виявлення, якщо протигрибкова терапія є успішною, а підвищення рівня антигену свідчить про рецидив. Однак у деяких пацієнтів, які пройшли успішне лікування, низька концентрація антигену в сечі може зберігатися протягом багатьох місяців.

Хибнопозитивні реакції виникають у більшості зразків сечі або сироватки пацієнтів з іншими мікозами, такими як бластомікоз (основна діагностична проблема в Сполучених Штатах Америки, оскільки ендемічні зони бластомікозу та гістоплазмозу змішані, а тести на антигени показують

реактивність на обидва гриби), паракокцидіомікоз, таларомікоз, аспергільоз, рідше у пацієнтів із кокцидіомікозом.

Результати тесту ІФА слід інтерпретувати у відповідному клінічному контексті через перехресну реактивність з іншими грибовими антигенами. Діагноз не повинен базуватися виключно на позитивному тесті на антиген сечі; для підтвердження діагнозу слід провести подальше серологічне та/або культуральне дослідження. Підозрілою хибнопозитивною реакцією є позитивний тест на антиген сироватки, але негативний аналіз сечі. Це також може статися у реципієнтів трансплантації, які отримували тимоглобулін (кролячий антиtimoцитарний глобулін) через людські антикролячі антитіла, які виникли у відповідь на тимоглобулін на другому тижні після введення та зникли на восьмому тижні. Ці антитіла дали хибнопозитивний результат Гістоплазма тест на антиген у сироватці за допомогою ІФА, але не в сечі.

Серологічний тест. Хоча виявлення антитіл відіграє менш важливу роль, ніж виявлення антигену, тести на антитіла корисні для діагностики різних форм гістоплазмозу. Після впливу *H.capsulatum* для розвитку антитіл потрібно від 2 до 6 тижнів, тому вони більш корисні при підгострому або хронічному гістоплазмозі, ніж при гострому легеневому гістоплазмозі [7].

Доступними серологічними тестами для виявлення *H.capsulatum* антитіл є імунодифузія, реакція зв'язування комплементу, ІФА, латекс-аглютинація та вестерн-блот. Перші три тести є найпоширенішими через їх доступність, точність і зручність. Ці методи є неінвазивними, але мають свої обмеження: велика варіативність результатів у пацієнта, тривалий час для отримання позитивних результатів (вироблення антитіл після контакту) і перехресна реактивність з іншими ендемічними грибами, такими як *Blastomyces dermatitidis*.

Імунодифузія використовує препарат антигену, отриманий з культури міцелію *H.capsulatum*, а про наявність антитіл сигналізує поява преципітатів Н і М антигенів на агаровому гелі. Він широко використовується в клінічній практиці, базується на простому та надійному методі, не дорогий, має добру

специфічність, яка на 71–100% перевищує метод зв'язування комплементу.

Анти-М антитіла з'являються на ранніх стадіях гістоплазмозу і можуть бути присутніми роками після зникнення інфекції. Вони протікають в гострій формі (приблизно у 80% хворих) або при хронічній інфекції. Таким чином, одна позитивна смуга М не може відрізнити активну форму від вирішеного захворювання.

Н-смуга зустрічається набагато рідше, менш ніж у 20% випадків і рідко зустрічається без М-смуги. Смуга Н-преципітину спостерігається у пацієнтів із тяжкою гострою легеневою ГПМ, із дисемінованим захворюванням, хронічним захворюванням легенів або медіастинальною лімфаденопатією протягом кількох місяців. Коли інфекція зникає, це антитіло зникає.

Чотирикратне підвищення титру антитіл (будь-якого з них) вважається позитивним і свідчить про активну ГПМ. Титр CF $\geq 1:32$ свідчить про гістоплазмоз, але не є діагностичним. Діагноз не повинен ґрунтуватися на одному значенні, оскільки антитіла до CF часто присутні через роки після інфікування, а один низький титр CF іноді означає, що пацієнт був підданий впливу *H.capsulatum* в якийсь момент. Аналіз CF дещо більш чутливий, ніж ID для діагностики гістоплазмозу, особливо для дріжджової фази; у деяких дослідженнях чутливість обох аналізів (CF та ID) перевищувала 90%. Антитіла до міцелію CF є найбільш специфічним тестом, але він має низьку чутливість. Чутливість цього тесту нижча в гемолітичних або ліпемічних зразках.

Розробка простого у виконанні тесту ІФА (MiraVista Diagnostics, Індіанаполіс, Індіана, США) виявляє антитіла IgM та IgG з чутливістю 77–96% і специфічністю 92%.

Порівнюючи ці тести з використанням зразків тих самих пацієнтів, ІФА виявляється більш чутливим, ніж ID або CF. Корисність тесту ІФА (або CF та/або ID) є більш важливою для діагностики гістоплазмозового менінгіту, тоді як виявлення антитіл до гістоплазмозу при CFS може бути єдиним показником захворювання [10].

H.capsulatum можна виявити за допомогою реакції латекс-аглютинації; виявлення антитіл до *H.capsulatum* базується на зв'язку латексу з гістоплазміном. Цей метод має низьку чутливість і перехресну реакцію з туберкульозом, але є недорогим і специфічним.

Ще один аналіз досліджується для покращення діагностики активних або латентних форм гістоплазмозу: аналізи вивільнення гамма-інтерферону (IGRA). На підставі багатообіцяючих попередніх результатів необхідні подальші дослідження для підтвердження цього аналізу. Наразі IGRAs мають кілька недоліків і обмежень: короткий час обробки зразків, складні лабораторні потужності та особистий досвід, висока вартість цього тесту.

Комбінація методів, виявлення антигенів і антитіл може підвищити чутливість (до 96%) для діагностики гострого гістоплазмозу. Подібне покращення чутливості було відмічено при поєднанні виявлення антигену та цитопатології з присутністю дріжджових клітин, що відповідає *H.capsulatum* в BAL.

Молекулярні методи. Для більш швидкого і точного виявлення *H.capsulatum* у тканинах і рідинах організму розроблено низку методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР): звичайну, вкладену та ПЛР у реальному часі з вищою чутливістю та специфічністю, але багато з них були розроблені власними силами. Хоча ці молекулярні методи більш чутливі та більш специфічні, ніж виявлення антигену або серологічне тестування, не існує схваленого FDA комерційного тесту на основі ПЛР.

