

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ
ФЕДЬКОВИЧА

Інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології

**Динаміка чутливості штамів *Candida albicans* до антимікотичних
препаратів під час пандемії COVID-19 у Чернівецької області**

Кваліфікаційна робота
Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Виконала:
студентка VI курсу 611 групи
Моспан Вікторія Іванівна
Керівник: к.б.н., доц.
Васіна Л.М.

Чернівці – 2023

АНОТАЦІЯ

Проаналізована частота виділення штамів *Candida albicans* з різних біотопів тіла людини (слизові оболонки ротової порожнини та піднебінних мигдаликів, слизова піхви, фекалії) упродовж 2019-2023 років (за 2023 рік проведений аналіз випадків до 25 серпня включно) та охарактеризована динаміка чутливості виділених штамів до антимікотичних засобів.

Встановлено статистично достовірне зростання частоти виділення штамів *Candida albicans* у 2020-2022 році, порівняно з 2019 роком, що співпадає з початком пандемії COVID-19.

Відмічено, що чутливість виділених штамів до антимікотичних засобів мало залежала від локалізації збудника. За характером динаміки чутливості всі вивчені препарати, незалежно від їх хімічної будови та механізму дії, було поділено на дві групи: до першої групи віднесли антимікотики (ністатин, флуконазол, воріконазол) чутливість до яких була високою та незмінною у період спостережень; до другої – антимікотики (ітраконазол, амфотерицин В, клотримазол, еконазол, міконазол, кетоконазол), для яких зафіксоване різке, зазвичай, статистично достовірне зниження чутливості у 2020-2023 роках.

Робота виконувалася на базі лабораторії «Clinica Sante» м. Чернівці, вул. Головна, 84

Ключові слова: *Candida albicans*, антимікотики, антибіотики, пандемія COVID-19, полієни, азоли, ехінокандіни.

Candida albicans, antifungals, antibiotics, COVID-19 pandemic, polyenes, azoles, echinocandins

Abstract. The dynamics of the frequency of isolation of *Candida albicans* strains from various micro ecological niches of the human body (mucous membranes of the oral cavity and palatine tonsils, vagina, feces) during the years 2019-2023 were analyzed (for the year 2023, the analysis of cases was carried out until August 25 inclusive). The dynamics of the sensitivity of selected strains to antifungal agents was also analyzed.

A statistically significant increase in the frequency of isolation of *Candida albicans* strains from all three types of samples was found in 2020, coinciding with the onset of the COVID-19 pandemic.

The sensitivity of the selected strains to antifungal agents and the dynamics of this indicator depended little on the localization of the pathogen. According to the nature of the dynamics of sensitivity, all studied drugs are divided into two groups, regardless of their chemical composition. Sensitivity to one group of antimycotics (nystatin, fluconazole, voriconazole) was high and almost did not change during the observation period. For the other group (itraconazole, amphotericin B, clotrimazole, econazole, miconazole, ketoconazole), a sharp, in most cases, statistically significant decrease in sensitivity was recorded in 2020, with an increase in this indicator in subsequent years.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Загальна характеристика грибів роду <i>Candida</i>	7
1.2. Проблеми антибіотикорезистентності грибів роду <i>Candida</i> та наслідки для населення	11
1.3. Антимікотичні препарати	15
1.4. Механізми протигрибкової резистентності полієнів, азолів та ехінокандинів	20
РОЗДІЛ ІІ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	26
2.1. Підготовка та забір матеріалу	26
2.2. Висів та інкубування	27
2.3. Ідентифікація мікроорганізмів	28
2.4. Антимікотикочутливість	29
РОЗДІЛ ІІІ. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	32
3.1. Частота виділення штамів <i>Candida albicans</i>	32
3.2. Динаміка чутливості виділених штамів <i>Candida albicans</i> до антимікотичних засобів полієнової природи	36
3.3. Динаміка чутливості виділених штамів <i>Candida albicans</i> до антимікотичних засобів групи триазолів класу азолів.....	40
3.4. Динаміка чутливості виділених штамів <i>Candida albicans</i> до антимікотичних засобів групи імідазолів класу азолів	43
ВИСНОВКИ	51
ДОДАТКИ	

ВСТУП

Рід грибів *Candida* є найбільш поширеним серед умовно-патогенних грибів, а саме один із його видів *albicans*. Даний вид вважається комменсалом та є нешкідливим для людського організму мешкаючи на слизовій оболонці порожнини рота, шлунково-кишкового тракту, піхві за умови, що місцева мікробіота є стійкою і тканинні бар'єри не пошкоджені та при правильній роботі імунної системи[2].

Дріжджеподібні гриби роду *Candida* часто зустрічаються в різних мікроекологічних нішах тіла людини. У 35% здорового населення спостерігається носійство *Candida spp.* на слизових оболонках ротової порожнини[3]. У більшості здорових людей гриби роду *Candida* колонізують товсту кишку[7]. У 8-20% здорових жінок спостерігається безсимптомне кандідоносійство[2]. При зниженні місцевого та загального протиінфекційного захисту дріжджеподібні гриби викликають запальні захворювання різної локалізації.

За даними світової статистики, вульвовагініти спричинені мікроскопічними грибами складають від 15-20% до 40-45% від усіх інфекційних захворювань вульви та вагіни[2]. За опублікованими даними у пацієнтів з патологією ЛОР-органів із вогнища запалення дріжджеподібні гриби роду *Candida* виділяються у 36% випадків і 55% виділених штамів належать до виду *C. albicans*[3]. За іншими даними 70% випадків грибкових інфекцій по всьому світу спричинені *C. albicans*[4].

Candida можуть спричиняти як поверхневі, так і системні інфекції, які становлять загрозу для життя пацієнта. В останньому випадку смертність може сягати 40%[5, 6].

Досліджено чутливість дріжджеподібних грибів *C. albicans*, зокрема, дріжджеподібні гриби роду *Candida*, які були виділені із слизових оболонок рота були високо чутливими до амфотерицину В, менш чутливими до флюконазолу і малочутливими до ітроконазолу[8].

Досліджено антибіотикочутливість штамів *Candida* які виділені з піхви. Згідно цих даних, дослідні штами показали високу резистентність до флуконазолу, клотримазолу, ітраконазолу та ністатину. Високу чутливість виділені ізоляти мали до воріконазолу, амфотерицину В і кетоконазолу[10, 11].

З огляду на вище сказане моніторинг чутливості грибів роду *Candida* до антимікотичних засобів має важливе значення для проведення раціональної терапії та профілактики різних кандидозів.

Тому, основною метою магістерської роботи було проаналізувати зміни антимікотикочутливості штамів *Candida albicans*, що виділені з різних мікроекологічних ніш тіла людини на фоні розвитку пандемії COVID-19 у Чернівецькій області та міста Чернівці.

Відповідно до мети поставлені наступні завдання:

1. Оцінити динаміку виділення штамів *Candida albicans* в період з 2019 – 2023(за 2023 рік проаналізовано випадків до 25 серпня включно) роки;
2. Охарактеризувати зміну антимікотикочутливості виділених штамів *Candida albicans* в період з 2019 по 2023(за 2023 рік до 25 серпня включно) роки;
3. Проаналізувати причинно-наслідковий зв'язок змін чутливості виділених штамів *Candida albicans* до антимікотичних препаратів;

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика грибів роду *Candida*

Candida albicans — поширений комменсальний грибок, який колонізує ротову порожнину, шлунково-кишковий тракт і піхву, а також шкіру здорових людей. У 50% населення *C. albicans* є частиною нормальної флори мікробіоти. Різноманітні клінічні прояви видів *Candida* варіюються від локалізованих, поверхневих шкірно-слизових розладів до інвазивних захворювань, які зачіпають численні системи органів і є небезпечними для життя[0].

Види *Candida* відповідальні за більшість інфекцій людини, викликаних патогенними грибами. Представники *Candida* є основною причиною більшості опортуністичних інфекцій, збудником яких виступає класична — *Candida albicans*. Окрім, *Candida albicans* збудником грибкових інфекцій буває — стійка до лікарських засобів *Candida glabrata*, нещодавно виявлений та класифікований вид *Candida auris* та інші нові види такі як: *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* і *Candida krusei*[38].

Як вже зазначалося, гриби є у складі нормальної мікрофлори ротової порожнини людини. Досліджено, видову різноманітність різних родів грибів у ротовій порожнині. Це доводить важливість грибкової складової мікробіому у здорових людей. У 75% учасників дослідження найчастіше були виявлені гриби роду *Candida*, у 65% *Cladosporium*, гриби роду *Aureobasidium* та *Saccharomycetales* були присутні у 50% дослідних учасників, рід *Aspergillus* переважав у 30%, *Fusarium* та *Cryptococcus* був знайдений у 20% дослідних людей. Варто зауважити, що чотири види є патогенними для людини, деякі види виділених грибів, можливо, існували у вигляді спор або були занесені під час дихання чи вживанні їжі, як алохтонні мікроорганізми. Отримані результати демонструють широку видову грибкову різноманітність мікробіому ротової порожнини здорової людини. Загалом було виділено 101 вид гриба та від 9 до 23 видів у кожного дослідного пацієнта[1].

Гриби мають різноманітні схеми життєвого циклу з адаптацією в їхньому метаболізмі та морфогенезі, що дозволяє їм пристосовуватися до змін

навколишнього середовища та виживати в найрізноманітніших екосистемах, а також проникати та розмножуватися у живих організмах.

Вірулентність *Candida albicans* дозволяє цьому грибу викликати різні захворювання в людей. Адгезія це один із факторів вірулентності *C. albicans*, яка дає можливість прикріплюватися до клітин господаря, що є важливим етапом для інвазії. Формування біоплівки на поверхнях збільшує стійкість гриба до антимікробних засобів та полегшує проникання інфекцій. Гідролітичні ферменти, такі як протеази та фосфоліпази, допомагають грибу руйнувати клітини господаря та вторгтися в їхні тканини. В основі мутагенності лежить здатність *C. albicans* викликати зміни в генетичному матеріалі клітин господаря, що може сприяти розвитку інфекцій. Деякі штами *C. albicans* можуть виробляти токсини, які посилюють їхню вірулентність – секреція токсинів. Мімікрія клітин господаря потрібна щоб уникнути імунної відповіді та залишатися в організмі. Всі ці фактори взаємодіють між собою, створюючи оптимальні умови для розвитку інфекцій. Вивчення цих механізмів допомагає розуміти, як *C. albicans* викликає захворювання та розвивати стратегії для його контролю[80].

Адгезія грибів до слизової оболонки носія є одним із найважливіших етапів на шляху до персистенції та колонізації певного біотопу. Поверхня слизових оболонок вкрита певним шаром захисту і для того, щоб наблизитися та прикріпитися до епітеліальних клітин тіла, *Candida* має пройти захисний шар слизу. Він містить асептичні ферменти, імуноглобуліни, позаклітинні білки, ліпіди тощо. Основу слизу складають муцини. Це різні високомолекулярні глікопротеїди, що містять кислі полісахариди. Муцин утворює так звану молекулярну сітку, що допомагає утримувати воду та інші часточки. В'язкість слизу залежить від співвідношення білкових компонентів та води, а також забезпечується їх великими розмірами та надзвичайно високою гідрофільністю. Багато умовно-патогенних та патогенних бактерій

м
а
ю
т

Досліджено взаємодію між муцином та різними видами *Candida*. Доведено зв'язок між вірулентністю грибів та їхніми адгезивними властивостями. Найвищими адгезивними властивостями володіли *C.albigans*, *C.dublinskiensis*, *C.tropicalis*. Адгезивні властивості середньої сили були притаманні *C.parapsilosis*, *C.lusitaniae*. Найслабші адгезивні властивості проявляли *C.krusei*, *C.glabrata*[4].

Існуючи як комменсал у значній частині людської популяції, *C. albicans* безсимптомно колонізує ротову порожнину, шлунково-кишковий тракт і статеві шляхи. Доведено, що колонізація порожнини рота, піхви та кишечника людини зазвичай розвивається в дитинстві, переважно під час вагінальних пологів або грудного вигодовування[40].

Однак, після порушення цілісності бар'єру або імунної відповіді господаря цей грибок може мігрувати через епітелій і отримати доступ до інших систем органів та викликати там інфекцію. Більшість хвороб, що спричинені *C. albicans* прийнято класифікувати на два підтипи: слизові та системні. До першого підтипу належать шкірно-слизові поверхні що, переважно, уражені *C. albicans*. Хвороби, що виникають у такому випадку це в першу чергу різні види кандидозу: вагінальний(вульвовагінальний) кандидоз, кандидоз ротової порожнини(орофарингеальний), кандидоз стравоходу(езофагеальний) і, рідше, нігтів(оніхомікоз). Найрідше зустрічається шкірний кандидоз у невеликого відсотка пацієнтів з певними вродженими проблемами імунітету. Системний кандидоз вражає стерильні ділянки тіла, наприклад, кровоносну систему з подальшим ураженням центральної нервової системи, печінки, селезінки, серця та нирок. Також, може вражатися внутрішньочеревний відділ пацієнта без поширення за допомогою крові. Системний кандидоз асоціюється з високою смертністю, незважаючи на призначення протигрибкової терапії[39].

