



Черновецкий М.А.✉, Кондаурова С.Л.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Этиологическая структура грибов, выявленных в биологическом материале органов дыхания детей с онкогематологической патологией

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Черновецкий М.А. – обобщение и анализ данных лабораторных исследований, методология микробиологических исследований и библиография; Кондаурова С.Л. – подготовка макета статьи, дизайн статьи.

Подана: 22.03.2022

Принята: 06.06.2022

Контакты: tchernovetski@mail.ru

Резюме

Введение. Несмотря на успехи, достигнутые в последнее время, грибковые заболевания человека продолжают оставаться в числе актуальных проблем отечественного и мирового здравоохранения. Одной из наиболее опасных форм данного вида патологии являются инвазивные микозы с поражением системы дыхания (дыхательных путей и органов дыхания), характеризующиеся тяжелым течением заболевания и высоким уровнем летальности.

Цель. Установление этиологической структуры грибов, выделенных из биологического материала дыхательных путей и органов дыхания детей с онкогематологическими заболеваниями.

Материалы и методы. В исследование были включены все штаммы грибов (микромикеты), выявленные в биологическом материале из клинически значимых локусов (жидкости, забранные при дренировании трахеобронхиального дерева и проведении бронхоальвеолярного лаважа; содержимое гайморовых пазух и решетчатой кости черепа; плевральная жидкость, биоптаты и ауоптаты легких), полученном в период с 2002 по 2021 г. от пациентов с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основной онкогематологической патологии, находящихся на лечении в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (далее – Центр). При этом результаты микробиологических анализов образцов мокроты не были включены в исследование ввиду высокой вероятности контаминации тестируемого биоматериала грибковой микрофлорой полости рта, ротоглотки и носоглотки. Выделенные из дыхательной системы грибковые микроорганизмы были идентифицированы методами фенотипирования микромикетов и оценки их биохимических свойств (при выявлении дрожжевых патогенов), с подтверждением родовой и видовой принадлежности отдельных штаммов путем дополнительного исследования (в сложных для диагностики случаях) белкового профиля выявленных штаммов грибов в варианте масс-спектрометрического анализа с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией с задержкой

во времени (MALDI-TOF MS) при использовании автоматического спектрофотометра Vitek MS (bioMérieux, Франция).

Результаты. В общей сложности было выделено 259 штаммов микромицетов (без учета повторного выделения у ребенка одной и той же микрофлоры в динамике), среди которых дрожжеподобные грибы (дрожжи) составляли 69,5% (180 культур микроорганизмов). Общий спектр дрожжеподобных микромицетов был представлен различными видами представителей рода *Candida* и штаммами *Saccharomyces cerevisiae*. При этом среди дрожжей выявлено 77 культур *Candida albicans* (42,77%). В качестве других наиболее часто встречаемых представителей рода *Candida* обнаружено 20 штаммов *Candida glabrata* (11,11%), 17 образцов *Candida krusei* (9,44%) и 15 микромицетов *Candida parapsilosis* (8,33%). Общее число выявления в исследованном клиническом материале плесневых (мицелиальных) микроорганизмов составило 79 культур (30,5%) с выраженным превалированием среди них представителей рода *Aspergillus* в количестве 56 штаммов (70,89%), и в частности *Aspergillus fumigatus* в количестве 29 высевок (36,70%). Суммарное обнаружение так называемых мукоровых грибов (порядок *Mucorales*), включая выявленных представителей родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* и *Lichtheimia* (*Absidia*), составило 11 культур (13,92% от общего числа мицелиальных грибов. Большинство из них (8 штаммов) выявлены во второй половине анализируемого периода времени.

Выводы. Дрожжеподобные грибы продолжают оставаться основными представителями грибковой микрофлоры, выделяемой из дыхательной системы детей с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основной онкогематологической патологии. Подавляющее число высевок данных микромицетов из дыхательной системы приходится на долю широко распространенной в окружающей среде *Candida albicans*, а также так называемых новых дрожжевых патогенов (чаще всего *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*), характеризующихся, как правило, большей агрессивностью и устойчивостью к противогрибковым лекарственным средствам по сравнению с *Candida albicans*. В свою очередь в этиологической структуре мицелиальных грибов, обнаруженных в биологическом материале из дыхательных путей, преобладают микромицеты рода *Aspergillus*, и в частности *Aspergillus fumigatus*. Вызывают настороженность участвовавшие в последнее время случаи обнаружения грибов порядка *Mucorales*.