В даний час основний молекулярний метод діагностики передбачає використання швидкого ДНК-зонду для ідентифікації *H.capsulatum* виділені з різноманітних екстрактів культур. Для ідентифікації використовувався ПЛР-тест у реальному часі *H.capsulatum* у біопсіях тканин або на БАЛ. Інші напіввкладені аналізи ПЛР показали багатообіцяючі результати в ідентифікації *H.capsulatum* у крові або тканинах пацієнтів, у яких було виявлено гістоплазмоз.

Тести ампліфікації, такі як ПЛР або LAMP, мають меншу ймовірність

хибнопозитивних результатів через інші гриби порівняно зі звичайними тестами.

Метагеномне секвенування нового покоління (mNGS) використовувалося на BAL для діагностики хронічних прогресуючих уражень легень; панфунгальна ПЛР також може бути використана для діагностики [18].

Хоча посів вважається золотим стандартом діагностики, молекулярні методи можуть бути більш чутливими. У майбутньому молекулярні методи відіграватимуть все більшу роль у діагностиці гістоплазмозу, щоб допомогти клініцистам. Їхні результати наразі обмежені гетерогенністю молекулярних аналізів, використовуваними мішенями, невеликою кількістю суб'єктів, залучених до досліджень, різними типами досліджуваних зразків, відсутністю стандартного порівняльного методу, а також обмеженою присутністю молекулярних методів в міжнародних діагностичних рекомендаціях.

Необхідні більш надійні багатоцентрові дослідження, включаючи дослідження у великих популяціях, для оцінки ефективності та валідації цих аналізів на різних типах пацієнтів або зразках.

Культуральні та мікробіологічні методи. Золотим стандартом для діагностики гістоплазмозу є виділення грибка в культурі та спостереження характерних внутрішньоклітинних дріжджів у гістопатології.

Чутливість культури низька, грибу потрібно кілька тижнів, щоб вирости в стандартній культурі, і лабораторія повинна мати рівень безпеки 3, щоб впоратися з ним.

В мікробіологічній лабораторії, *H.capsulatum* можна виявити за допомогою фарбування та прямої мікроскопії рідин організму або зразків тканин. *H.capsulatum* погано забарвлюється за Грама, тому рідко виявляється цим методом. Флуоресцентне фарбування: кальцофлуор білий, який зв'язує хітин у клітинній стінці гриба, корисний для ідентифікації *H.capsulatum* в клінічних зразках.

H. capsulatum можна ідентифікувати в культурі після посіву зразків на відповідне середовище: декстрозний агар Сабуро та інкубації при 25°C, що дозволяє грибку рости.

Зростання міцеліальної фази відбувається при 25–30°C, і колонії зазвичай з'являються через 2–3 тижні, але може тривати до 8 тижнів. Колонія від білого до коричневого. Після ідентифікації колонії на твердому середовищі можна провести тест з лактофенольним синім, щоб визначити морфологію цвілі. Спочатку відзначають септовані гіфи, за якими слідують мікроконідії з гладкими або колючими стінками (розмір 2–5 мкм) і, нарешті, горбкові макроконідії (розмір 7–15 мкм), які є характерними для *H.capsulatum*. Однак гриб, що відноситься до роду Сепедоніум, також може мати подібну структуру. Тому для підтвердження, що конкретна цвіль є *H.capsulatum*, необхіден більш точний тест.

Для цього існують високоспецифічні молекулярні тести, що дозволяють швидко ідентифікувати *H.capsulatum* в біоматеріалі. Однак існують більш складні та трудомісткі методи, наприклад, тест на екзоантиген, який вимагає лабораторії високого рівня біобезпеки.

Колонії, подібні до дріжджів, з'являються, коли чашки спочатку інкубують при 37°C. Під час мікроскопії можна побачити маленькі круглі дріжджі з вузькими бруньками. Колонія має кремовий колір, який з віком може змінитися на сірий.

Інкубація цвілі при 37°C перетворює фазу міцелію в дріжджову. Це колись використовувалося для підтвердження *H.capsulatum* через його диморфну природу, але цей метод є трудомістким та має низьку ефективність, тому його не використовують як діагностичний інструмент.

Ефективність культивування для виявлення *H. capsulatum* може залежати від кількох факторів, таких як клінічні прояви, імунітет господаря та стадія хвороби. У деяких випадках рост збудника може бути важким, особливо в звичайних системах гемокультури.

Демонстрація дріжджових клітин, типових для *H.capsulatum*, у тканині

підтверджує діагноз гістоплазмозу, хоча це не завжди означає активну інфекцію. Характерні для *H.capsulatum* var. *Capsulatum* дріжджі мають яйцевидну форму, розміром від 2 до 4 мкм, тонкі клітинні стінки та характерне брунькування з вузькою основою.

Інші мікроорганізми, які потрібно враховувати під час гістопатологічної діагностики *H.capsulatum*, включають *Cryptococcus* spp., *Blastomyces dermatitis*, *Candida glabrata*, *Pneumocystis jirovecii*, *Coccidioides* spp., *Talaromyces*, які можуть бути схожі на *H.capsulatum* у тканинах. Характеристики, які визначають різницю між дріжджами, включають переважне розташування в клітинах. Внутрішньоклітинне розміщення для дріжджі *H.capsulatum* мають більші розміри (до 15 мкм), ніж клітини *Blastomyces dermatitidis*. Фарбування Фонтана-Массона може використовуватись для підсилення криптококового меланіну.

У рамках диференціальної діагностики варто відзначити, що зазвичай, дріжджі *Cryptococcus*, а також інші дріжджі з вузькими бруньками та трохи більшими розмірами (3–8 мкм), фарбують капсули та утворюють характерні ореоли. У неінкапсульованих штамів *Cryptococcus*, за винятком випадків, коли їх велика кількість, капсули можуть бути важкими для виявлення. Муцикармін може відрізнити *H.capsulatum* у тканинних препаратах через виділення дріжджової клітинної стінки.

Фарбування гематоксиліном і еозином (H&E) часто буває недостатньо чутливим для виявлення *H.capsulatum*. Замість цього, фарбування метенаміновим сріблом за Гоморі (GMS) і періодичної кислоти-Шиффа (PAS) є більш корисними для виявлення цього грибка. Використання спеціалізованих гістохімічних барвників полегшує відрізнення цих патогенів. Для візуалізації *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania*, *marneffeii*, форми та розміру, а також гістопатологічної відповіді (гранулематозна чи гнійна) мають значення.