Отже, *C. albicans* є невід'ємною складовою людського мікробіому починаючи від народження та не несе загрози організму при правильній роботі імунної системи. У випадках порушення роботи імунітету відбувається

активна колонізація різних біотопів організму з можливими критичними наслідками для людини. Сучасна медицина здатна боротися з різними мікроорганізмами за допомогою активного використання антибіотичних речовин. Проте, впродовж останніх років спостерігається тенденція до збільшення антибіотикорезистентності. Багато видів бактерій та грибів мають набуту стійкість до лікарських препаратів. Це становить неабияку загрозу для ефективного лікування різних бактеріологічних чи грибкових уражень пацієнтів.

1.2. Проблеми антибіотикорезистентності грибів роду *Candida* та наслідки для населення

Наразі ми живемо в постантибіотичну епоху, коли звичайні протимікробні препарати стають неефективними при лікуванні різних інфекційних станів, але незважаючи на це, для лікування захворювань, що викликані різними видами грибів все ще критично необхідне використання антимікотичних засобів. Відомо, що грибкові інфекції викликають найбільший відсоток смертності порівняно з іншими бактеріальними збудниками у всьому світі[81].

Грибки заражають мільярди людей і є причиною смертей приблизно у півтора мільйона випадків щорічно, подібні показники смертності викликають більш загальновизнані хвороби, такі як, туберкульоз чи малярія. Недооцінювання важливості грибів у виникненні різних патологічних станів з часом призводить до суттєвого зниження ефективності лікування з використанням вже існуючих антимікотиків. В основному це відбувається через виникнення резистентності, появою та поширенням нових мультистійких штамів патогенів проти яких сучасна медицина поки програє. В останні роки статистика людей, що заражаються грибами підвищується. Ймовірно, це відбувається через збільшення кількості хворих на різного роду онкологічні захворювання, хвороби пов'язані зі зниження імунітету (ВІЛ, СНІД тощо), також збільшення кількості пацієнтів із трансплантованими органами та людей літнього віку[6].

На сьогодні для лікування грибкових інфекцій використовується лише три класи антимікотичних препаратів, що схвалені для лікування інвазивних кандидозів. Ефективність даних препаратів в останні роки суттєво знижується у зв'язку з виникненням набутої резистентності грибів та бактерій. Значне занепокоєння викликало виникнення двох лікарсько-стійких видів грибів, таких як *Candida auris* та *Candida glabrata*, що суттєво знижують спектр використання протигрибкових засобів для лікування цих серйозних інфекцій[5].

У 2009 році із зовнішнього слухового проходу пацієнта з Японії був виділений новий вид *Candida auris*. За десять років даний вид вже був зареєстрований більш ніж у 30 країнах на шести континентах світу. Тим самим викликавши значне занепокоєння лікарів та дослідників, оскільки, цей вид характеризується стійкістю до амфотерицину В, флуконазолу та вже є повідомлення щодо стійкості до ехінокандинів. Детальне дослідження *Candida auris* показало, що така протигрибкова резистентність до певних антимікотиків є набутою, а не внутрішньою[7].

Candida auris – це новий та дуже стійкий до відомих антибіотиків грибовий патоген. Він спричинив серйозні спалахи інфекційних хвороб у понад 45 країнах світу з моменту свого відкриття. Така ситуація призвела до смертності у лікарнях, яка сягала майже 72%. Дослідження виявили, що особливо чутливими до нового грибка є пацієнти із супутніми хворобами. Також, починаючи з 2019 року, тобто від початку епідемії коронавірусної хвороби даний гриб зустрічався надзвичайно часто у пацієнтів, що хворіли на COVID-19[60].

Досліджено, що *Candida auris* володіє здатністю протягом тривалого терміну зберігатися в лікарняній екосистемі незважаючи на використання різних дезінфікуючих засобів, ймовірно через утворення біоплівки. Окрім того, даний гриб має дуже високу стійкість до різних азолів (флуконазол), амфотерицину В та різних ехінокандинів. В результаті такої резистентності ефективність лікування пацієнтів різко знижується. У різних дослідженнях серед пацієнтів, інфікованих *C. auris*, загальні показники смертності коливаються від 0 до 72%. Виявлено, що у госпіталізованих пацієнтів *C. auris* часто колонізує пахвові западини, ніздрі, дихальні шляхи та сечовивідні шляхи[62].

У більшості здорових людей наявність грибків роду *Candida albicans* вважається за резидентну мікрофлору, яка населяє ротову порожнину, шлунково-кишковий тракт, покриви шкіри та зовнішні статеві органи тощо та не викликає хворобливих станів. Однак, у осіб, що мають серйозний

імунодефіцитний стан грибок проникає у кровотік та колонізує внутрішні органи викликаючи різні небезпечні системні інфекції. Із 150 відомих на сьогодні та описаних у літературі видів *Candida*, приблизно лиш 10% викликають інфекційні кандидози у людей. *Candida albicans* вважається причиною основної кількості локальних кандидозів, проте зараз трохи менше 50% грибкових уражень викликані іншими видами *Candida*, що не являються *albicans*. У наукових колах таке збільшення в першу чергу пов'язують із безконтрольним профілактичним та лікувальним використанням флуконазолу[61].

Збільшення численності населення, що мають ослаблений імунітет внаслідок безконтрольного застосування антибіотиків та антимікотиків потенціює зростання захворюваності на інвазивні інфекції збудниками яких часто виступають патогенні гриби. Незважаючи на те, що *Candida albicans* залишається основним інфікуючим видом роду *Candida*, у всьому світі спостерігається постійне зростання частоти інфекцій, спричинених іншими видами *Candida*, які не являються *albicans*. Це зростання викликає занепокоєння, оскільки, такі інфекції мають вищі показники смертності та захворюваності. Окрім цього, такі гриби мають високу стійкість до відомих лікарських препаратів, що ускладнює їх лікування за допомогою антибіотиків[85].

В останні роки спостерігається прогресуюче зростання частоти інвазивних грибкових інфекцій, одним із збудників яких часто виступає *Candida glabrata*. Патогенні дріжджі *Candida glabrata* за своєю суттю стійкі до азолів і швидко набувають резистентності до цих протигрибкових препаратів *in vitro* та *in vivo*. Цей вид патогенних грибів вважається комменсалом і умовно-патогенним грибом травної системи, який, як і *C. albicans*, може стати летальним у пацієнтів з ослабленим імунітетом. Даний грибок зазвичай зустрічається у пацієнтів із цукровим діабетом, пухлинами, недостатнім

харчуванням у новонароджених, а іноді й у пацієнтів із гематологічними новоутвореннями[63].

Різні види *Candida* мають фактори вірулентності, які сприяють їх патогенності, особливо у пацієнтів з ослабленим імунітетом. Вид *C. glabrata* виявляє внутрішню стійкість до протигрибкових препаратів або швидко стає резистентним до протигрибкових засобів. Важливим фактором вірулентності *C. glabrata* є його здатність міцно прилипати до багатьох різних субстратів. Щоб досягти цього, *C. glabrata* експресує велику кількість генів, що кодують адгезин. Це дозволяє *C. glabrata* прилипати до клітин господаря та до інвазивних медичних пристроїв. Крім того, він здатний утворювати біоплівки, які забезпечують протигрибкову стійкість. Тому *Candida glabrata* вважається досить агресивними для людини патогеном[64].

Candida glabrata це другий за частотою грибковий патоген, що є причиною виникнення кандидозу у пацієнтів після *Candida albicans*. На його частку припадає приблизно 15–25% інвазивних клінічних випадків кандидозу. Інвазивний кандидоз, збудником якого виступає *C. glabrata* викликає значну захворюваність і смертність у хворих приблизно на 40–60%. Ймовірно це пояснюється низькою чутливістю *C. glabrata* до найбільш часто використовуваних антимікотиків – азолів[65].

Candida albicans і *C. glabrata* демонструють значну різницю в механізмах вірулентності. Патогенність *Candida glabrata* пов'язана з багатьма факторами вірулентності. Одним із найважливіших факторів є те, що він не викликає сильної реакції імунної системи хазяїна. Підхід до лікування інфекцій *C. glabrata* є складним через зниження чутливості до протигрибкових препаратів. А це в свою чергу обмежує вибір ефективних протигрибкових препаратів, що також ускладнює лікування пацієнта[66].

Отже, довготривале та безконтрольне застосування антибіотиків та антимікотиків для профілактики чи лікування призвело до появи нових мультирезистентних штамів грибів та інших бактерій.

1.3. Антимікотичні препарати

У сучасній медицині перелік класів протигрибкових препаратів є досить обмежений, незважаючи на серйозний та згубний вплив грибків на здоров'я людей. В першу чергу, це пов'язано з еукаріотичною природою збудника та проблемами проникнення антимікотичних сполук через клітинну стінку та мембрани грибових клітин. Інша причина це досить обмежений інтерес фармацевтичних компаній до розробки нових класів протигрибкових препаратів. Приблизно з середини 2000 років у медичній сфері не з'являлося нових класів протигрибкових препаратів у промислових масштабах[8].

Один із найдавніших класів протигрибкових препаратів, що використовується для лікування системних грибових захворювань та введений у медичну практику у 1950-х роках – полієни. Це природні сполуки амфіфільної природи, які містять у своєму складі чотири та більше спряжених подвійних зв'язків, що робить їх подібними до макролідів. Даний клас препаратів володіють фунгіцидною дією – у великих концентраціях, та фунгістатичною – при низьких дозах препарату. Це антибіотик широкого спектру дії, який застосовується для лікування різних кандидозів, при ураженні шлунково-кишкового тракту, порожнини рота, шкіри тощо. До групи полієнових антибіотиків відносять: амфотерицин В, леворин, ністатин, натаміцин. Амфотерицин В найчастіше використовуваний препарат, що проявляє потужну антимікотичну активність проти *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*. Механізм дії полієнових антибіотиків на прикладі найпоширенішого амфотерицин В, полягає у порушенні синтезу клітинної стінки грибів через пригнічення синтезу стеролів. Даний антибіотик утворює екстрамембранні комплекси, які працюють по типу «стеролової губки» витягуючи ергостерин з клітинних мембран грибів порушуючи при цьому цілісність клітинних стінок, що призводить до «витікання» важливих компонентів цитоплазми та в результаті, загибелі грибової клітини. Незважаючи на широкий спектр протигрибової дії описаного антимікотика, вважається, що клінічне застосування амфотерицин В є небажане, через його

низьку біодоступність при пероральному прийомі та дозозалежну токсичну дію яку він викликає у пацієнта через подібність між ергостерином та холестерином[9].

У середині 1990-х для зниження побічних впливів, зокрема, нефротоксичності, були розроблені ліпідні форми амфотерицину В. Дані препарати слугували альтернативним варіантом при лікуванні важких випадків мікозів, наприклад, криптококовий менінгіт, збудником якого виступає *Cryptococcus neoformans* та інших грибкових хворобах. Вони дозволили значно зменшити різні негативні побічні наслідки при використанні звичайної форми амфотерицину В, до яких відносять: нефропатію, гіпокаліємію, гіпомагніємію, анемію тощо. На сьогодні доступно два варіанта даного препарату, а саме: амфотерицин В ліпідний комплекс та ліпосомний амфотерицин В, що у порівнянні зі звичайним препаратом створюють менший негативний вплив на ниркову функцію людини[10].

Інший клас протигрибкових препаратів представлений у 1980-х роках швидко став найпоширенішим класом лікарських препаратів у клінічній практиці. Азоли – ароматичні гетероцикли синтетичної природи, що проявляють виражену протигрибкову дію. Механізм дії побудований на блокуванні синтезу ергостерину, дана сполука є важливим компонентом клітинної стінки грибів, порушення синтезу якої призводить до дестабілізації мембрани, її проникності та зниженні роботи мембранозв'язаних ферментів. Дані сполуки, також, пригнічують синтез нуклеїнових кислот, білків та призводять до порушення процесів поділу клітини. Окрім деструктивного впливу на мембрани, препарати на основі азолу призводять до накопичення проміжних токсичних стеролів (14-а-метил-3,6-діол) та проявляють інгібуючу дію на цитохром Р450 ланостерол 14-а-диметилазу через зв'язування з групою гему в активному центрі ферменту. Даний фермент контролює важливий етап у процесі біосинтезу стеринів, зокрема, цей білок каталізує видалення С-14а-метильної групи від ланостеролу. Описаний процес є ключовим при

перетворенні ланостеролу на інші стерини, що активно використовуються в життєдіяльності клітини[11].