Ключевые слова: инвазивные микозы, онкогематология, дети, микромицеты, грибковые культуры, масс-спектрометрический анализ в варианте MALDI-TOF MS

Tchernovetski M.✉, Kandaurova S.

Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology
and Immunology, Minsk, Belarus

Etiological Structure of Fungi Found in the Biological Material of the Respiratory Organs of Children with Oncohematological Pathology

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tchernovetski M. – generalization and analysis of laboratory research data, methodology of microbiological research and bibliography; Kandaurova S. – preparation of article layout, article design.

Submitted: 22.03.2022

Accepted: 06.06.2022

Contacts: tchernovetski@mail.ru

Abstract

Introduction. Human fungal diseases are the actual medical problem still despite successes in this field during last years. One of most dangerous forms of this pathology are the invasive mycoses with damage of respiratory system. Those fungal infections are characterized by severe clinical diseases course and high level of mortality.

Purpose. To reveal the etiologic structure of fungi isolated from respiratory systems of children with oncohematological diseases.

Materials and methods. All fungal cultures revealed during investigation in 2002–2021 years period at the clinical biological materials from respiratory system (tracheal, bronchial, alveolar and pleural aspirates; lungs biopsy and autopsy; ethmoid bone of the skull and maxillary sinus contents) of children with oncohematological pathology complicated infectious diseases were included in this study. Sputum samples were excluded from investigation taking into account high likely possibility of contamination by fungi from oral cavity, nasopharynx and oropharynx. Cultures of fungi were indicated and identified by phenotype and biochemistry (for yeast only) assays. A lot fungal strains were confirmed additionally at diagnostic difficult cases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) using Vitek MS.

Results. In sum 259 fungal cultures were found. The prevalence of *Candida* spp. and other yeasts was 69,5% (180 cultures). Specific gravity of *Candida albicans* among yeasts was 42,77% (77 cultures). The other main representatives of *Candida* spp. were *Candida glabrata* (20 cultures, 11,11%), *Candida krusei* (17 culture, 9,44%) and *Candida parapsilosis* (15 cultures, 8,33%). The prevalence of mycelial fungi (mold) was in sum 30,5% (79 cultures) with *Aspergillus* spp dominance among mold (70,89%, 56 cultures) and particularly – *Aspergillus fumigatus* (36,70%, 29 cultures). So-called «mucor» fungi (*Mucor* spp, *Rhizopus* spp, *Rhizomucor* spp. и *Lichtheimia* (*Absidia*) spp. representatives) were revealed in 11 cases (13,92% among micelial samples). From those 11 cases abovementioned 8 mucormycetes were detected during last 10-years period.

Conclusions. Representatives of *Candida* spp. are the main fungal pathogens, revealed at respiratory systems in patients with opportunistic infectious on the background oncohematological pathology. Negative tendency for increasing etiologic roles most aggressive and drug resistance «non-albicans» yeast (such as *Candida glabrata*, *Candida*

krusei, *Candida parapsilosis*) and individual mucormycetes took place. Prevalence of *Aspergillus* spp. was detected among mycelial fungi with *Aspergillus fumigatus* dominate. **Keywords:** invasive mycoses, oncohematology, children, micromycetes, fungal cultures, mass spectrometric analysis in MALDI-TOF version

■ ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия во всем мире наблюдается медленный, но неуклонный рост числа грибковых заболеваний в виде поверхностных и внутренних (инвазивных) микозов с ежегодным летальным исходом более чем в 1,5 млн случаев грибковых инфекций [1]. Причины этого роста носят многофакторный характер – широкое применение цитостатической, антибактериальной и кортикостероидной терапии; рост числа медицинских манипуляций, связанных с нарушением целостности кожных и слизистых покровов; создание преморбидных состояний на фоне ухудшения экологической обстановки окружающей среды; увеличение числа инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии, приводящих к нарушениям функционирования иммунной системы человеческого организма; старение населения. Основными группами риска для развития инвазивных микозов являются лица с иммуносупрессивным статусом на фоне основной патологии (онкогематологические заболевания, врожденные и приобретенные иммунодефицитные состояния), реципиенты в отделениях трансплантации органов и тканей, пациенты с легочными формами туберкулеза. Это связано с преимущественно сопутствующим характером грибковых поражений, проявляющихся, как правило, в виде инфекционных осложнений на фоне лечения основного заболевания [1–7].

Инвазивные микозы могут проявляться в виде фунгемий, фунгурий и/или поражений различных систем организма человека, его внутренних органов и тканей. Одним из наиболее опасных проявлений грибковой инфекции является поражение дыхательной системы (дыхательных путей и органов дыхания). Инвазивные микозы с поражением органов дыхания имеют, как правило, клинически выраженные проявления заболевания с уровнем летальности в тяжелых случаях свыше 50% [8].

Традиционно основным этиологическим агентом инвазивных микозов являются дрожжевые микроорганизмы рода *Candida* [9]. Данный род включает в себя более 150 видов грибов, часть из которых имеют клиническое значение в качестве патогенов для человека. Наиболее широко известным и распространенным в окружающей среде грибковым микроорганизмом является *Candida albicans*. В последнее время в качестве возбудителей микозов все чаще выступают и другие виды дрожжевых грибов – так называемые non-*albicans* (*Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida auris*) [10–13].

Другой представительной группой этиологических агентов инвазивных микозов являются плесневые (мицелиальные) грибы, среди которых преобладают грибы рода *Aspergillus*. Известно свыше 40 актуальных для заболевания человека аспергилл, среди которых наибольшую актуальность имеют *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* и *Aspergillus terreus* [14–17]. Возрастает этиологическое значение и других представителей мицелиальной микрофлоры (в частности *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizomucor* spp., *Penicillium* spp., *Scedosporium* spp.) [18–20].

Лабораторная диагностика грибковых поражений дыхательных путей и органов дыхания носит комплексный характер и включает в себя использование различных диагностических подходов [21]. В первую очередь производится микробиологический посев полученного из клинически значимых локусов биологического материала с последующей его инкубацией и проведением дальнейших исследований в случае роста грибковой флоры. При выявлении роста колоний грибов из исследуемых образцов биоматериала на чашках Петри с селективными питательными средами проводится их последующая идентификация с применением различных видов микроскопии мазка на стекле, с оценкой характера, скорости роста и морфологических особенностей колоний микромицетов, с изучением биохимических свойств дрожжевых микроорганизмов. Проводится также определение чувствительности выявленных грибковых патогенов к применяемым антимикотическим лекарственным средствам. В последние годы активно применяется идентификация грибов при помощи масс-спектрометрии в варианте MALDI-TOF MS и амплификационного анализа в виде ПЦР в режиме реального времени [22–25].

Параллельно с классической микробиологической диагностикой проводятся рентгенологические и патоморфологические исследования [26–28]. Все более широко используется определение в клинических образцах (сыворотка крови, бронхоальвеолярный и трахеобронхиальный аспират) уровня биологических маркеров грибковой инфекции в виде галактоманнана и 1-3- β -D-глюкана [29, 30].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установление этиологической структуры грибов, выделенных из биологического материала, секретируемого стенкой дыхательных путей, и пунктатов ткани органов дыхания детей с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основных онкогематологических заболеваний.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выделения микромицетов использовался биологический материал, получаемый при дренировании трахеобронхиального дерева (трахеобронхиальный аспират) и проведении бронхоальвеолярного лаважа (бронхоальвеолярный аспират), а также биоптаты и аутоптаты легких, плевральная жидкость, содержимое гайморовых пазух и решетчатой кости черепа. Образцы биоматериала забирались в асептических условиях в специальные стерильные емкости с последующей незамедлительной доставкой (не позднее 2 часов) в лабораторию и посевом на чашки Петри с твердыми питательными средами. Затем проводилась термоинкубация исследуемых образцов с ежедневным визуальным контролем наличия роста грибковых культур. В качестве питательных сред использовались кровяной агар, шоколадный агар, желточно-солевой агар, агар МакКонки, анаэробный агар, Sabouraud Dextrose Agar (с добавлением хлорамфеникола и гентамицин сульфата), CHROMagar Candida, Brain-Heart Infusion Agar, агар Чапека-Докса. Параллельно с посевом проводилась микроскопия нативного биоматериала с применением как стандартной окраски по Граму, так и дополнительных красителей в виде Lactophenol Cotton Blue, Acridine Orange, Calcofluor White, Nigrosine, Methenamine Silver, Methylene Blue. В зависимости от использованного красителя осуществлялась световая, фазово-контрастная либо люминесцентная микроскопия мазка. Инкубация посевов на Sabouraud Dextrose Agar