Цисти *Pneumocystis jirovecii*, схожі на *H.capsulatum* за фарбуванням PAS та GMS, більші (від 5 до 8 мкм), не брунькуються та переважно

позаклітинні. Ендоспори *Coccidioides spp.* приблизно відповідають за розміром та формою *H.capsulatum*, мають спорідненість з непошкодженими або розірваними сферами. *T.marneffeii* демонструє поперечну перегородку, відсутню у інших дріжджів, і не брунькується. *Leishmania spp.*, *Toxoplasma gondii* та *Trypanosoma cruzi*, які не фарбуються GMS або PAS, часто помітні за допомогою H&E.

При фарбуванні мазків периферичної крові методом Райта-Гімзи, внутрішньоклітинні скупчення дріжджів, які брунькуються, можна ідентифікувати, особливо у пацієнтів із дисемінованим захворюванням.

Наявність дріжджів *H.capsulatum* у певних тканинах або стерильній рідині організму, таких як ураження шкіри, при відповідному клінічному контексті, такому як гостра пневмонія, є показником активної інфекції. Однак неживучі мікроорганізми можуть залишатися в тканинах протягом багатьох років після ініційної інфекції. Патологія зазвичай виявляє неповні гранульоми та/або фіброз, а не добре сформовану піогранулематозну реакцію. У цих випадках негативний посів, відсутність симптомів та антигенемія можуть допомогти розрізнити вилікування, минуле захворювання та активну інфекцію.

Дослідження тканинних аспіратів і рідин на окремі клітини, а не на тканини зі збереженою архітектурою, може надати припущені докази гістоплазмозу. Як і при гістопатології, при фарбуванні GMS або PAS цитологічний препарат часто показуватиме дріжджові клітини вузької основи, що брунькуються, головним чином у макрофагах. Чутливість змінюється залежно від клінічних проявів. Цитопатологічна оцінка рідини бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) є відносно неінвазивною та має чутливість близько 50% для гострого легеневого гістоплазмозу. У поєднанні з тестуванням на антиген рідини БАЛ *Histoplasma* чутливість підвищується до 97%. Аспірація тонкою голкою є ще одним безпечним методом діагностики, який може дати цитодіагностику гістоплазмозу при застосуванні до різних тканин, включаючи лімфатичні вузли та надниркові залози [7].

ВИСНОВКИ

1. Глибокі легеневі мікози – це рідкісні серйозні інфекційні захворювання, які переважно вражають людей з ослабленою імунною системою. Без вчасного та належного лікування ці захворювання можуть призвести до серйозних ускладнень, включаючи загрози здоров'ю та життю пацієнта. Збудники – *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*. Патогенез полягає в тому, що спори гриба, попавши у легені та навколишні тканини, спричиняють розвиток запального процесу.

2. Лабораторна діагностика глибоких легневих мікозів може включати мікроскопічний, культуральний, молекулярно-генетичний, серологічний методи. Культуральні методи залишаються стандартом для ідентифікації грибів та визначення їхньої чутливості до лікарських препаратів. Молекулярно-генетичні методи мають високу чутливість та точність у ідентифікації грибів. Специфічність та обмежена застосовність імунологічних методів обумовлює їх застосування лише у комплексі з іншими лабораторними методами.

3. Гістоплазмоз спричинює *Histoplasma capsulatum*. Збудник міститься у ґрунті і може становити загрозу для людини при вдиханні спор. Гістоплазмоз є поширеним в різних регіонах світу, але має географічні та екологічні особливості. Сучасні лабораторні методи діагностики гістоплазмозу включають культуральні, молекулярні та імунологічні тести. Використання комбінації різних методів дозволяє отримати максимально точний діагностичний результат, що сприяє швидкому розпочатку лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гришило П. В. Легеневі мікози. *Клінічна іммунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2008. № 3.
2. Знаменська Т. К., Куріліна Т. В. Грибкові інфекції у неонатології – сучасний погляд на проблему. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2014. Т. 4, № 3. С. 101-109
3. Мельник О. О., Ліскіна І. В., Мельник О. Л. Загальні уявлення про грибкову інфекцію та можливості її морфологічної ідентифікації в ураженій тканині. *Оригінальні статті*. 2021
4. Akram Sami M., Koirala J. Histoplasmosis. *National Library of Medicine*. 08.08.2023.
5. Alanio A., Gits-Muselli M., Lanternier F., et al. Evaluation of a New Histoplasma spp. Quantitative RT-PCR Assay. *J. Mol. Diagn.* 2021. Vol. 23. Pp. 698–709
6. Almeida-Paes R., Reis Bernardes-Engemann A., Motta B. da Silva. Immunologic Diagnosis of Endemic Mycoses. *J Fungi (Basel)*. 2022. Vol. 8(10).
7. Azar M. M., Hage C. A. Laboratory diagnostics for histoplasmosis. *Journal of clinical microbiology*. 2017. Vol. 55(6). Pp. 1612-1620. DOI : 10.1128/JCM.02430-16
8. Beck-Saque C. M. et al. System T.N.N.I.S. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the US1980-1989. *J. Inf. Dis.* 2019. Vol. 167. P. 1247-1251.
9. Bhutia T. Ongmu, Adhikari L. Pulmonary mycoses among the clinically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *International Journal of Research in Medical Sciences Bhutia TO et al. Int J Res Med Sci*. 2015. Vol. 3(1). Pp. 260-268
10. Bloch K. C., Myint T., Raymond-Guillen L., et al. Improvement in diagnosis of Histoplasma meningitis by combined testing for Histoplasma antigen and immunoglobulin G and immunoglobulin M anti-Histoplasma antibody in

cerebrospinal fluid. *Clinical Infectious Diseases*. 2018. Vol. 66(1). Pp. 89-94. DOI : 10.1093/cid/cix706

11. Bongomin F., Gago S., Oladele R. O., et al. Global and multi-national prevalence of fungal diseases – estimate precision. *J Fungi (Basel)*. 2017. № 3. P. 57.