Більшість азольних препаратів, в першу чергу, характеризуються винятковою біодоступністю при пероральному прийомі препарату та при внутрішньовенній ін'єкції. Проте, дані антимікотики мають значний недолік пов'язаний з їх активною взаємодією з іншими лікарськими засобами, оскільки вони також інгібують цитохром Р450 ссавців, що відповідає за метаболізм лікарських препаратів. Щоб уникнути небажаної дії пов'язаної з поганим засвоєнням інших ліків при використанні імідазольних препаратів, на сьогодні ведуться дослідження по розробці нових препаратів, які будуть більш специфічні до грибкових ферментів[12].

Варто зауважити, що азольні протигрибкові препарати в результаті своєї дії на патогени лише пригнічують ріст грибків роду *Candida* та *Cryptococcus* не знищуючи цих патогенів цілком. Цим ефектом їхнього механізму дії створюється тиск спрямованого відбору тим самим підвищується розвиток резистентності до антимікотичних засобів. Відомо, що різні види роду *Candida* мають різну сприйнятливість до азольних препаратів. Наприклад, препарат флуконазол має сильну чутливість до *Candida albicans*, *Candida krusei* володіє внутрішньою стійкістю до даного препарату. Щодо *Candida albicans*, *Candida glabrata* та *Candida auris*, то дослідження останніх років показують, що дані гриби мають постійну зростаючу стійкість до флуконазолу[13].

За останні роки єдиним новим класом протигрибкових препаратів, що увійшов у лікувальну медицину та широко застосовується у лікуванні пацієнтів при різних патологічних станах викликаних грибами є ехінокандіни. Це похідні природних речовин, які містять у своєму складі циклічне гексапептидне ядро з N-зв'язаним жирно-ацильним бічним ланцюгом. Механізм їхньої протигрибкової дії пов'язаний, в першу чергу, із руйнування клітинної стінки. Дані речовини неконкурентно зв'язуються з каталітичною субодиницею фермента (1,3) β -D глюкансинтази та блокують останню, що

призводить до порушення цілісності клітинної стінки та дисбалансу осмотичного тиску, що в результаті супроводжується загибеллю клітини[14].

Дані протигрибкові препарати застосовують в першу чергу проти грибів роду *Candida* як першу лінію при лікуванні інвазивного кандидозу. Проте, слід зауважити, що дані препарати є неефективними при лікуванні хворобливих станів збудником яких виступає *Cryptococcus*. Основними переважаючими факторами на користь використання ехінокандинів є їх висока безпечність для організму людини, висока селективність серед різних грибів та низька взаємодія між лікарськими препаратами. Проте, даний вид протигрибкових препаратів так як і полієнові антимікотики погано всмоктується шлунково-кишковим трактом при їх пероральному застосуванні і тому їх застосування обмежене лиш внутрішньом'язевим введенням препарату[15].

Флуцитозин також є важливим протигрибковим засобом, який пригнічує синтез ДНК і РНК і в основному використовується для лікування криптококозу та кандидозу. Через низьку ефективність монотерапії, через поширеність внутрішньо-резистентних штамів та частий розвиток резистентності під час лікування, флуцитозин завжди використовується в комбінації з іншим протигрибковим засобом зазвичай прийнято використовувати амфотерицин В. Дані комбіновані методи лікування показали багатообіцяючі клінічні ефекти. Наприклад, повідомлялося, що 49 ВІЛ-інфікованих пацієнтів із криптококозом, які отримували комбінацію флуцитозину та амфотерицину В, мали вищу виживаність, ніж пацієнти, які отримували лише амфотерицин В. Кілька подібних випробувань щодо кандидозу показали, що цей комбінований режим також має синергетичну дію проти різних видів *Candida*. В даний час флуцитозин у поєднанні з амфотерицином В є стандартною індукційною терапією для криптококових та кандидозних менінгітів, оскільки він має вищий рівень ефективності лікування та нижчий рівень смертності, порівняно з іншими альтернативними підходами[36].

Стійкість до антибіотика азолу серед різних видів *Candida*, таких як види *C. auris* і *Aspergillus*, а також стійкість до ехінокандину у *C. glabrata* є дуже важливою проблемою над якою працюють вже багато років. Крім того, інші види цвілі, такі як *Scedosporium* і *Fusarium*, мають знижену чутливість до клінічно доступних протигрибкових препаратів. Незважаючи на те, що амфотерицин В має чудову протигрибкову дію, все ще існують гриби, такі як *C. lusitaniae* та *A. terreus*, які виявляють внутрішню стійкість до амфотерицину В. Отже, для вирішення цієї проблеми необхідна розробка нових протигрибкових засобів[37].

На сьогодні ефективне лікування різних уражень грибової природи вимагає розробки та впровадження нових лікарських препаратів. Дані препарати мають володіти низкою переваг порівняно з уже відомими антимікотиками. Це дуже важливий напрям медичної роботи оскільки, як вже зазначалося вище, за останні роки багато грибів еволюціонували та здобули певну резистентність до сучасних лікарських препаратів, а інших дієвих антимікотичних препаратів розроблено досить не багато. Нові шляхи стійкості грибів до антибіотиків дуже різноманітні та складні, що створює труднощі у ефективному лікуванні пацієнтів. Окрім того виникнення нових стійких штамів *Candida auris* та *Candida glabrata* теж обмежує використання стандартних лікарських препаратів. У медичній практиці прийнято використовувати три класи препаратів до яких штами відомих грибів розробили різноманітні шляхи стійкості та зуміли вдало адаптуватися до цих препаратів. Це в свою чергу суттєво знижує ефективність лікування різних грибових хвороб та вимагає розробки нових антибіотиків та антимікотиків[93].

1.4. Механізми протигрибкової резистентності полієнів, азолів та ехінокандинів

Стійкість бактерій до різних груп антибіотиків та антимікотиків є глобальною проблемою для людства, оскільки це призводить до зменшення ефективності числа вже відомих препаратів та пошуку нових обхідних шляхів. Винайдення нових лікарських засобів на заміну уже неефективних, є досить нелегкою задачею для науковців. Відомо, що багато видів бактерій у процесі еволюції навчилися протистояти антибіотикам ще задовго до тих часів коли люди дізналися про існування та значення антибіотичних речовин. Численні природні бар'єри частково обмежують легке проходження бактерій та їх генів але патогени все ж отримують нові фактори резистентності від інших видів, тим самим зменшуючи ефективність лікування[16].

Дослідження механізмів стійкості протигрибкових препаратів виявило багато різноманітних шляхів, які виникли в процесі еволюції для адаптації грибів у зовнішньому середовищі. Зокрема, були виявлені основні адаптивні механізми резистентності та толерантності до основних груп протигрибкових препаратів (азоли, полієни та ехінакандіни): зміна мішені лікарського засобу, надмірна експерсія певних генів, регуляція внутрішніх транспортерів або активація стресових реакцій у клітині тощо[17].

Гриб *Candida albicans* володіє багатьма шляхами резистентності до великої групи азольних препаратів. Наприклад, амінокислотну заміну в мішені дії препарату – фермент ERG11. Така заміна призводить до зниження афінності зв'язування препарату з ферментом ланостерол-С-14-диметилаза. Даний фермент перетворює ланостерол у стерол, що наявний у мембранах грибів. При проведенні молекулярного картування цих мутаційних змін було показано, що мутації відбуваються в каталітичній ділянці фермента та у специфічній для даного гриба амінокислотній петлі[18].

Подібна картина спостерігалася при проведенні секвенування геному *Candida auris* у 47 клінічних ізолятів, які є резистентними до флуконазолу. У

результаті проведення експерименту було виявлено три аналогічні зміни в гені ERG11, які у штамів *Candida albicans* відповідають за стійкість до азольних препаратів[19].

У випадку дослідження *Candida glabrata* механізм зміни мішені для препаратів азолу не є основним у резистентності. На сьогодні офіційно задокументовано лише один ізолят в якого спостерігалася резистентність до флуконазолу, тобто було виявлено лише одна амінокислотна заміна в генах ERG11[20].

Стійкість до полієнових антимікотиків є досить рідкісною та реалізується за допомогою зниження афінності зв'язування ферментів з лікарським препаратом або за допомогою механізмів виснаження ергостерину з мембран грибів. Було досліджено, що зниження чутливості *Candida albicans* до широковідомого препарату амфотерицину В у першу чергу пов'язана з мутаціями у ферментах, які відповідають за біосинтез ергостерину. Дані мутації ERG2, ERG3, ERG5, ERG11 були наявні в інших штамів таких як *Candida glabrata* та *Candida auris*, що були стійкими до полієнових антимікотиків[21].

Стійкість до ехінокандинів у більшості видів *Candida* зумовлена мутаціями в генах FKS. Дані мутації знижують концентрацію напівмаксимального інгібування (IC_{50}) глюкансинтази, підвищуючи при цьому мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) тим самим призводячи до перехресної резистентності до інших ехінокандинів. У *Candida albicans* такі мутаційні зміни відбуваються в гені FKS1, тоді як для *Candida glabrata* характерними є мутації в FKS1 FKS2, які є гомологічними до FKS1 у *Candida albicans*. Досліджено, що у *Candida glabrata* частота мутацій у гені FKS2 більша у два рази порівняно з геном FKS1. Дана мутація представляє собою заміну залишку серину 663 у гені FKS, що призводить до підвищення стійкості грибів до ехінокандинів Для штамів *Candida auris* було проведено

секвенування гену FKS та показано, що присутня мутація в 639 положенні, яка також призводить до резистентності антимікотиків типу ехінокандіни[22].

Інший варіант резистентності грибів заснований на надекспресії ефлюксних насосів. Ефективність дії різних антибактеріальних засобів визначається їхнім чітким транспортом до конкретного місця у клітині та накопичення у певній концентрації. Дані критерії визначають успішність застосування антимікотичного засобу. У клітині працюють ефлюксні насоси, що розташовані у плазматичній мембрані та контролюють транспорт і розподіл речовин в середині клітині, цим самим забезпечуючи резистентність грибкової клітини. Під час роботи ефлюксних насосів антимікотичні сполуки швидше експортуються з клітини ніж відбувається їх розподіл всередині клітинних структур та при цьому унеможлиблюється досягнення певної концентрації всередині клітини. Саме за рахунок такого механізму і досягається резистентність грибків. Підвищена регуляція даних насосів, є основним механізмом, що регулює стійкість до азолів у більшості грибкових клітинах. Виявлено, що першим та основним класом цих насосів є надродина АТФ-зв'язуючої касети (ABC). Дана надродина складається з двох трансмембранних доменів та двох цитоплазматичних нуклеотидзв'язувальних доменів (NBD). Транспорт субстратів через грибкову мембрану керується NBD з використання енергії гідролізу АТФ. Іншим класом, що пов'язаний з резистентністю до азолів є родина MF, яка також має трансмембранні домени але в якості енергії використовує градієнт протонів, які генеруються через плазматичну мембрану[23].

Регуляція ефлюксних насосів при застосуванні полієнів та ехінокандінів відіграє досить незначну роль у створенні резистентності до цих антимікотиків порівняно із застосуванням азольних препаратів. Це, в першу чергу, пов'язано з розміром молекул цих антимікотиків, оскільки вони є досить великими гексапептидними циклічними молекули, які через свої розміри та гідрофобність є поганим субстратом для ефлюксних насосів клітин грибів[24].

Середовище існування грибкових патогенів постійно піддається різноманітним стресовим чинникам. Коливання навколишнього середовища, а саме: зміна температури, тиску, рН та вплив різних речовин тощо порушують гомеостаз та створюють стресову ситуацію для грибів. Але завдяки різноманітним стресовим чинникам клітини грибів зуміли розвинути та сформувати досить велику схему реагування на різні види стресу, що дозволяє їм розвиватися та виживати при різноманітних клітинних ураженнях. Зокрема, до лікарських препаратів, які мають найбільший стресовий вплив на грибки[25].

Один із механізмів стійкості до азолів у *Candida albicans* є зміна шляху за яким утворюється ергостерол. Даний механізм є ключовим у відповіді клітини на стресовий вплив. Мутаційні зміни у гені ERG3, що кодує Δ 5,6-десатуразу, призводять до втрати функціональної активності гена та блокують токсичне накопичення в клітині 14- α -метил-3,6-діолу. Це токсичний стеринний проміжний продукт, що виробляється при застосуванні азолів. Досліджено, що стійкість до азолів у *Candida albicans* пов'язана з п'ятьма різними місенс-мутаціями[26].

Молекулярний шаперон, один із основних клітинних регуляторів, який контролює відповідь грибкової клітини на стрес це – білок теплового шоку (Hsp 90). Він дуже поширений і взаємодіє більш як з 20 кошаперонами. Вони забезпечують розпізнавання специфічних білків, що збагачені кіназами, сигнальними перетворювачами або факторами транскрипції. Досліджено, що генетичне або фармакологічне інгібування Hsp 90 призводить до зниження толерантності до азолів та зниження резистентності у *Candida albicans*[27].