проводилась в условиях аэробного термостатирования при температуре $+30\pm 2$ °C; для роста грибковой микрофлоры на среде CHROMagar Candida температура инкубирования поддерживалась в пределах $+35\pm 2$ °C; температурный режим использования агара Чапека-Докса составлял $+30\pm 2$ °C. Основной целью посева биологического материала на чашки Петри с селективными питательными средами являлось получение изолированных колоний так называемой чистой культуры потенциальных возбудителей микозов.

Последующая первичная идентификация выросших микромицетов (как правило, на уровне родовой принадлежности за исключением возможности определения отдельных видов кандид при использовании CHROMagar Candida) проводилась фенотипически путем оценки формы, консистенции и цвета грибковых колоний; температурного режима, длительности термоинкубации и характера роста микроорганизмов. В свою очередь, для дальнейшего определения либо подтверждения видовой принадлежности выросших культур дрожжевых грибов использовались реагенты BBL Mycotube (Becton Dickinson (США), идентификационные планшеты Fongiscreen 4H (Sanofi Diagnostics Pasteur, Франция), диагностические планшеты API 20 Auxacolor и API ID32C для полуавтоматического оборудования miniAPI (bioMérieux, Франция) и идентификационные карты YST для автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact (bioMérieux, Франция). Для идентификации плесневой микрофлоры применялись способы фенотипической диагностики. В сложных для диагностики случаях определения дрожжевых патогенов, а также в качестве дополнительного метода диагностики мицелиальных микромицетов использовался лабораторный анализ с применением технологии MALDI-TOF MS на автоматическом спектрофотометре Vitek MS.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период с 2002 по 2021 г. образцы биологического материала, полученного из дыхательной системы и органов дыхания (бронхоальвеолярный трахеобронхиальный аспираты, биоптаты и аутоптаты легких, плевральная жидкость, содержимое гайморовых пазух и решетчатой кости черепа) у детей с инфекционными осложнениями на фоне онкогематологических заболеваний были исследованы на наличие возбудителей инфекций. В общей сложности было выявлено 259 случаев роста грибковой микрофлоры, идентифицированной в виде различных грибковых патогенов дрожжевой (180 штаммов) и мицелиальной (79 штаммов) этиологии. Суммарно были обнаружены представители 9 родов плесневых микромицетов и 14 разновидностей дрожжеподобных грибов (табл. 1–3).

Анализ результатов выделения грибковой микрофлоры из дыхательных путей и органов с начала 2002 г. во многом был определен внедрением в этот период времени в рутинную практику работы микробиологической лаборатории алгоритма родовой и видовой идентификации микромицетов, включающего в себя использование комплекса питательных сред и диагностических реагентов.

Основное место в этиологической структуре выделенных из исследованного биологического материала микромицетов занимает *Candida albicans* (42,77%). При этом среди выявленных возбудителей микозов из числа так называемых грибов non-albicans превалируют *Candida glabrata* (11,11%), *Candida krusei* (9,44%) и

Candida parapsilosis (8,33%). В свою очередь, основным представителем плесневой микрофлоры являются микромицеты рода *Aspergillus* (70,89%), преимущественно *Aspergillus fumigatus* (36,70%).