12. Bracca A., Tosello M. E., Girardini J. E., etc. Molecular detection of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* in human clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. Pp. 1753–1755. Doi : 10.1128/JCM.41.4.1753-1755.2003

13. Cáceres D. H., Adenis A., de Souza J. V., et al. The Manaus declaration : Current situation of histoplasmosis in the Americas, report of the II regional meeting of the international histoplasmosis advocacy group. *Current Fungal Infection Reports*. 2019. Vol. 13. Pp. 244-249. DOI : 10.1007/s12281-019-00365-3

14. Cáceres D. H., Gómez B. L., Tobón A. M., etc. Evaluation of a *Histoplasma* antigen lateral flow assay for the rapid diagnosis of progressive disseminated histoplasmosis in Colombian patients with AIDS. *Mycoses*. 2020. Vol. 63. Pp. 139-144. DOI : 10.1111/myc.13023

15. Cáceres D. H., Gómez B. L., Tobón Á. M., et al. Validation and concordance analysis of a new lateral flow assay for detection of *Histoplasma* antigen in urine. *Journal of Fungi*. 2021. Vol. 7(10). DOI : 10.3390/jof7100799

16. Carrasco-Zuber J. E., Navarrete-Dechent C., Bonifaz A., etc. Afectación cutánea en las micosis profundas : una revisión de la literatura. Parte 1 : micosis subcutáneas. *Actas Dermosifiliogr*. 2016. Vol. 107. Pp. 806–815

17. Castillo Caroline G., Kauffman Carol A., Miceli Marisa H. Blastomycosis. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2016. Volume 30, Issue 1. Pp. 247-264

18. Chen J, Li Y, Li Z, etc. Metagenomic next-generation sequencing identified *Histoplasma capsulatum* in the lung and epiglottis of a Chinese patient :

A case report. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020. Vol. 101. Pp. 33-37. DOI : 10.1016/j.ijid.2020.09.038

19. Cocio T. A., Martinez R. Serological Diagnosis of Paracoccidioidomycosis Using a Paracoccidioides spp. Commercial Antigen and the Counterimmunoelectrophoresis Method. *Braz. J. Infect. Dis. Off. Publ. Braz. Soc. Infect. Dis.* 2021.

20. Cuenca-Estrella M. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012 : diagnostic procedures. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012. Vol. 18(Suppl.7). P. 9–18

21. Curbelo J., Galván J. M., Aspa J. Actualización sobre Aspergillus, Pneumocystis y otras micosis pulmonares oportunistas. Updates on Aspergillus, Pneumocystis and other opportunistic pulmonary mycoses. *Archivos de Bronconeumología*. 2015. Volume 51. Issue 12. Pp. 647-653

22. Dighe Nachiket S., Pattan Shashikant R., Bhawar Sanjay B. Darling's Disease : A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2009. Vol. 1 (1). Pp. 88-101

23. Dumea E., Dantes E. Histoplasmosis : Laboratory Diagnosis. *IntechOpen*. 22.07.2023.

24. Dyke V., Teixeira M. M., Barker B. M. Fantastic yeasts and where to find them : The hidden diversity of dimorphic fungal pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* 2019. Vol. 52. Pp. 55–63

25. Errol R. Fundamental medical mycology : Wiley-Blackwell, 2012. 630 p.

26. Falcão E. M., de Macedo P. M., Freitas D. F. S., etc. Paracoccidioidomycosis in People Living with HIV/AIDS : A Historical Retrospective Cohort Study in a National Reference Center for Infectious Diseases. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2022.

27. Frost H. M., Anderson J., Ivacic L., Meece J. Blastomycosis in children : an analysis of clinical, epidemiologic, and genetic features. *Journal of*

the Pediatric Infectious Diseases Society. 2017. Volume 6. Issue 1. Pp. 49–56

28. Fungal Infections (Mycosis). Cleveland clinic.
29. Galgiani J. N., Ampel N. M., Blair J. E., etc. Infectious Diseases Society of America (IDSA) clinical practice guideline for the treatment of coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis*. 2016. Vol. 63. Pp. 112–146
30. Gallo J. E., Torres I., Gomez O. M., etc. New Histoplasma Diagnostic Assays Designed via Whole Genome Comparisons. *J. Fungi*. 2021. Vol. 7.
31. Gómez Beatriz L. Molecular diagnosis of endemic and invasive mycoses : Advances and challenges. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2014. Vol. 31. Issue 1. Pp. 35-41
32. Hage C.A., Azar M.M., Bahr N., etc. Histoplasmosis : Up-to-Date Evidence-Based Approach to Diagnosis and Management. *Scopus*. 25.10.2015. Volume 36. Issue 5. Pp. 729-745
33. Hage C. A., Davis T. E., Fuller D., et al. Diagnosis of histoplasmosis by antigen detection in BAL fluid. *Chest*. 2010. Vol. 137(3). Pp. 623-628. DOI : 10.1378/chest.09-1702
34. Histoplasmosis
35. Histoplasmosis Statistics. *Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID)*. 22.05.2020.
36. Holt M. R., Chan E. D. Chronic cavitary infections other than tuberculosis. *J Thorac Imaging*. 2018. № 33. Pp. 322–333
37. King J., Brunel S.F., Warris A. Aspergillus infections in cystic fibrosis. *Scopus*. 05.07.2016. Volume 72. Pp. 50-55
38. Koltsida G., Zaoutis T. Fungal lung disease. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2021. Volume 37. Pp. 99-104
39. Linder Kathleen A., Kauffman Carol A. Histoplasmosis : Epidemiology, Diagnosis, and Clinical Manifestations. *Clinical Pathology*. 07.05.2019. Vol. 13. Pp.120–128
40. Lin J., Feng B., Tang H. A systematic review and meta-analysis:

pulmonary mycosis pathogen distribution. *APM*. 29.07.2021. Vol. 10. № 7.

41. Li Z., Lu G., Meng G. Pathogenic Fungal Infection in the Lung. *Front Immunol*. 2019. Vol. 10.

42. Luo Bl., Zhang Lm., Hu Cp. et al. Clinical analysis of 68 patients with pulmonary mycosis in China. *Multidiscip Respir Med*. 2011. Vol. 6.