Важливу роль у толерантності до протигрибкових препаратів відіграє рН навколишнього середовища. Оскільки, при кислому рН зменшується ріст у *Candida albicans* при концентрації азолів вищих за МІК (мінімально інгібуюча концентрація). Досліджено, що передача сигналів рН здійснюється висококонсервативним шляхом Rim. Величина рН зовнішнього середовища

визначається трансмембранними білками Rim 21 та DgJ 16, які посиляють сигнал через білковий каскад та кінцевий фактор транскрипції Rim 101[28].

Окрім різних механізмів стійкості до протигрибкових препаратів, гриби володіють внутрішньою або первинною резистентністю до клінічно відомих антимікотиків. Одним із класичних прикладів є стійкість грибів роду *Cryptococcus* до мікотичних препаратів – ехінокандинів. На сьогодні виявлення механізмів внутрішньоклітинної стійкості є надзвичайно важливим напрямом роботи для покращення боротьби з патогенами[29].

Досліджено, що *Candida glabrata*, *C. krusei* та *C. auris* володіють внутрішньою резистентністю до флуконазолу. *Candida glabrata* розвиває міцні та стабільні фенотипові зміни після чотирьох днів впливу флуконазолу *in vitro*. Під час дослідження було зафіксовано підвищення виходу ліків через збільшення експерсії транспортерів ABC, Cdr1, Pdh1, Yor1 та Snq2[30].

Механізм стійкості *C. krusei* до препаратів азольної природи на сьогодні вивчений недостатньо добре. Були висунуті припущення щодо роботи ефлюксного насосу та зміну сприйнятливості до Erg 11[31].

Candida auris володіє дуже сильною внутрішньою резистентністю до азолів. Виявлено, що 90% ідентифікованих ізолятів *C. auris* володіють МІК вище за клінічні, що призвело до думки щодо міцної внутрішньоклітинної резистентності до азолів[32].

Окрім штамів *Candida*, які проявляють внутрішньою стійкістю до азолів, деякі види та штами виявляють внутрішню стійкість і до ехінокандинів. *Candida parapsilosis* є прикладом внутрішньої зниженої резистентності до ехінокандинів. При лікуванні пацієнтів каспофунгіном, спостерігається проривна інфекція, збудником якої виступає *Candida parapsilosis*. Це ще раз підтверджує важливе клінічне значення цього варіанту резистентності[33].

Candida parapsilosis разом із *Candida orthopsilosis* і *Candida metapsilosis*, що є так званими сестринськими видами мають природну амінокислотну заміну в положенні 660. Дана заміна проліну на аланін призводить до

підвищеної природної стійкості до ехінокандинів. Завдяки такій заміні відбувається зниження спорідненості глюкансинтази цих грибів до каспорфугіну. Мутаційні зміни у *Candida albicans* і *Candida glabrata* призводять до аналогічного підвищення резистентності до ехінокандинів[34].

Отже, грибові патогени мають у своєму арсеналі безліч складних та дієвих механізмів резистентності до багатьох речовин, в тому числі і до лікарських препаратів. Такі еволюційні зміни призвели до мобільності та виживаності грибів, що свідчить про їх високий рівень адаптивних механізмів. На сьогодні перед науковцями стоїть складне завдання шукати та досліджувати різноманітні механізми резистентності, та створювати шляхи їх подолання. Це забезпечить у майбутньому медицини успішну боротьбу із грибковими патогенами

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Підготовка та забір матеріалу

Предметом дослідження були штами *Candida albicans*, які були виділені від пацієнтів, мешканців м. Чернівці та Чернівецької області, з підозрою на запальні процеси різної локалізації (слизові оболонки ротової порожнини та піднебінних мигдаликів, вагіна), а також з фекалій протягом 2019-2023 років (за 2023 рік проаналізовані дані, які отримані лише протягом перших 8 місяців).

Підготовка пацієнта перед здачею цього виду аналізу передбачала двотижневе утримання від вживання антибіотиків та антимікотиків. Це є важливою умовою для отримання реальної бактеріологічної картини пацієнта, а саме для виділення резидентної та етіологічно значимої мікрофлори (якщо така буде присутня). При вживанні пацієнтом антибіотиків та антимікотиків у більшості випадків ріст на чашці є відсутній.

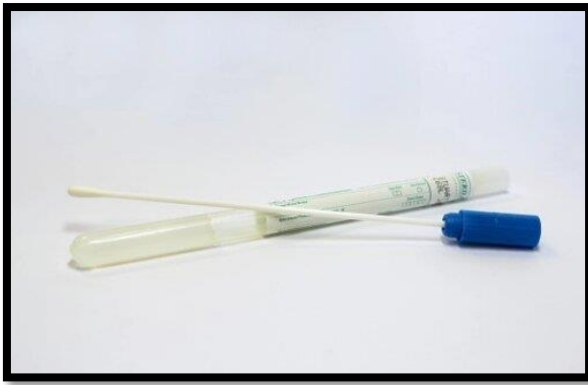
Бактеріологічні аналізи виконані у приватній діагностичній клініці ТОВ «Клініка Санте».

Для виділення дріжджеподібних грибів роду *Candida* матеріал із слизових оболонок порожнини рота (піднебінних мигдаликів) та вагіни забирали спеціальним ватним тампоном(мал.1).

Дослідні зразки фекалій пацієнт приносив самостійно у стерильній ємності, яка призначена для збору калу(мал.2).

Забір матеріалу проводиться кваліфікованим персоналом лабораторії.

При виявленні етіологічно значимої грибової мікрофлори проводиться виділення збудника, його ідентифікація та проводиться етап визначення чутливості до антимікотичних препаратів.



Малюнок 1. Стерильний аплікатор з середовищем для транспортування та зберігання дослідних зразків.



Малюнок 2. Стерильний контейнер для забору та транспортування калу.

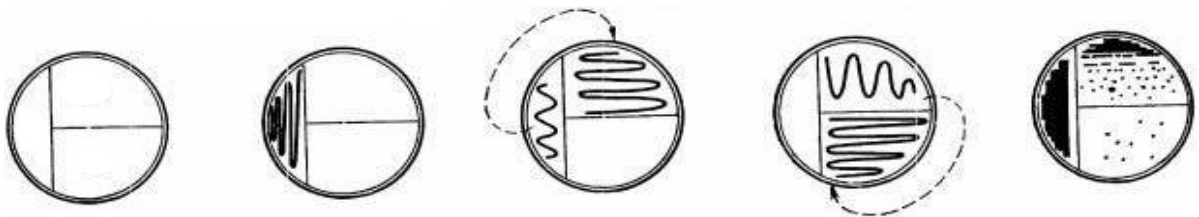
2.2. Висів та інкубування

Після проведення процесу забору дослідного матеріалу, відбувається висів зібраного матеріалу на агар Сабуро з хлорамфеніколом для селективного культивування дріжджових і цвілевих грибів.

Склад середовища Сабуро з хлорамфеніколом (г/л): Гідролізат казеїну 5.0, пептичний перевар тваринної тканини 5.0, глюкоза 40.0, хлорамфенікол 0.5, агар 15.0.

Посів із слизових оболонок порожнини рота та піхви висівається на тверде агаризоване середовище та проводиться таким чином, щоб отримати ріст ізольованих колоній.

Одна половина чашки Петрі щільно засівається отриманим матеріалом, а потім за допомогою одноразової мікробіологічної петлі проводиться процес «розтягування» на іншу частину чашки, таким чином отримуються ізольовані колонії, які підлягають подальшій ідентифікації.



Малюнок 3. Схема висіву дослідного матеріалу методом «виснаження», для отримання зони росту ізольованих колоній.

Для дослідження зразка фекалій, в першу чергу, відбирається невелика наважка (приблизно 1 грам) та готується розведення 1:10 шляхом додавання до відібраної наважки дев'ятикратного об'єму стерильного 0,9% розчину натрію хлористого. Дані маніпуляції проводяться в стерильних одноразових баночках для збору калу.

Досліджена наважка разом із розчином NaCl піддається процесу суспензування на вортекс-центрифузі. Із отриманої суспензії частина (у кількості 0,02мл) за допомогою автоматичної піпетки наноситься на поверхню чашки Петрі з середовищем і рівномірно розподіляється по поверхні L-подібним стерильним шпателем.

На зовнішній частині чашки Петрі наноситься ідентифікаційний номер пацієнта, ставиться дата початку інкубування та вказується назва середовища.

Інкубація чашок Петрі з дослідними посівами проводиться при температурі +37°C у термостаті, тривалість інкубації становить 42-48 годин.

2.3. Ідентифікація мікроорганізмів

Після декількох днів інкубування у термостаті дослідні чашки Петрі виймаються та проводиться етап ідентифікації посівного матеріалу.

В першу чергу визначаються морфологічні та тинкторіальні властивості клітин, що утворили ріст на поверхні дослідної чашки. Штами, які давали ріст у вигляді колоній білого кольору, гладких, матових або блискучих, відносили до підозрілих на *C. albicans*(мал.3).

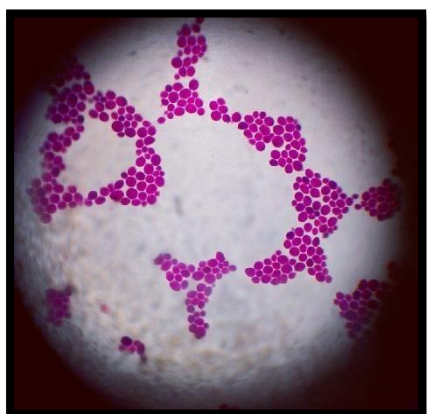


Малюнок 3.
Колонії грибів,
що вирости на
дослідній чашці
Петрі.

Для додаткового підтвердження, що це дійсно грам-позитивні овальні дріжджові клітини проводиться фарбування цих клітин за Грамом(мал.4) та визначається їх здатність до утворення псевдоміцелію та хламідоспор в 1% цукровому бульйоні(мал.5)

Окрім цього проводиться посів підозрілих колоній на хромогенне середовище для виділення, ідентифікації та диференціювання *Candida ssp.* (виробництва Санімед Інтернешнл Імпекс С.Р.Л., Україна)(мал.6).

Склад середовища для виділення, ідентифікації та диференціювання *Candida ssp.* (г/л): Агар 15,0, пептон 11,0, хромогенна суміш 24,9.



Малюнок 3. Колонії грибів у полі зору мікроскопа.



Малюнок 5. Утворення псевдоміцелію та хламідоспор у 1% ЦБ.



Малюнок 6. Колонії грибів, що вирости на середовищі виділення та диференціювання *Candida spp.*

2.4. Антиміотикочутливість

Після етапу ідентифікації та підтвердження приналежності клітин до роду *Candida albicans* чи іншого роду настає процес визначення чутливості до різних антимікотиків. У всіх виділених штамів була визначена чутливість до антимікотичних засобів, таких як: ністатин, амфотерицин В, флуконазол, воріконазол, ітраконазол, клотримазол, еконазол, міконазол, кетоконазол. Даний процес передбачає застосування дискодифузійного методу.

Постановка та облік антибіотикограм проводилась згідно рекомендацій CLSI за 2017 рік з використанням дисків з антибіотиками виробництва фірми Oxoid (Великобританія), (ністатин, флуконазол, воріконазол) та Biolab Zrt (Угорщина), (амфотерицин В, ітраконазол, клотримазол, еконазол, міконазол, кетоконазол).

Етапи постановки антимікотикограм дискодифузійним методом:

1. За допомогою стерильної мікробіологічної петлі готується суспензія біомаси дослідного штаму густиною 0,5 од. за МакФарландом(мал.7). На цьому етапі використовується прилад – денситометр, який вимірює мутність клітинних суспензій у межах діапазону від 0,3 до 5,0 одиниць МакФарланда.
2. Для постановки антимікотикограм використовується живильне середовище Мюллера-Хінтона (з додаванням 2% глюкози з метиленовим синім). На поверхню чашок Петрі з поживним середовищем наноситься по 3 краплі суспензії та стерильним одноразовим ватним тампоном суспензія рівномірно розподіляється по поверхні середовища(мал.8).
3. На одній чашці Петрі діаметром 90 мм дозволяється розміщувати до 6 дисків з антимікотиками. Тому для антимікотикограми завжди використовується дві дослідні чашки.
4. Диски антибіотиків викладаються у певному порядку в дисковий диспенсер(мал.9).
5. Облік зон затримки росту проводять за допомогою бактеріологічної лінійки(мал.10).



Малюнок 7. Денситометр з суспензією гриба для проведення



Малюнок 8. Чашка Петрі з середовищем для постановки антимікотикограм. антибіотикочутливості.