Частота выделения грибковых патогенов из исследованного биологического материала крайне неравномерна (от 3 случаев в 2004 г. до 28 высевок в 2018 г.) с ежегодным превалированием в основном дрожжевой микрофлоры.

Обращает на себя внимание удельный вес обнаружения так называемых муко-
ровых грибов (микроорганизмы родов *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Lichtheimia*), до-
стигающих 13% от общего числа выявленных мицелиальных микромицетов. Следует
отметить тот факт, что большинство муко-
ровых грибов (8 из 11 штаммов) были выяв-
лены во второй половине анализируемого периода времени. Это позволяет предпо-
ложить активацию в последнее время циркуляции данного вида плесневой микро-
флоры среди детей с онкогематологической патологией. При этом нельзя исключить
также и диагностическое совершенствование в последнее время лабораторного вы-
явления микромицетов порядка *Mucorales*, обусловленное актуальностью вызывае-
мых ими заболеваний.

Вызывает настороженность тенденция к росту числа обнаружений в исследуемом
биологическом материале так называемых новых дрожжевых патогенов (*Candida*
parapsilosis, *Candida glabrata*, *Candida krusei*), характеризующихся высокой тяжестью
протекания вызываемой ими грибковой инфекции и устойчивостью к ряду широко
применяемых противогрибковых лекарственных средств.

Являясь по своей сути «золотым стандартом» диагностики грибковых инфекций,
выявление соответствующих патогенов в клинически значимых локусах организма
требует определенных временных затрат. Одной из основных причин длительности
проведения микробиологических исследований, основанных на выделении и после-
дующей идентификации грибковых патогенов, является необходимость предвари-
тельного получения так называемой чистой культуры в виде изолированных коло-
ний микроорганизмов на чашках Петри с питательными средами. При этом средняя
длительность роста микромицетов колеблется от 2–3 суток при выявлении дрож-
жевых и дрожжеподобных грибов до 5–7 суток при обнаружении плесневой микро-
флоры. С учетом последующего проведения идентификационных исследований до
уровня рода или вида общее время проведения микологических исследований пре-
имущественно колеблется в пределах 4–6 суток в отношении дрожжевых патогенов
и 7–11 суток в части диагностики плесневой микрофлоры.

Одним из эффективных и доступных для лабораторий различного уровня под-
ходов по сокращению времени на проведение микологических исследований явля-
ется использование селективно-дифференциальной питательной среды *CROMagar*
Candida, позволяющей одновременное проведение родовой и видовой иденти-
фикации наиболее часто выявляемых из биологического материала возбудителей
рода *Candida* (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*
и *Candida tropicalis*).

Результативность проведения противогрибковой терапии оказалась обратно
пропорциональной периоду времени, затрачиваемому на идентификацию грибко-
вых патогенов. Задержка с назначением антимикотиков после начала инфекционно-
го процесса существенно увеличивает уровень летальности по сравнению с ранним
(до 24 часов) началом терапии.



Таблица 1
Этиологическая структура микромицетов, выделенных из дыхательных путей и органов дыхания
Table 1
Etiological structure of micromycetes revealed in respiratory system

Наименование микромицетов	Количество выделенных культур в период с 2002 по 2021 г.																	Всего			
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018		2019	2020	2021
Дрожжевые микромицеты (<i>Candida</i> spp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	2	2	1	13	5	2	5	6	13	11	10	11	8	5	13	13	18	15	14	6	180 (69,5%)
Мицелиальные микромицеты (<i>Aspergillus</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizomucor</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Scedosporium apiospermum</i> , <i>Lichtheimia corymbifera</i> , <i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Purpureocillium lilacinum</i>), недифференцированная плесень (Mold)	4	7	3	14	9	9	11	12	13	16	13	13	11	10	19	15	28	22	20	10	259 (100%)

Таблица 2
Этиологическая структура Дрожжевых микромицетов, выделенных из дыхательных путей и органов дыхания
Table 2
Etiological structure of yeast revealed in respiratory system