43. Maiga A. W., Deppen S., Scaffidi B. K., et al. Mapping *Histoplasma capsulatum* exposure, United States. *Emerg Infect Dis*. 2018. Vol. 24. Pp. 1835–1839

44. Martagon-Villamil J., Shrestha N., Sholtis M., etc. Identification of *Histoplasma capsulatum* from culture extracts by real-time PCR. *J. Clin. Microbiol*. 2003. Vol. 41. Pp. 1295–1298. Doi : 10.1128/JCM.41.3.1295-1298.2003

45. Njovu I. K., Musunguzi B., Itabangi H. Status of pulmonary fungal pathogens among individuals with clinical features of pulmonary tuberculosis at Mbarara University Teaching Hospital in Southwestern Uganda. *Sage journals*. 31.08.2021.

46. Oliveira M., Oliveira D., Lisboa C. etc. Clinical Manifestations of Human Exposure to Fungi. *MDPI*. 2023. Volume 9. Issue 3.

47. Oliveira M., Pinto M., Simões H. Molecular detection of *Aspergillus* in respiratory samples collected from patients at higher risk of chronic pulmonary aspergillosis. *Infectious Diseases Now*. 2023. Volume 53. Issue 2.

48. Perez-Arellano J. L., Angel-Moreno A., Belon E. et al. Isolated renoureteric aspergilloma due to *Aspergillus*? Avus : case report and review of the literature. *J Infect*. 2021. Vol. 42. P. 163-165.

49. Qasim Zahraa S., Dawood Marwah H., Hashim Zahraa A. Some Facts About *Pneumocystis jirovecii*. *Ann Coll Med Mosul*. 2022. Vol. 44 (2). Pp. 185-191

50. Rafat Z., Hashemi S. Jamal, Ashrafi K. etc. Epidemiology, laboratory diagnosis and clinical aspects of fungal pulmonary infections in 384 patients hospitalized in pulmonary units in Guilan province, Iran. *Iran J Microbiol*. 2020.

Vol. 12(4). Pp. 353–363

51. Rex J. H. et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2020. Vol. 30. P. 662-678.

52. Rodrigues A. M., Beale M. A., Hagen F. The global epidemiology of emerging *Histoplasma* species in recent years. *Studies in Mycology*. 2020. Volume 97.

53. Salzer Helmut J. F., Burchard G., Cornely Oliver A. etc. Diagnosis and Management of Systemic Endemic Mycoses Causing Pulmonary Disease. *Karger*. 2018. Vol. 96 (3). Pp. 283–301

54. Schmiedel Y., Zimmerli S. Common invasive fungal diseases : an overview of invasive candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, and *Pneumocystis pneumonia*. *Scopus*. 2016. Volume 146. Issue 708.

55. Shikanai-Yasuda M. A., Mendes R. P., Colombo A. L., etc. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2017. Vol. 50. Pp. 715–740

56. Schwarz J. The diagnosis of deep mycoses by morphologic methods. *Human Pathology*. 1982. Vol. 13. Issue 6. Pp. 519-533

57. Sekar Pr., Nalintya E., Kwizera R. Prevalence of *Histoplasma* Antigenuria among Outpatient Cohort with Advanced HIV in Kampala, Uganda. *J. Fungi*. 2023. Vol. 9(7).

58. Stevens D. A. Coccidioidomycosis. *N Engl J Med*. 2015. Vol. 332. P. 1077-1082

59. Tirado-Sánchez A., González G.M., Bonifaz A. Etc. Endemic Mycoses : Epidemiology and Diagnostic Strategies. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*. 2020.

Vol. 18. Pp. 1105–1117

60. Valero C., Martín-Gómez M. Teresa, Buitrago M. José Molecular Diagnosis of Endemic Mycoses. *J Fungi (Basel)*. 2023. Vol. 9(1).

61. Walsh Thomas J., Dixon Dennis M. Medical Microbiology. Galveston (TX) : University of Texas Medical Branch at Galveston : 1996.

62. Warris A., Lehrnbecher T. Progress in the Diagnosis of Invasive Fungal Disease in Children. *Clinical Mycology Lab Issues*. 02.05.2017. Vol. 11. Pp. 35–44
63. Webb Brandon J., Ferraro Jeffrey P., Rea S. etc. Epidemiology and Clinical Features of Invasive Fungal Infection in a US Health Care Network. *Open Forum Infectious Diseases*. 2018. Vol. 5. Issue 8.
64. Xavier, Orzechowski M., Oliveira etc. Chapter 1 : laboratory diagnosis of pulmonary mycoses. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2009. Vol. 35 (9).
65. Zancope-Oliveira R. M., Pizzini C. V., de Medeiros Muniz M., etc. Diagnostic Aspects of Paracoccidioidomycosis. *Curr. Trop. Med. Rep.* 2014. Vol. 1. Pp. 111–118