Малюнок 9. Схема роботи дискового диспенсера для викладання картриджів з антибіотиками



Малюнок 10. Чашка Петрі після інкубації в термостаті. Чітко видно зони затримки росту біля різних антибіотиків.

РОЗДІЛ ІІІ. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Частота виділення штамів *Candida albicans*

Проаналізувавши отримані результати було встановлено, що найчастіше штами *Candida albicans* виділялися з фекалій. На другому місці був матеріал із слизових оболонок рота і на третьому виділення з піхви.

Порівняння отриманих відносних величин проводили з використанням ф-перетворення Фішера (метод кутової трансформації)[1].

Для всіх трьох локалізацій характерною є чітка тенденція до зростання частоти виділення *Candida albicans* у період з 2019 до 2022 років з послідовним зниженням цього показника у 2023 році(рис.1).

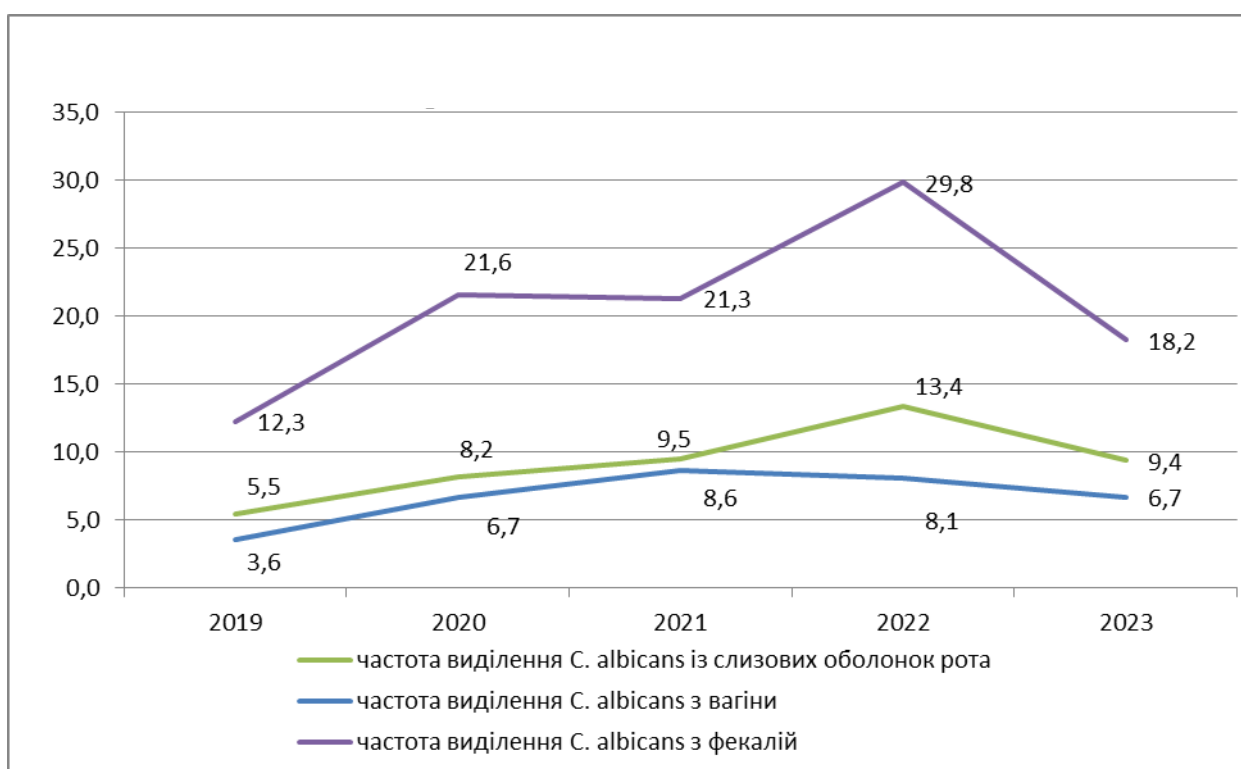


Рис.1. Частота виділення штамів *Candida albicans* з різних мікроекологічних ніш тіла людини.

Мікробіом людини – це унікальна спільнота мікроорганізмів, таких як бактерії, гриби, віруси та інші мікроби, які населяють конкретні місця у тілі людини(слизові оболонки, шлунково-кишковий тракт, шкіра тощо)та утворюють там певну екосистему. Вона забезпечує захист, синтез ферментів,

білків та вітамінів, окрім цього мікробіом людини забезпечує нормальне травлення та роботу імунної системи.

Мікробіом ротової порожнини - це унікальна спільнота мікроорганізмів, таких як бактерії, віруси, гриби та інші мікроби, яка населяє ротову порожнину людини. Ротовий мікробіом включає велику різноманітність бактерій. Більше сотні різних видів бактерій, і більшість з них є аеробними, тобто вони виживають у кисневому середовищі рота.

Для штамів, які виділені із слизових оболонок рота різниця між показниками 2019 і 2020 років статистично достовірна ($t_f = 1,67$; $p < 0,05$), (табл. 1).

Рік	2019	2020	2021	2022	2023
Загальна кількість аналізів	509	450	472	322	181
Кількість випадків виділених штамів <i>C. albicans</i>	28	37	45	43	17
Частота виділення штамів <i>C. albicans</i>	5,5±1,01	8,2±1,29	9,5±1,35	13,4±1,90	9,4±2,17

Таблиця 1. Частота виділення штамів *C. albicans* із слизових оболонок порожнини рота та піднебінних мигдаликів.

Ротова порожнина має природній захист від бактерій. Слина ротової порожнини містить антимікробні компоненти, такі як лізоцим, який розщеплює клітинні стінки бактерій, та імуноглобуліни (антитіла), які можуть взаємодіяти з інфекційними агентами. Окрім цього ротова порожнина має систему імунітету, що включає в себе фагоцити та інші клітини, які можуть фагоцитувати та знищувати патогени. Мікробіом ротової порожнини грає роль у підтримці гігієни порожнини рота, утриманні стійкого рН середовища, боротьбі зі шкідливими бактеріями, а також у підтримці загального здоров'я організму.

Статистично достовірним є зростання частоти виділень кандід з виділень з піхви та з фекалій у 2020 році (табл. 2 і 3). Показник t_f для вагінальних зразків 2,66 ($p<0,01$), а для фекалій 2,76 ($p<0,01$).

Рік	2019	2020	2021	2022	2023
Загальна кількість аналізів	1024	536	555	308	223
Кількість випадків виділених штамів <i>C. albicans</i>	37	36	48	25	15
Частота виділення штамів <i>C. albicans</i>	3,6±0,58	6,7±1,08	8,6±1,19	8,1±1,56	6,7±1,68

Таблиця 2. Частота виділення штамів *C. albicans* з виділень з піхви.

Слизова оболонка піхви, також, має унікальну бактеріальну флору – природній захист від бактерій. У піхві домінують доброякісні бактерії роду *Lactobacillus*, які виробляють молочну кислоту, що забезпечує кислотне середовище у піхві. Це кислотне середовище вбиває або стримує ріст багатьох бактерій та грибків. Воно є важливим для утримання нормального рН та зниження ризику розвитку інфекцій. *Lactobacillus* конкурують з патогенними мікроорганізмами, такими як грибки чи бактерії, і сприяють збереженню нормальної флори піхви. Тому розвиток різних кандидозів у жінок в першу чергу пов'язують із зниженням природнього слизового захисту піхви[91].

Зважаючи на високу частоту виділення штамів *Candida albicans* у зразках фекалій та порівняно меншу кількість виділених штамів у ротовій порожнині та піхві(відповідно), можна припустити, що найкращі захисні властивості має мікробіом піхви.

Частота виділення *C. albicans* з фекалій зростає у 2022 році до максимуму (29,8 %). Різниця між показниками 2021 та 2022 років статистично достовірна ($t_f = 2,45$; $p<0,01$), (табл. 3).

У 2023 році спостерігається зниження цього показника до 18,2%, яке теж є статистично достовірним ($t_f = 2,54$; $p < 0,01$), (табл. 3).

Рік	2019	2020	2021	2022	2023
Загальна кількість аналізів	261	227	464	238	137
Кількість випадків виділених штамів <i>C. albicans</i>	32	49	99	71	25
Частота виділення штамів <i>C. albicans</i>	12,3±2,03	21,6±2,73	21,3±1,90	29,8±2,97	18,2±3,33

Таблиця 3. Частота виділення штамів *C. albicans* з фекалій.

Товста кишка має свою власну систему бактеріального захисту, відому як мікробіом товстої кишки. Розлади в мікробіомі товстої кишки можуть призвести до різних проблем зі здоров'ям, таких як діарея, запор, запальні захворювання кишечника та інші.

Початок зростання частоти виділень *C. albicans* співпадає з початком пандемії COVID-19, а спад у 2023 році з її завершенням. Пояснити це можна тим, що у період пандемії широко застосовувались антибіотики у великих дозах і тривалими курсами для лікування хворих на COVID-19. Як загально відомо, однією з побічних дій антибіотиків є пригнічення бактеріальної флори організму пацієнта, яка є у конкурентних відносинах з мікрофлорою.

Крім того вірусна інфекція спричиняє стан набутого імунodefіциту. Обидва ці фактори могли сприяти надмірному розмноженню *C. albicans* у пацієнтів. Що призводило до зростання частоти їх виділення у зразках.

3.2. Динаміка чутливості виділених штамів *Candida albicans* до антимікотичних засобів полієнової природи

Динаміка чутливості виділених штамів *Candida albicans* до антимікотичних засобів групи полієнів(ністатин та амфотерицин В) була різною.

Чутливість до ністатину залишалась високою протягом усього періоду спостережень і не залежала від локалізації виділеного збудника (рис. 2, 3 і 4).

Високий відсоток(від 96.4% до 100%), штамів *Candida albicans*, які були виділені із слизової оболонки ротової порожнини та піднебінних мигдаликів мали чутливість до ністатину протягом 2019 – 2023 років. В той час чутливість до амфотерицину В проявляли від 50% до максимум 64.7% з усіх виділених штамів *Candida albicans*(рис.2).

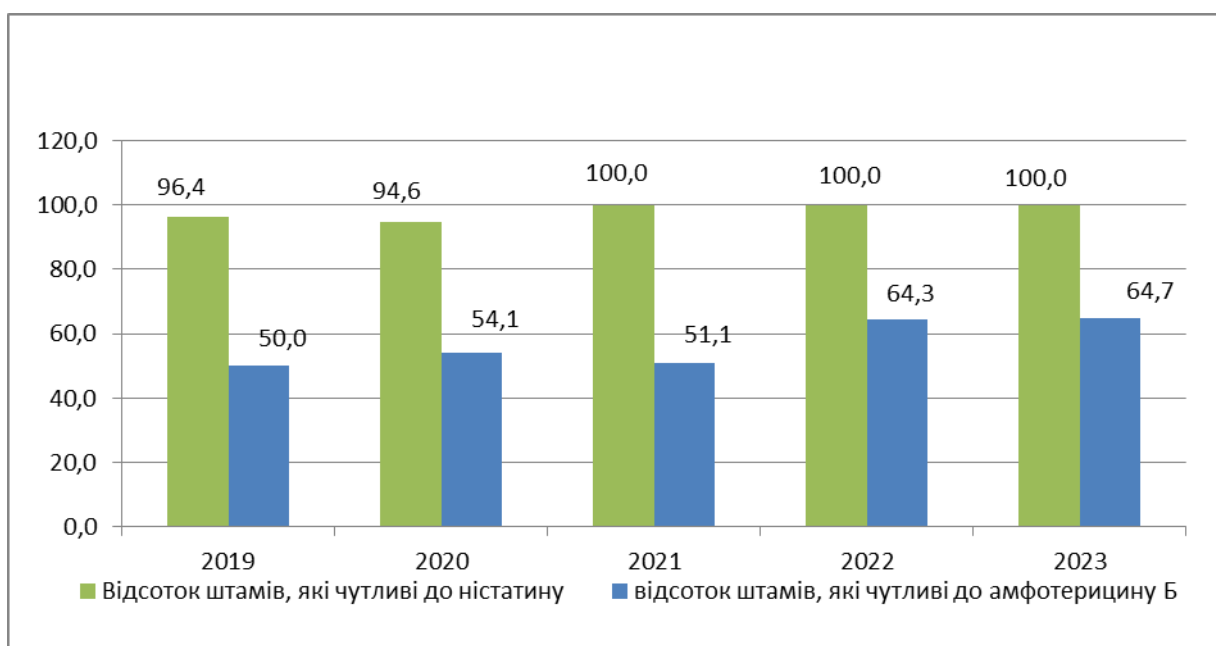


Рис.2. Чутливість до полієнових антибіотиків штамів *Candida albicans*, які виділені із слизових оболонок ротової порожнини та піднебінних мигдаликів.