Наименование Дрожжевых микро- мицетов	Количество выделенных дрожжевых культур в период с 2002 по 2021 г.																	Всего			
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018		2019	2020	2021
<i>C. albicans</i>	2			5		1	4	2	5	3	4	5	6	2	8	6	9	8	4	3	77 (42,77%)
<i>C. guilliermondii</i>				2						1	1	1	1	1	1	1			1	1	10 (5,56%)
<i>C. parapsilosis</i>				1			2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	15 (8,33%)
<i>C. glabrata</i>			1	1	1	1	1	2	3		1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	20 (11,11%)
<i>C. krusei</i>				1	1			1	1	2		2	1	1	1	2	2	1	4	1	17 (9,44%)
<i>C. tropicalis</i>				1							1	1		1							3 (1,66%)
<i>C. pseudotropicalis</i>				1																	1 (0,56%)
<i>C. famata</i>					1	2					1					1					5 (2,78%)
<i>C. lusitaniae</i>						1					1					1	1	1	2	1	8 (4,44%)
<i>C. kefur</i>					1			1		2							1				5 (2,78%)
<i>C. norvegensis</i>																	1				1 (0,56%)
<i>C. orthopsilosis</i>																		1			1 (0,56%)
<i>C. inconspicua</i>																		1	1		2 (1,11%)
<i>C. spp.</i>	2	2		2		2				1											10 (5,56%)
<i>Saccharomyc. cer.</i>					1					1			1	1	1	1					5 (2,78%)
Итого	4	2	1	13	5	7	5	6	13	11	10	11	8	5	13	13	18	15	14	6	180 (100%)



Таблица 3
Этиологическая структура мицелиальных микромицетов, выделенных из дыхательных путей и органов дыхания
Table 3
Etiological structure of mucellial micromycetes revealed in respiratory system

Наименование мицелиальных микромицетов	Количество выделенных мицелиальных культур в период с 2002 по 2021 г.																	Всего		
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018		2019	2020
<i>Asp. fumigatus</i>	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	4	4	2	2	3	29 (36,70%)
<i>Asp. flavus</i>				2	1	1	2					1	1	1	1	1	2	1	1	14 (17,72%)
<i>Asp. niger</i>	1						1		1	1					1		1			5 (6,32%)
<i>Asp. sydowii</i>																1				2 (2,53%)
<i>Asp. nidulans</i>																	1			1 (1,2%)
<i>Asp. ochraceus</i>						1														1 (1,27%)
<i>Asp. spp.</i>	2	1					2													4 (5,06%)
<i>Rhizopus oryzae</i>													1							1 (1,27%)
<i>Rhizopus microspor.</i>																		1		1 (1,27%)
<i>Rhizopus spp.</i>											1									1 (1,27%)
<i>Mucor spp.</i>							2		1	1				1					1	6 (7,59%)
<i>Rhizomucor spp.</i>																	1			1 (1,27%)
<i>Lichtheim. corymb.</i>																		1		1 (1,27%)
<i>Paecilolomyc. var.</i>															1	1				2 (2,53%)
<i>Purpureocillium lil.</i>																1				1 (1,27%)
<i>Penicillium chrys.</i>																				1 (1,27%)
<i>Penicillium spp.</i>						1													2	3 (3,79%)
<i>Trichophyton spp.</i>																	1			1 (1,27%)
<i>Scedosporium apis.</i>																		1		1 (1,27%)
Недиффер. плесень	1	5	2	1	4	2	6	6	0	5	3	2	3	5	6	2	10	7	6	79 (100%)
Итого	0	5	2	1	4	2	6	6	0	5	3	2	3	5	6	2	10	7	6	79 (100%)

На пути дальнейшего ускорения проведения процесса лабораторной диагностики инвазивных микозов рациональным подходом является разработка и внедрение технологии комплексной молекулярно-генетической идентификации грибковых патогенов непосредственно в исследуемом биологическом материале (без получения предварительно изолированных колоний чистой культуры) с использованием мультипраймерной ПЦР в режиме реального времени с учетом этиологического спектра циркулирующей в лечебном учреждении микрофлоры. Выполненные нами пилотные исследования в этом направлении свидетельствуют о перспективности подобного диагностического подхода.