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

**«СУЧАСНА АНТИМІКРОБНА ТЕРАПІЯ: ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ
ВДОСКОНАЛЕННЯ»**

**MODERN ANTIMICROBIAL THERAPY: PROBLEMS AND WAYS OF
IMPROVEMENT**

**Матеріали
I Науково-практичної дистанційної конференції,
17 листопада 2023 року, Харків**

**Materials of the 1st Scientific and Practical Remote Conference,
Kharkiv, November 17, 2023**

ХАРКІВ
KHARKIV

2023

ГІДРОКСИФЕНІЛОЦТОВОЇ КИСЛОТИ	
Бойко І. О., Музичка Л. В., Вринчану Н. О., Смолій О. Б.	62
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ В АГРОСИСТЕМАХ	
Буценко Л.М.	63
СТІЙКІСТЬ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ДО АНТИБІОТИКІВ: ІСТОРІЯ ФОРМУВАННЯ ТА ШЛЯХИ ЗАПОБІГАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ	
Васильченко В. С., Гейдеріх О. Г.	66
ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕННЯ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ КІЛЬКОХ РАЙОНІВ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЗА 2019–2023 рр.	
Григор'єва А. В., Дубініна Н. В., Бабій С. С.	68
ВІРУСНІ ГЕПАТИТИ З ПАРЕНТЕРАЛЬНИМ МЕХАНІЗМОМ ПЕРЕДАЧІ: ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПРИ НЕХОДЖКІНСЬКИХ ЛІМФОМАХ	
Дибська А. Р., Дубініна Н. В.	70
СУЧАСНИЙ СТАН АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> І ШЛЯХИ ЇЇ ПОДОЛАННЯ	
Дубініна Н. В., Тищенко І. Ю., Кошова І.Ю., Шаповалова О.В.	72
РОЛЬ ГІБРИДНИХ АНТИБІОТИКІВ В БОРОТЬБІ З АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИМИ ШТАМАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ	
Ергешова Е. А., Гейдеріх О. Г.	74
МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ЗБУДНИКА ГІСТОПЛАЗМОЗУ ДО ХІМІОПРЕПАРАТІВ Задесенець О.І. , Шаповалова О.В.	76
ЗВ'ЯЗОК МІКРОБІОТИ КИШКІВНИК З НЕМОТОРНИМИ І МОТОРНИМИ СИМПТОМАМИ У ПАЦІЄНТІВ З ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА	
Калинович Н.О., Дубініна Н.В.	78
РЕГУЛЮВАННЯ УЧАСТІ ФАРМАЦЕВТІВ В ПРОФІЛАКТИЦІ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ НА ДЕРЖАВНОМУ РІВНІ Кіресь І.В., Жаботинська Н.В., Бакуменко М.Г.	79
РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ШТАМУ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ДО МЕТИЦИЛІНУ (MRSA)	
Коваленко Т. І.	80
РИЗИК ЕПІДЕМІЧНО-ПРИРОДНОГО СПЛЕСКУ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЧУМИ В СУЧАСНОМУ СВІТІ	
Коркоц А.Б.	82
РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ І ПАРАМЕТРІВ БЕЗПЕКИ НОВОГО АНТИСЕПТИЧНОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ	

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ЗБУДНИКА ГІСТОПЛАЗМОЗУ ДО ХІМІОПРЕПАРАТІВ

Задесенець О.І., Шаповалова О.В.

Національний Фармацевтичний Університет. м. Харків, Україна

E.zadesenec99@gmail.com

Вступ. Гістоплазмоз є інфекційним захворюванням, спричиненим грибом виду *Histoplasma capsulatum*. Хоча воно може виникати в різних частинах світу, ендемічними регіонами є південні штати США та ряд інших країн. Лабораторна діагностика гістоплазмозу важлива для регіонів з високим ризиком та осіб з імуносупресивним статусом; сучасні лабораторні технології (мікробіологічні, молекулярні та імунологічні тести) можуть покращити ефективність діагностики.

Мета дослідження. Ознайомлення з антимікотиками, які застосовуються для лікування гістоплазмозу, можливістю виникнення резистентності збудника до етіоспецифічних препаратів та методами визначення резистентності.

Результати. Дані наукової літератури свідчать, що для лікування легких та помірно тяжких форм гістоплазмозу застосовують ітраконазол – синтетичний препарат з класу азолів для перорального прийому. Препарат заважає синтезу ергостеролу, важливого компонента клітинних мембран збудника. При тяжких формах призначають амфотерицин В парентерально. Це природний антимікотик з

групи полієнів. Має широкий спектр дії, використовується для лікування глибоких системних мікозів. Амфотерицин взаємодіє з мембранами грибкових клітин, змінюючи її проникність. Флуконазол і вориконазол можуть бути менш ефективними, хоча в США флуконазол рекомендований як препарат другого ряду. Обидва препарати належать до класу азолів, флуконазол рекомендований для перорального, парентерального та місцевого застосування, вориконазол – для перорального та парентерального застосування. Успіх лікування гістоплазмозу флуконазолом становить приблизно 63%; частота рецидивів також може бути вищою. У хворих на СНІД при лікуванні гістоплазмозу може спостерігатися стійкість до флуконазолу. Позаконазол та ізавуконазол також активні проти *H. capsulatum* і можуть бути ефективними при лікуванні пацієнтів з гістоплазмозом. Ці препарати також належать до класу азолів, що застосовуються парентетально. Немає достатніх доказів на підтримку використання ехінокандинів для лікування гістоплазмозу.

Потрібні додаткові дані та досвід, щоб визначити, який препарат є найкращим у кожній клінічній ситуації. Таким чином, визначення чутливості

групи полієнів. Має широкий спектр дії, використовується для лікування глибоких системних мікозів. Амфотерицин взаємодіє з мембранами грибкових клітин, змінюючи її проникність. Флуконазол і вориконазол можуть бути менш ефективними, хоча в США флуконазол рекомендований як препарат другого ряду. Обидва препарати належать до класу азолів, флуконазол рекомендований для перорального, парентерального та місцевого застосування, вориконазол – для перорального та парентерального застосування. Успіх лікування гістоплазмозу флуконазолом становить приблизно 63%; частота рецидивів також може бути високою. У хворих на СНІД при лікуванні гістоплазмозу може спостерігатися стійкість до флуконазолу. Позаконазол та ізавуконазол також активні проти *H. capsulatum* і можуть бути ефективними при лікуванні пацієнтів з гістоплазмозом. Ці препарати також належать до класу азолів, що застосовуються парентерально. Немає достатніх доказів на підтримку використання ехінокандинів для лікування гістоплазмозу.

Потрібні додаткові дані та досвід, щоб визначити, який препарат є найкращим у кожній клінічній ситуації. Таким чином, визначення чутливості збудника до хіміопрепаратів є важливим етапом для успішного лікування цього захворювання.

Основний метод визначення чутливості грибкових патогенів до антимікотиків – це метод серійних розведень, мета якого – встановлення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) препарату. Метод може виконуватися в пробірках або в мікропланшетах. Переваги методу: висока точність визначення чутливості, можливість використання широкого спектру препаратів. Недоліки: вимагає спеціалізованого обладнання, тривалий час проведення.

Молекулярні методи можуть бути наступним рубежем у діагностиці гістоплазмозу, але поточні аналізи не були схвалені Управлінням продовольства та медикаментів (FDA, США) для звичайного клінічного використання.

Висновки. Визначити чутливість грибкових патогенів до хіміопрепаратів необхідно для вибору ефективного лікування, запобігання розвитку резистентності та оптимізації проведення лікування. Вибір методу визначення чутливості грибкових патогенів до хіміопрепаратів визначається доступністю обладнання та реагентів, можливістю визначення МІК, швидкістю отримання результатів і конкретними вимогами дослідження. З урахуванням переваг і недоліків кожного методу можна визначити оптимальний для конкретного випадку, забезпечуючи точність і ефективність визначення чутливості грибкових патогенів до хіміопрепаратів при гістоплазмозі.