Ністатин та амфотерицин В – це два антигрибкові препарати, які використовуються для лікування різних інфекцій. Механізм дії цих препаратів досить схожий. Ністатин є антибіотиком полієнового ряду, який специфічно взаємодіє з грибовими клітинними мембранами, особливо з мембраною клітин грибів роду *Candida*. Він також ефективний проти *Cryptococcus*,

Aspergillus, *Histoplasma* та *Blastomyces*. Основні етапи його механізму дії це, в першу чергу, зв'язування з ергостеролом, як основним структурним компонентом грибової мембрани. Наступним важливим етапом є утворення пор у мембрані. Утворення пор призводить до порушення цитоплазматичного тиску в клітині гриба, що призводить до порушення іонного балансу, втрати компонентів клітини та, в кінцевому підсумку, гибелі грибка. Амфотерицин В також є антибіотиком полієнового ряду, і його механізм дії схожий на той, що в ністатину. Тобто, він також діє на клітинну стінку грибів, зв'язуючись з ергостеролом[90].

Штами *Candida albicans*, які виділені з піхви були завжди чутливими до ністатину. В той самий час чутливість до амфотерицину В коливалася протягом 2019 – 2023 років(рис. 3).

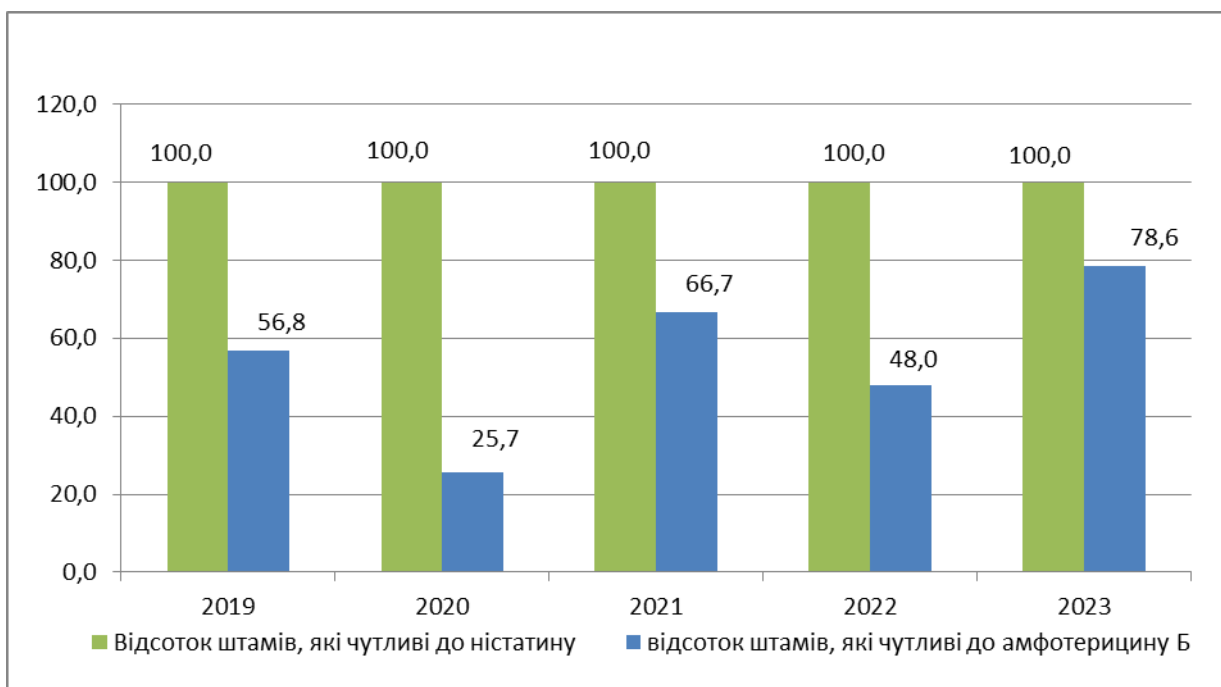


Рис.3. Чутливість до полієнових антибіотиків штамів *Candida albicans*, які виділені з піхви.

Важливо враховувати, що деякі гриби можуть розвивати резистентність до антигрибкових препаратів, через механізми мутацій або інших адаптацій. Ністатин є антибіотиком природнього походження одним із переваг якого є повільний розвиток резистентності до нього.

Таким чином можна пояснити відмінності у чутливості ністатину та амфотерицину В протягом 2019 та 2023 років, що як показано не залежала від локалізації збудника.

Штами *Candida albicans*, які виділені з фекалій, також, мали різну чутливість до ністатину та амфотерицину В(рис. 4).

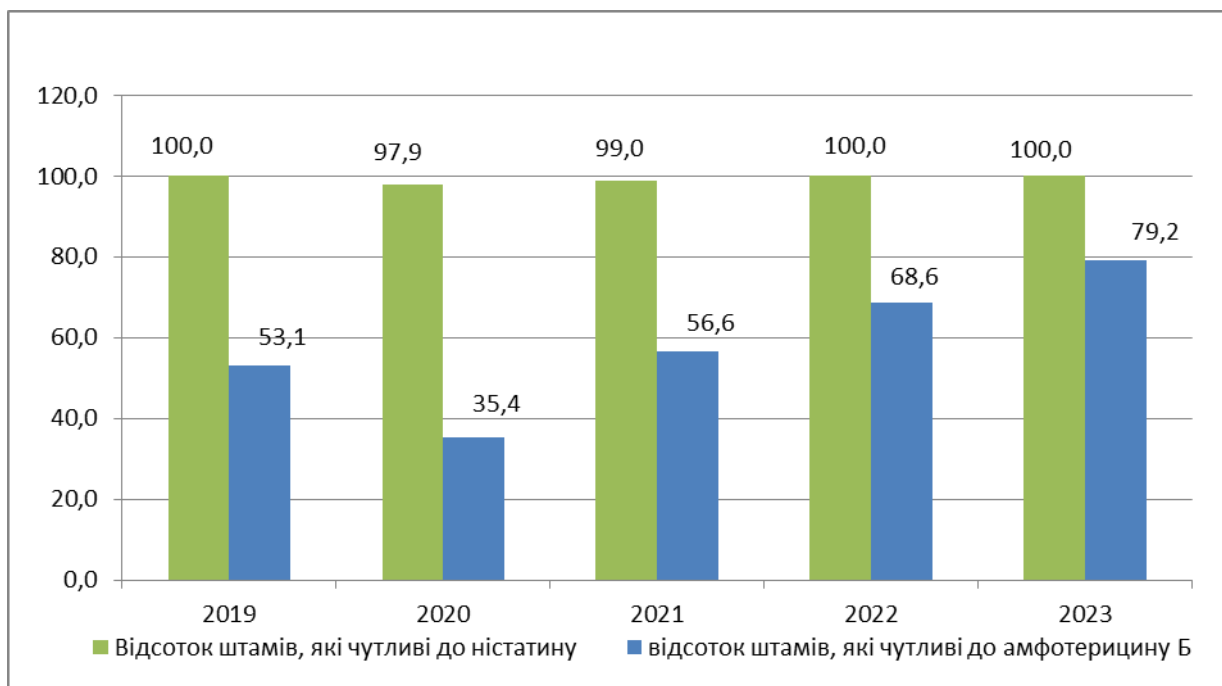


Рис.4. Чутливість до полієнових антибіотиків штамів *Candida albicans*, які виділені з фекалій.

Чутливість до антибіотику ністатин у цих штамів завжди залишалася високою(майже 100% штамів мали чутливість), а до амфотерицину В чутливість була різною протягом дослідних років і як уже зазначалося не залежала від локалізації збудника.

Стосовно амфотерицину В, картина була інша. Серед штамів *Candida albicans*, які виділені у 2019 році чутливих до цього антибіотику було від 50% до 56,5%, в залежності від локалізації (табл. 4).

Рік	Показник	слизова рота	підхва	фекалії
2019	n	28	37	32
	%	50,0±9,45	56,8±8,14	53,1±8,82
2020	n	37	35	48
	%	54,1±8,19	25,7±7,39	35,3±6,90
2021	n	45	48	99
	%	51,1±7,54	66,7±6,87	56,6±5,01
2022	n	42,00	25,00	70,00
	%	64,3±7,48	48,0±10,2	68,6±5,59
2023	n	17	14	24
	%	64,7±11,9	78,6±11,37	79,2±8,46

Таблиця 4. Динаміка чутливості штамів *C. albicans* до амфотерицину В.

Серед штамів, які були виділені з слизових оболонок рота та піднебінних мигдаликів за період спостереження відсоток чутливих поступово зростає з 50% у 2019 році до 64,7% у 2023 році. Проте ці зміни статистично не вірогідні (табл. 4).

Серед штамів, які виділені з піхви та з фекалій доля чутливих до амфотерицину В різко знижується у 2020 році (табл. 4, рис. 3,4).

Для вагінальних штамів зміни статистично вірогідні: $t_F = 2,73$ ($p < 0,01$).

В послідуючі роки доля чутливих штамів з обох локалізацій поступово наростає і у 2023 році навіть перевищує показники 2019 року (табл. 4, рис. 3,4).

Зниження відсотків чутливих штамів *C. albicans*, які були виділені з піхви та з фекалій у 2020 році співпадає з початком пандемії COVID-19. І як уже зазначалося вище основною причиною такої ситуації є отримання набутої резистентності грибів до певних лікарських препаратів, що застосовувалися для лікування хворих на COVID-19.

3.3. Динаміка чутливості виділених штамів *Candida albicans* до антимікотичних засобів групи триазолів класу азолів

Чутливість штамів *C. albicans* до препаратів широкого спектру дії (флуконазолу, воріконазолу) була практично не змінною протягом усього періоду спостережень і не залежала від локалізації збудника(рис.5,6,7).

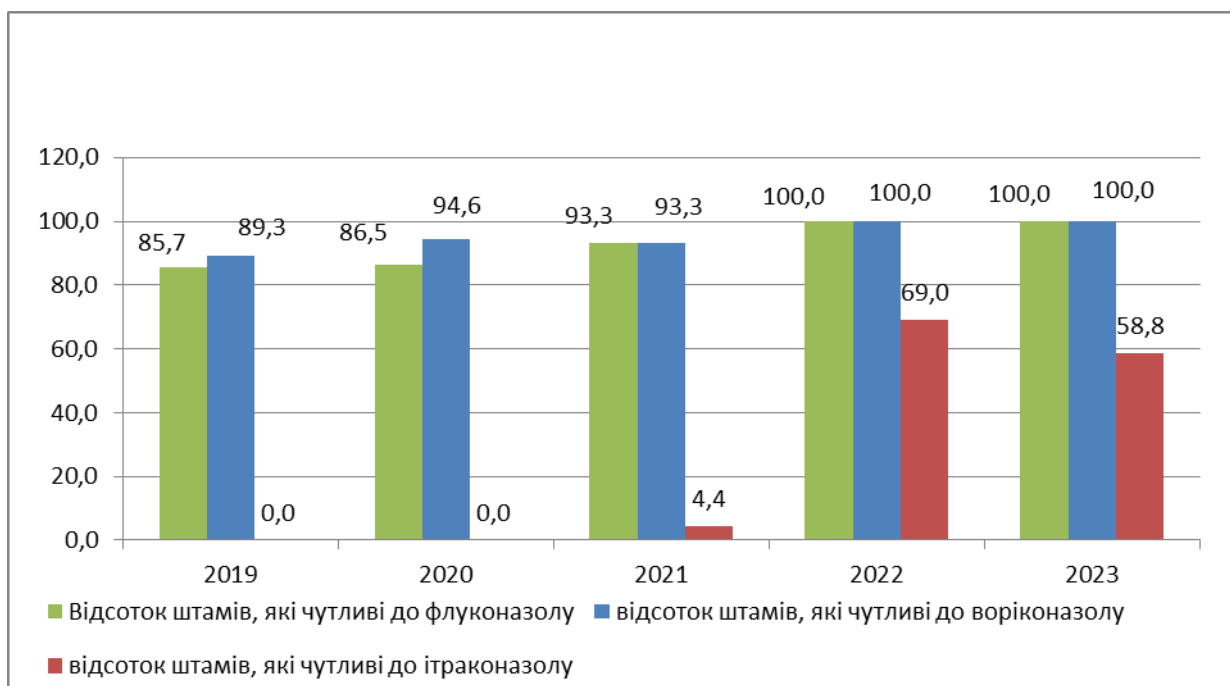


Рис.5. Чутливість до триазолів широкого спектру дії штамів *Candida albicans*, які виділені з слизових оболонок ротової порожнини та піднебінних мигдаликів.