■ ВЫВОДЫ

1. Дрожжеподобные грибы являются основными грибковыми патогенами (69,4%) дыхательных путей и органов дыхания детей с сопутствующими инфекционными осложнениями на фоне основной онкогематологической патологии.
2. Наиболее часто обнаруживаемым в исследуемом материале дрожжевым микромицетом является *Candida albicans* (42,77%). При этом в 28,89% случаев выделения дрожжевых грибов приходится на долю так называемых non-*albicans* патогенов (*Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*).
3. Доля мицелиальных грибов, выделенных из исследованного биологического материала, составляет 30,5% с выраженным превалированием среди них возбудителей рода *Aspergillus* (70,89%), в частности *Aspergillus fumigatus* (36,70%).
4. Обращает на себя внимание установленная частота выделения так называемых муконовых микромицетов, составившая 13% от общего числа обнаруженных плесневых грибов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bongomin F, Gago S, Oladele R.A., Dening D.W. (2017) Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases – Estimate Precision. *Journal of Fungi*, 3(57). doi: 10.3390/jof3040057.
2. Jose P, Alvares-Lerma F, Maseda E, Olaechea P. et al. (2019) Invasive fungal infection in critically ill patient: hurdles and next challenges. *Journal Chemotherapy*, 31(2):64–73. doi: 10.1080/11200009X.2018.1557799.
3. Von Lilienfeld-Toal M., Wagener J., Einsele H. et al. (2019) Invasive fungal infection. *Deutsches Arzteblatt International*, 116(16):271–278. doi: 10.3238/arztebl.2019.0271.
4. Arendrup M.C., Paterson T.F. (2017) Multidrug-resistant *Candida*: epidemiology, molecular mechanism and treatment. *Journal of Infectious Diseases*, 216 (suppl. 3):S445–S451. doi: 10.1093/infdis/jix131.
5. Koehler P, Cornely O.A., Bottiger B.W. et al. (2020) COVID-19 associated pulmonary aspergillosis. *Mycoses*, 63(6):528–534. doi: 10.1111/myc.13096.
6. Guo M., Tong Z. (2021) Risk Factors Associated with Invasive Pulmonary Mycosis Among Severe Influenza Patients in Beijing City, China. *International Journals of General Medicine*, 14:7381–7390.
7. Bhutia T.O., Adhikari L. (2015) Pulmonary mycoses among clinically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(1):260–268. doi: 10.5455/2320-6012.ijrms20150147.
8. Eren E., Alp E., Cevahir F. et al. (2020) The Outcome of Fungal Pneumonia with Hematological Cancer. *Infection and Chemotherapy*, 52(4):530–538. doi: 3947/ic.2020.52.4.530.
9. Boroujeni Z.B., Shamsaei S., Yarachmadi M. et al. (2021) Distribution of invasive fungal infections: Molecular epidemiology, etiology, clinical conditions, diagnosis and risk factors: A 3-year experience with 490 patients under intensive care. *Microbial Pathogenesis*, 152, Article ID 104616. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104616.
10. Papas P.G., Lionakis M.S., Arendrup M.C. et al. Invasive candidiasis (2018). *Nature Reviews/Diseases Primers*, 4, Article number 18026. doi: 10.1038/nrdp.2018.26.
11. Al-Dorsi H., Sakkijha Y., Khan R. et al. (2020) Invasive Candidiasis in Critically Ill patients: A Prospective Cohort Study in Two Tertiary Care Centers. *Journal Care Medicine*, 35(6):542–553. doi: 10.1177/0885066618767835.
12. Clancy C.J., Nguyen M.H. (2018) Diagnosis Invasive Candidiasis. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(5). doi: 10/11.28/JCM.019909-17.
13. Forsberg K, Woodworth K., Walters M. et al. (2019) Erratum: *Candida auris*: The recent emergence of multi-resistant fungal Pathogen. *Medical Mycology*, 57(1):1–12. doi: 10.1093/mmy/mmy054.
14. Kulko A.B. (2012) *Atlas of species genus Aspergillus with potential to induce bronchi and lung pathology*. Moscow: Tipografiya Novosti, 155 p. (In Russian)