І Науково-практична
дистанційна конференція

**“СУЧАСНА
АНТИМІКРОБНА ТЕРАПІЯ:
ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ
ВДОСКОНАЛЕННЯ”**

Конференція зареєстрована у ДУ «Український інститут
науково-технічної експертизи та інформації»,
посвідчення № 557 від 19 грудня 2022 року



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЇ ФАРМАЦІЇ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

103

Сертифікат

Цим засвідчується, що

Задесенець О.І.

брав(ла) участь у практичному тренінгу

“Впровадження стандартів EUCAST у роботу бактеріологічної лабораторії

за програмою обсягом 6 годин / 0,2 кредитів ЕКТС, 17 листопада 2023 р.
м. Харків

Досягнуті результати:

- ✓ Поглиблення знань та розуміння питань щодо стандартизації роботи бактеріологічних лабораторій згідно зі стандартами EUCAST.
- ✓ Ознайомлення зі стратегіями, правилами, рекомендаціями або інструментами, щодо відповідального застосування антимікробних препаратів з метою зменшення їх нераціонального застосування та антимікробної резистентності.

завідувачка каф. мікробіології,
вірусології та імунології
доктор мед. наук, професор



Н.І. Філімонова



I Науково-практична
дистанційна конференція

**“СУЧАСНА АНТИМІКРОБНА
ТЕРАПІЯ: ПРОБЛЕМИ ТА
ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ”**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ПРИКЛАДНОЇ ФАРМАЦІЇ
КАФЕДРА МІКРОБІОЛОГІЇ, ВІРУСОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ

Сертифікат № 026

Цим засвідчується, що

Задесенець О.І.

брав(ла) участь у I Науково-практичній дистанційній
конференції

**“СУЧАСНА АНТИМІКРОБНА ТЕРАПІЯ: ПРОБЛЕМИ ТА
ШЛЯХИ ВДОСКОНАЛЕННЯ”**

17 листопада 2023 р. м. Харків

Конференція зареєстрована у ДУ «Український інститут
науково-технічної експертизи та інформації»,
посвідчення № 557 від 19 грудня 2022 року

проректор з науково-педагогічної роботи,
(інноваційної та науково-дослідної) НФаУ
доктор фарм. наук, професор,

завідувачка каф. мікробіології,
вірусології та імунології
доктор мед. наук, професор



І.М. Владимирова

Н.І. Філімонова

Національний фармацевтичний університет
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології
Ступінь вищої освіти другий магістерський
Спеціальність 224 Технології медичної діагностики та лікування
Освітня програма Лабораторна діагностика

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри мікробіології,
вірусології та імунології

Наталія ФІЛІМОНОВА
"07" _вересня_____ 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Олени ЗАДЕСЕНЕЦЬ

1. Тема кваліфікаційної роботи: " **Глибокі легеневі мікози: хвороба Дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики**",
керівник кваліфікаційної роботи: Ольга ШАПОВАЛОВА, к.б.н., с.н.с.,
затверджений наказом НФаУ від "01" листопада 2023 року № 242.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи грудень 2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: предмет дослідження – сучасні методи лабораторної діагностики глибоких легеневих мікозів, зокрема хвороби Дарлінга; мета – з'ясувати особливості глибоких легеневих мікозів, зокрема, хвороби Дарлінга та застосування сучасних методів лабораторної діагностики.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): зміст; вступ; аналітичний огляд; об'єкти, матеріали та методи досліджень; аналіз та узагальнення результатів; висновки.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): результати аналізу джерел літератури, технології мікроскопічних, бактеріологічних, молекулярно-генетичних методів лабораторної діагностики у вигляді рисунків – 3.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1. Огляд літератури	Олена КОШОВА, доцент закладу вищої освіти кафедри мікробіології, вірусології та імунології	18.10.2023р .	
Результати дослідження	Наталія ФІЛІМОНОВА, професор закладу вищої освіти кафедри мікробіології, вірусології та імунології	20.10.2023р .	

7. Дата видачі завдання: «04» вересня 2023 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Формування напряму наукового дослідження	З 04.09.2023 р. до 11.09.2023 р.	виконано
2	Аналітичний огляд літератури	З 12.09.2023 р. до 09.10.2023 р.	виконано
3	Вибір об'єктів і методів дослідження	З 10.10.2023 р. до 23.10.2023 р.	виконано
4	Розробка календарної схеми проведення досліджень	З 24.10.2023 р. до 30.10.2023 р.	виконано
5	Проведення досліджень	З 01.11.2023 р. до 25.11.2023 р.	виконано
6	Оформлення кваліфікаційної роботи та списку використаних джерел	З 26.11.2023 р. до 20.12.23	виконано

Здобувач вищої освіти

Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ

Керівник кваліфікаційної роботи

Ольга ШАПОВАЛОВА

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 242
по Національному фармацевтичному університету
від 01 листопада 2023 року

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми здобуття освіти факультету медико-фармацевтичних технологій НФаУ 2024 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Задесенець Олена Ігорівна	Глибокі легеневі мікози: хвороба дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики	Deep pulmonary mycoses: darling's disease – modern methods of laboratory diagnostics	доц. Шаповалова О. В.	проф. Кононенко Н. М.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

З оригіналом згідно:

Декан факультету медико-фармацевтичних технологій _____ О.І. Набока



ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 125159 від « 29 » грудня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Задесенець Олени Ігорівни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування, на тему: «Глибокі легеневі мікози: хвороба дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики / Deep pulmonary mycoses: darling's disease – modern methods of laboratory diagnostics», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

0%

18%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу другого
(магістерського) ступеня вищої освіти спеціальності 224 Технології
медичної діагностики та лікування**

Олени ЗАДЕСЕНЕЦЬ

**на тему: «ГЛИБОКІ ЛЕГЕНЕВІ МІКОЗИ: ХВОРОБА ДАРЛІНГА –
СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ»**

Актуальність теми. Проблема стосовно глибоких легеневих мікозів не втратила актуальності у галузі медицини. Щодо гістоплазмозу, в окремих регіонах світу спостерігається збільшення випадків захворювання, особливо у імунокомпроментованих осіб. Тому розробка стратегій профілактики та контролю поширення гістоплазмозу є актуальними завданнями медицини.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Висновки, зроблені здобувачем, базуються на результатах власних досліджень. Показано, що лабораторна діагностика глибоких легеневих мікозів, в тому числі гістоплазмозу, може включати комплекс методів: мікроскопічний, культуральний, молекулярно-генетичний, серологічний. Стандартом для ідентифікації грибів та визначення їхньої чутливості до лікарських препаратів є культуральний метод; молекулярно-генетичні методи мають перевагу у високій чутливості та точності ідентифікації грибів. Використання комбінації різних методів дозволяє отримати максимально точний діагностичний результат, що сприяє швидкому розпочатку лікування.