Флуконазол та воріконазол є антимікотиками, які належать до групи триазолів класу азоли. Обидва препарати широко використовуються для лікування грибкових інфекцій. Флуконазол впливає на фермент цитохрому Р450 (зокрема, CYP2C9 та CYP3A4), який бере участь у біосинтезі ергостеролу. Цитохром Р450 залучений до конвертації ланостеролу в ергостерол. Флуконазол блокує процес перетворення ланостеролу на ергастерол впливаючи на фермент цитохрому Р450. Внаслідок блокування біосинтезу ергостеролу, грибок змушений виробляти альтернативні ліпіди, що порушує структуру та функції грибкової мембрани та призводить до загибелі гриба.

Воріконазол також інгібує ферменти цитохрому Р450, зокрема CYP2C19, CYP2C9, та CYP3A4, що призводить до зниження біосинтезу ергостеролу. Подібно до флуконазолу, воріконазол порушує біосинтез ергостеролу.

Обидва ці протигрибкові препарати широко використовуються в лікуванні грибкових інфекцій.

Щодо іншого препарату ітраконазолу (групи триазолів класу азоли) ситуація буде дещо іншою. Починаючи з 2021 року відсотки чутливих до ітраконазолу штамів починають зростати серед штамів з усіх трьох локалізацій, а у 2022 році це зростання стає особливо значним і, у порівнянні із показниками 2021 року, статистично вірогідним: для штамів із слизових оболонок ротової порожнини $t\phi = 7,63$ ($p < 0,001$); для вагінальних $t\phi = 4,85$ ($p < 0,001$); для фекальних $t\phi = 7,97$ ($p < 0,001$).

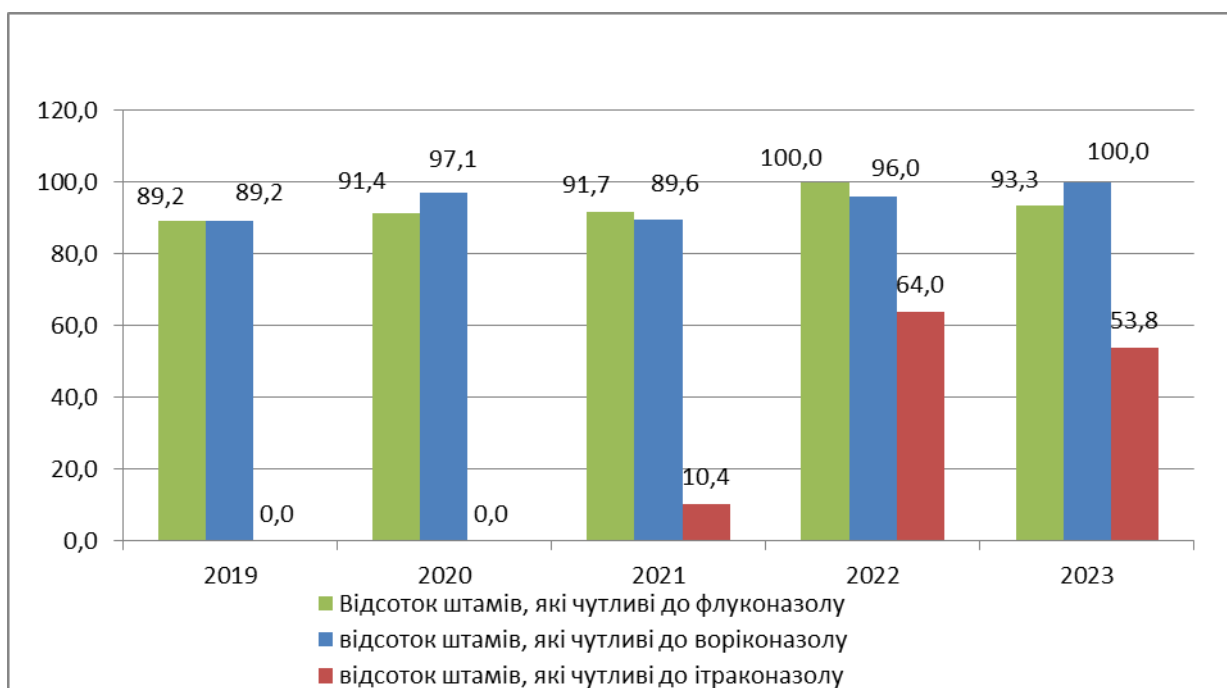


Рис.6. Чутливість до триазолів широкого спектру дії штамів *Candida albicans*, які виділені з піхви.

Ітраконазол є протигрибковим препаратом, він використовується для лікування грибкових інфекцій, таких як кандидоз, аспергільоз, гістоплазмоз, кокцидіомікоз і деякі інші мікози. Механізм дії ітраконазолу полягає в його впливі на біосинтез ергостеролу, ключового компонента грибкових клітинних

мембран. Ітраконазол зв'язується з ферментом цитохрому Р450 (зокрема, СYP3A4), який є важливим ферментом у грибових клітинах та інгібує його. Цитохром Р450 бере участь у конвертації ланостеролу в ергостерол, що є важливим структурним компонентом грибових мембран. Ітраконазол блокує цей процес, заважаючи конвертації ланостеролу в ергостерол. Внаслідок блокування, йде накопичення ланостеролу в грибовій клітині замість ергостеролу. Це порушення біосинтезу ергостеролу та заміна його на ланостерол призводить до пошкодження грибової мембрани. Зміни в мембрані впливають на її проникність та структуру, що в результаті призводить до зупинки росту та розмноження грибка[92].

Серед штамів, які виділені у 2019-2020 роках із слизових оболонок ротової порожнини та піхви, чутливих до ітраконазолу не виявлено, а серед фекальних штамів відсоток чутливих був дуже низьким (рисунки 5, 6 і 7).

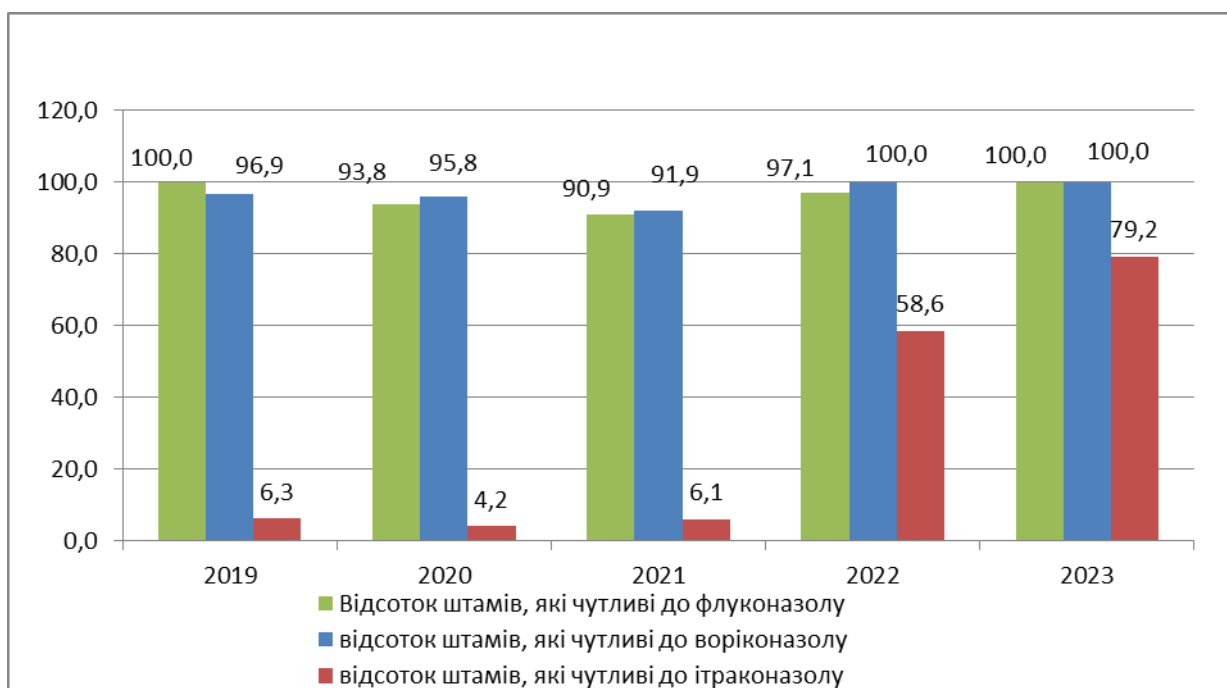


Рис.7. Чутливість до триазолів широкого спектру дії штамів *Candida albicans*, які виділені з фекалій.

3.4. Динаміка чутливості виділених штамів *Candida albicans* до антимікотичних засобів групи імідазолів класу азолів

З препаратів з групи імідазолів класу азолів найбільша чутливість у штамів *C. albicans* виявлена до кетоконазолу. На другому та третьому місцях були клотримазол та еконазол, чутливість до яких була майже однаковою. І найнижча чутливість виявлена до міконазолу (рис. 8, 9, 10).

Зміни у 2023 році у порівнянні з 2022 роком мають різнонаправлений характер і є статистично не вірогідними.

Для штамів *Candida albicans*, які виділені із слизових оболонок ротової порожнини та піднебінних мигдаликів найбільш ефективним був антимікотик – кетоконазол. Відсоток чутливих штамів становив від 57,1%(2019 рік) до 83,3%(2022 рік), (рис.8).

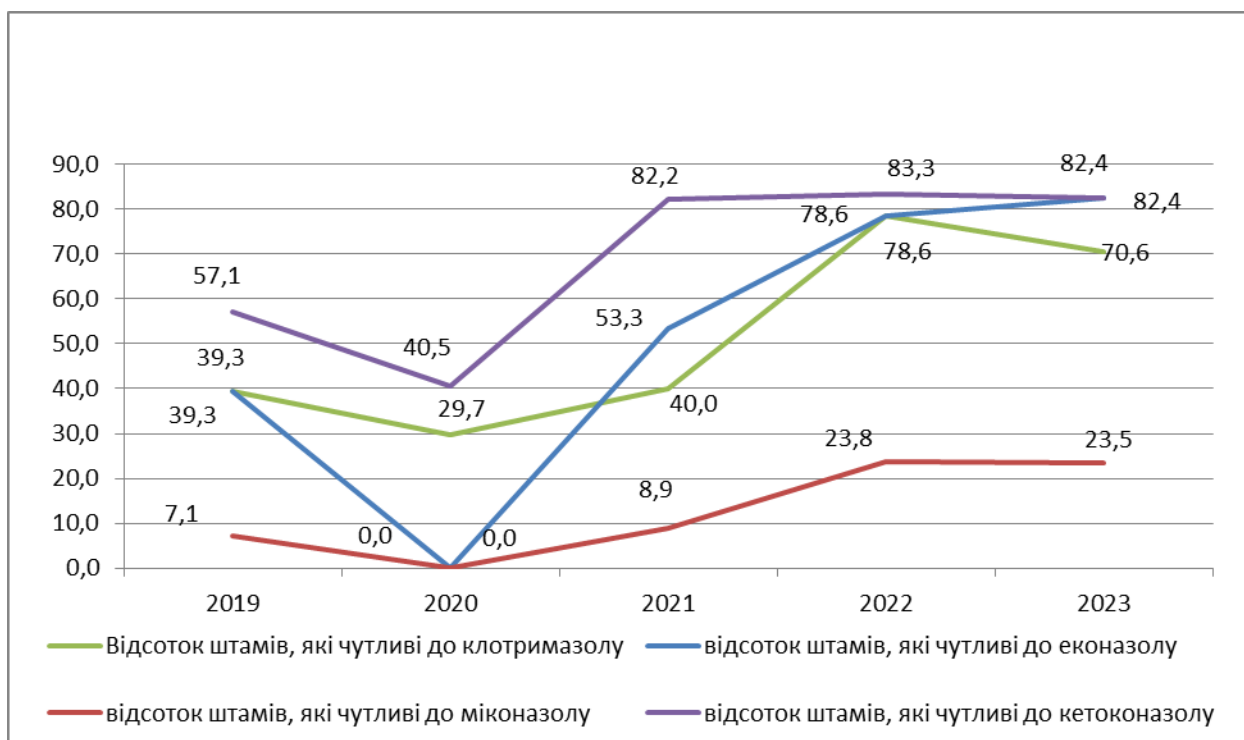


Рис.8. Чутливість штамів *Candida albicans*, які виділені із слизових оболонок ротової порожнини та піднебінних мигдаликів до групи імідазолів.

Механізм дії кетоконазолу, як і інших препаратів класу азоли полягає у інгібуванні фермента цитохром Р450, зокрема CYP3A4, CYP2C9. Тим самим блокуючи перетворення ланостеролу в ергостерол, що є ключовим компонентом клітинної стінки грибів.

Кетоконазол використовується для лікування грибкових інфекцій, таких як дерматофітії, печінкові плями, пітіріаз весікуляр, себореїний дерматит, та інші дерматологічні захворювання.

Кетоконазол, клотримазол і еконазол - це препарати, що належать до класу азольних антимікотиків. Вони мають схожий механізм дії, але деякі відмінності в їхній структурі та спектрі дії можуть впливати на їхню ефективність при застосуванні.