15. Latge J-P, Chamilos G. Aspergillus fumigatus and Aspergillosis in 2019 (2020). *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1):e00140–18. doi: 10.1128/CMR.00140-18.
16. Paulsen C, Halswopth J, Alvares-Perez S. et al. (2017) Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of Aspergillus fumigatus and some other Aspergillus species. *Microbial Biotechnology*, 10(2):296–322. doi: 10.1111/1751-7915.12367.
17. Goyeneche-Garsia A., Rodriguez-Oyuela. J., Sanchez G and Firacative C. Clinical and Epidemiological Profile of Patients with Invasive Aspergillosis from a Fourth Level Hospital in Bogota, Colombia: A Retrospective Study (2021). *Journal of Fungi*, 7, 1092. doi: 10.3390/jof7121092.
18. Chowdhary A., Agarwal K., Meis J.F. (2016) Filamentous Fungi in Respiratory Infections. What Lies Beyond Aspergillosis and Mucormycosis? *PLOS Pathogens*, 12(4):e1005491. doi: 10.1371/journal.ppat.1005491.
19. Shadriva O.V., Khostelidi S.M., Borzova Y.V. et al. (2017) Combination of invasive aspergillosis and mucormycosis in oncohematological patients. *Oncohematology*, 12(4):8–17. (In Russian). doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-4-8-17.
20. Prakash H., Chakrabarti A. Global Epidemiology of Mucormycosis (2019). *Journal of Fungi*, 5, 26. doi: 10.3390/jof5010026.
21. Zhang S.X., Babady N.E., Hanson K.E. et al. Recognition of Diagnostic Gaps for Laboratory Diagnosis of Fungal Diseases: Expert Opinion from the Fungal Diagnostics Laboratories Consortium (FLDS) (2021). *Journal of Clinical Microbiology*, 59(7):e01784–20. doi: 10.1128/JCM.01784-20.
22. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification (2019). *Journal of Fungi*, 5(4). doi: 10.3390/jof5010004.
23. Rath P-M., Steinmann J. (2018) Overview of Commercially Available PCR for the Detection of Aspergillus spp. DNA in Patient Samples. *Frontiers in Microbiology*. doi: 103389/fmicb.2018.00740.
24. Sujuay S., Pushpa K., Dipendra Kumar G. (2021) Utility of Panfungal PCR in the diagnosis of invasive fungal infections in febrile neutropenia. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 10(7):2533–2540. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_2325_20.
25. Jenks J.D., Gangneux J-P., Schwartz I.S. et al. (2020) Diagnosis of Breakthrough Fungal Infections in the Clinical Laboratory: An ECMM Consensus Statement. *Journal of Fungi*, 6(4):216. doi: 10.3390/jof6040216.
26. Katragkov A., Fisher B.T., Groll A.H. et al. (2017) Diagnostic Imaging and Invasive Fungal Diseases in Children. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 6(S1):S22–S31. doi: 10.1039/jpids/pix055.
27. Orłowski H.L.P., McWilliams S., Mellnick V.M. et al. (2017) Imaging Spectrum of Invasive Fungal and Fungal-like Infections. *RadioGraphics*, 37:1119–1134. doi: 10.1148/rg.2017160110.
28. Zhang D., Li X., Zhang J. et al. (2021) Characteristic of Invasive Pulmonary Fungal Diseases Diagnosed by Pathological Examination. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, Article ID 5944518; 4 pages. doi: 10.1155/2021/5944518.
29. Huppler A.R., Fisher B.T., Lehrnbecher T. et al. (2017) Molecular Biomarkers in the Diagnosis of Invasive Fungal Diseases in Children. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 6 (suppl.1):S32–S44. doi: 1039/jpids/pix054.
30. Paterson T.F., Donnelly J.P. (2019) New concept in diagnostics for invasive Mycoses: non-culture-based methodologies. *Journal of Fungi*, 5(1):9. doi: 10.3390/jof501009.