Оцінка роботи. За актуальністю, науковою новизною, рівнем виконання досліджень із застосуванням сучасних методів лабораторної діагностики, а також обґрунтованістю висновків, кваліфікаційна робота відповідає вимогам щодо робіт такого рівня.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ на достатньому рівні опанувала методи, етапи та узагальнення

результатів досліджень з вивчення етіології, патогенезу, епідеміології та лабораторної діагностики глибоких легневих мікозів та конкретно гістоплазмозу. Здобувачка показала здатність самостійно планувати та вирішувати завдання, застосовуючи знання відповідних лабораторних методів.

За обсягом, науковим рівнем, значимістю отриманих результатів та особистим внеском робота, виконана Оленою ЗАДЕСЕНЕЦЬ, відповідає вимогам до кваліфікаційних робіт та може бути представлена у Екзаменаційну комісію для захисту.

Науковий керівник _____

Ольга ШАПОВАЛОВА

“ 18 ” грудня 2023 року

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу другого (магістерського) ступеня вищої освіти спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування

Олени ЗАДЕСЕНЕЦЬ

на тему: «ГЛИБОКІ ЛЕГЕНЕВІ МІКОЗИ: ХВОРОБА ДАРЛІНГА – СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ»

Актуальність теми. В наш час удосконалення технологій діагностики глибоких легеневих мікозів не втрачає актуальності у зв'язку з ростом розповсюдженості цих хвороб, особливо у імунокомпроментованих пацієнтів. Тому тема роботи з вивчення сучасних технологій виявлення мікробної контамінації продуктів тваринного походження є актуальною.

Теоретичний рівень роботи. Автором опрацьовано достатню кількість літературних джерел, як вітчизняних, так і зарубіжних, за темою роботи та обґрунтовано вибір методичних підходів до виконання поставлених завдань.

Пропозиції автора за темою дослідження. З метою вивчення проблеми та удосконалення лабораторної діагностики гістоплазмозу пропонується опанування та впровадження комплексу сучасних лабораторних методів, які включають культуральні, молекулярні та імунологічні тести. Це дозволить отримати максимально точний діагностичний результат, що сприятиме швидкому початку лікування.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. За результатами проведених досліджень зроблено відповідні висновки, які логічно завершують роботу. Показано, що сучасні технології діагностики глибоких легеневих мікозів і гістоплазмозу є ключовим чинником у забезпеченні ефективної профілактики та лікування цих хвороб.

Недоліки роботи. За текстом мають місце невдалі вирази, але це суттєво не впливає на наукову новизну та практичну цінність роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. За актуальністю, науковою новизною, рівнем виконання досліджень, які базуються на сучасних технологіях лабораторної діагностики, а також обґрунтованістю висновків кваліфікаційна робота відповідає вимогам щодо кваліфікаційних робіт та може бути представлена у Екзаменаційну комісію для захисту.

Рецензент _____

проф. Надія КОНОНЕНКО

“ 19 ” грудня 2023 року

ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 11
засідання кафедри мікробіології, вірусології та імунології

від 20.12.23

м. Харків

« 20 » грудня 2023 р

Засідання проводилось з використанням ZOOM технологій з 12 год 00 хв по 12 год 50 хв.

Чисельний склад кафедри: 6 штатних науково педагогічних працівників,

ПРИСУТНІ: зав. каф., проф. Філімонова Н.І., доц. Гейдеріх О.Г., доц. Дубініна Н.В., доц. Тіщенко І.Ю., доц. Шаповалова О.В., доц. Кошова І.Ю.

СЛУХАЛИ: Про представлення до захисту в Екзаменаційній комісії кваліфікаційної роботи на тему: «Глибокі легеневі мікози: хвороба Дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики» магістрантки спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування другого курсу НФаУ 2024 року випуску

Олени ЗАДЕСЕНЕЦЬ

(прізвище, ім'я, по-батькові)

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Ольга ШАПОВАЛОВА

Рецензент: доктор медичних наук, професор Надія КОНОНЕНКО

В обговоренні кваліфікаційної роботи брали участь:

проф. Філімонова Н.І., доц. Тіщенко І.Ю., доц. Гейдеріх О.Г., доц. Шаповалова О.В., доц. Дубініна Н.В., доц. Кошова О.Ю.

ПОСТАНОВИЛИ: Рекомендувати до захисту в Екзаменаційній комісії кваліфікаційну роботу магістрантки 2 курсу

Олени ЗАДЕСЕНЕЦЬ

(прізвище, ім'я, по-батькові)

На тему: «Глибокі легеневі мікози: хвороба Дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики»

Голова

Наталія ФІЛІМОНОВА

Секретар

Олена КОШОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 224 Технології медичної діагностики та лікування освітньою програмою Лабораторна діагностика на тему: «Глибокі легеневі мікози: хвороба Дарлінга – сучасні методи лабораторної діагностики»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Ольга НАБОКА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ продемонструвала здатність самостійно вирішувати поставлені наукові завдання з застосуванням сучасних методів. За обсягом, науковим рівнем, значимістю отриманих результатів та особистим внеском, виконана робота відповідає вимогам, які ставляться до кваліфікаційних робіт другого (магістерського) ступеня та може бути представлена у Екзаменаційну комісію для захисту.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ольга ШАПОВАЛОВА

“ 18 ” грудня 2023 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олена ЗАДЕСЕНЕЦЬ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
мікробіології, вірусології та імунології

Наталія ФІЛІМОНОВА

“ 20 ” грудня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

« ____ » _____ 2024 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор медичних наук, професор

_____ /Грина РИЖЕНКО/