Чутливість штамів *Candida albicans*, що виділені з піхви до міконазу була досить низькою протягом усього дослідження від 2019 до 2023 років. З найнижчим показником у 2020 та 2023 роках(рис. 9).

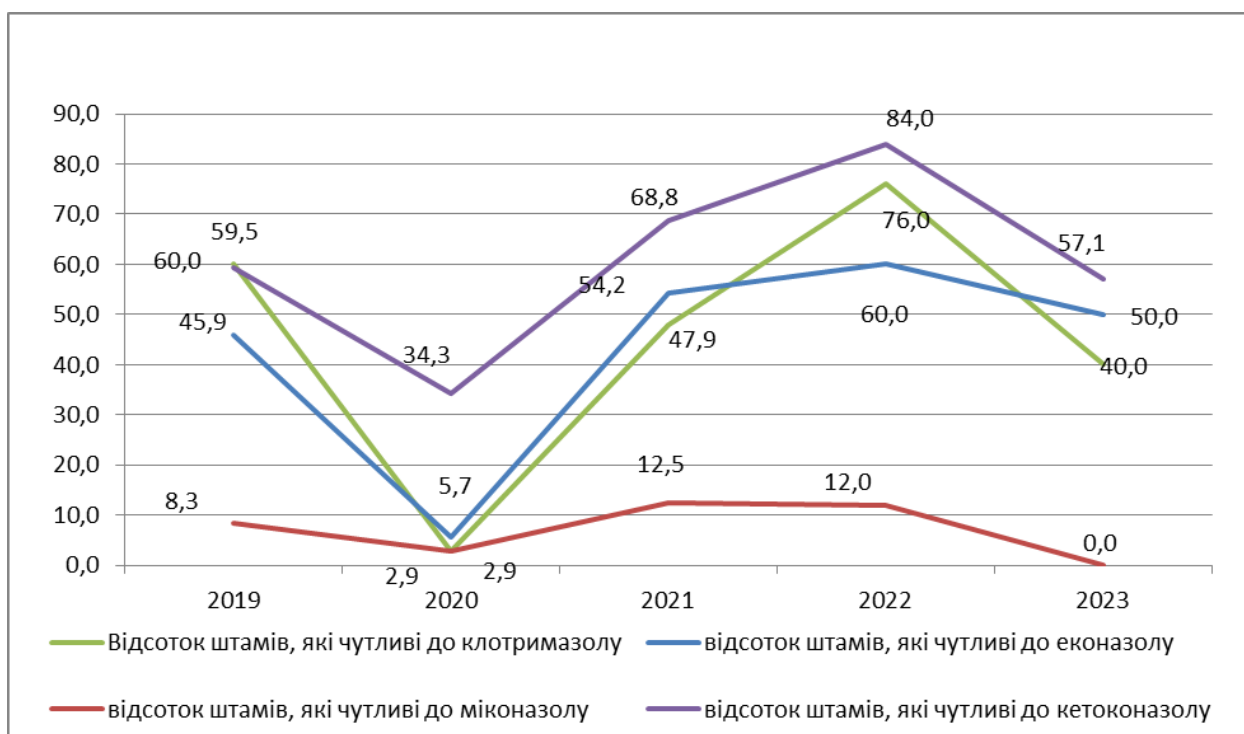


Рис.9. Чутливість штамів *Candida albicans*, які виділені з піхви до групи імідазолів.

Міконазол є антимікотичним препаратом, який належить до класу азольних антимікотиків. Його механізм дії схожий на інші азоли, тобто він блокує фермент цитохром Р450, особливо СYP450 14 α -деметилазу, яка бере участь у конвертації ланостеролу в ергостерол - важливого компонента грибкової клітинної мембрани. Інгібування цього етапу призводить до накопичення ланостеролу та зниження концентрації ергостеролу, що впливає

на структуру грибової клітинної мембрани. Порушення мембрани грибка призводить до зупинки його росту та розмноження.

Є досить багато факторів, що можуть впливати на ефективність міконазолу. Деякі грибки можуть розвивати резистентність до міконазолу, що зменшує його ефективність. Зниження ефективності антибіотика в першу чергу пов'язане з безсистемним застосуванням при вагінальних хворобах та хворобах сечостатевої системи, і, також, при неправильному використанні препарату або при тривалому безсистемному лікуванні.

Чутливість штамів *Candida albicans*, які виділені із фекалій до групи імідазолів була, майже однаковою для клотримазолу, еконазолу та кетоконазолу з найнижчим рівнем чутливості у 2020 році, та послідовним підвищенням відсотка чутливих штамів у наступних роках. У відношенні до міконазолу зміни були менш вираженими, а для штамів, які виділені з фекалій зареєстровано навіть плавне зростання відсотка чутливих штамів від 2019 до 2023 років.

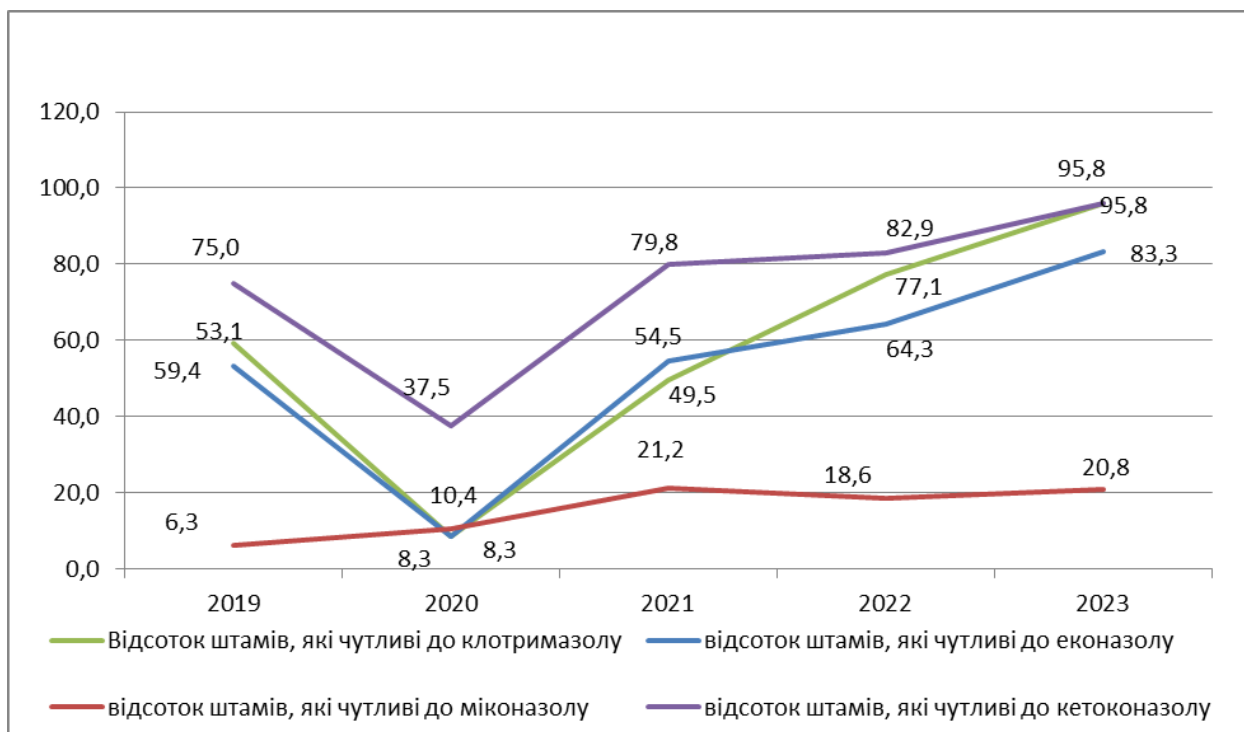


Рис.10. Чутливість штамів *Candida albicans*, які виділені із фекалій до групи імідазолів.

Динаміка чутливості до імідазолів за період спостереження була схожою у всіх штамів *Candida albicans*, незалежно від локалізації. У 2020 році, з початком епідемії COVID-19 зафіксоване різке, у більшості випадків статистично достовірне зниження чутливості до клотримазолу, еконазолу та кетоконазолу (табл. 5, 6, 7).

Рік	Показник	Клотри-мазол	Еко-назол	Міко-назол	Кетако-назол
2019	N	28	28	28	28
	к-кість чутливих	11	11	2	16
	%	39,3±9,23	39,3±9,23	7,1±4,87	57,1±9,35
2020	N	37	37	37	37
	к-кість чутливих	11	0	0	15
	%	29,7±7,51	0,0	0,0	40,5±8,07
Тф		0,8	5,4	2,16	1,33
Р		>0,05	<0,01	<0,05	>0,05

Таблиця 5. Динаміка чутливості до імідазолів штамів *C. albicans*, які виділені із слизових оболонок рота та піднебінних мигдаликів.

У 2021 році серед штамів *C. albicans* з усіх трьох локалізацій спостерігається зростання відсотків чутливих до імідазолів. Цей процес продовжується у 2022 році, коли показники досягають, або і перевищують відповідні цифри 2019 року.

Чутливість штамів *C. albicans*, які виділені з піхви мали зниження відсотка чутливих для всіх чотирьох препаратів, але статистично вірогідне лише для клотримазолу, міконазолу та кетоконазолу (табл. 6).

Рік	Показник	Клотри-мазол	Еконазол	Міконазол	Кетаконазол
2019	N	35	37	36	37
	к-кість чутливих	21	17	3	22
	%	60,0±8,28	45,9±8,19	8,3±4,61	59,5±8,07
2020	N	35	35	35	35
	к-кість чутливих	1	2	1	12
	%	2,9±2,82	5,7±3,92	2,9±2,82	34,3±8,02
Tф		5,99	4,38	1,03	2,16
P		<0,01	<0,01	>0,05	<0,05
2022	N	25	25	25	25
	к-кість чутливих	19	15	3	21
	%	76,0±8,72	60,0±10,0	12,0±6,63	84,0±10,20
2023	N	15	14	14	14
	к-кість чутливих	6	7	0	8
	%	40,0±13,09	50,0±13,87	0	57,1±13,73
Tф		2,19	0,6	2,11	1,81
P		<0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Таблиця 6. Динаміка чутливості до імідазолів штамів *C. albicans*, які виділені з піхви.

Всі антимікотики, до яких була вивчена чутливість, мають схожий механізм дії - вони порушують синтез ергостеролу – важливого компоненту клітинної стінки дріжджеподібних грибів [9]. Але роблять це на різних етапах, в залежності від своєї хімічної будови. Як видно з отриманих результатів, чутливість грибів та динаміка цієї чутливості за період спостережень різна, навіть серед представників однієї хімічної групи.

Відчутне зниження чутливості до антимікотичних засобів другої групи у 2020 році і збільшення частоти виділення штамів *C. albicans* співпадають з розпалом пандемії COVID-19.

У 2023 році у порівнянні з 2022 роком серед штамів *C. albicans*, які виділені з рота та фекалій суттєвих змін у чутливості до імідазолів не виявлено (табл.7).

Рік	Показник	Клотри-мазол	Еко-назол	Міко-назол	Кетако-назол
2019	N	32	32	32	32
	к-кість чутливих	19	17	2	24
	%	59,4±8,68	53,1±8,82	6,3±4,28	75,0±7,65
2020	N	48	48	48	48
	к-кість чутливих	4	4	5	18
	%	8,3±3,99	8,3±3,99	10,4±4,41	37,5±6,99
Тф		5,14	4,59	0,66	3,41
Р		<0,01	<0,01	<0,05	<0,01

Таблиця 7. Динаміка чутливості до імідазолів штамів *C. albicans*, які виділені з фекалій.

Як було сказано вище, масове застосування антибіотиків з початком пандемії закономірно могло привести до збільшення частоти ускладнень від антибіотикотерапії, одним з яких і є кандидоз різної локалізації. У свою чергу, застосування антимікотичних засобів для лікування кандидозів могло викликати селекцію більш резистентних штамів.

З групи полієнових антибіотиків чутливість до ністатину була високою і майже не змінною, а до амфотерицину В нижчою і змінювалась.

Серед препаратів групи триазолів класу азолів чутливість до ітраконазолу змінювалась за період спостережень, а до флюконазолу та воріконазолу була високою і майже не змінювалась.

Клотримазол, еконазол, міконазол та кетоконазол належать до групи імідазолів класу азолів. Чутливість до цих антимікотиків була різною, але, на відміну від інших груп, її динаміка мала схожий характер.

Таким чином, хімічна будова та механізм дії не єдині чинники, які впливають на динаміку чутливості до антимікотичного препарату. Чутливість грибків до антимікотичних засобів визначається комплексом факторів, а хімічна будова та механізм дії — лише однією з їхніх складових. Є безліч додаткових факторів, що впливають на природу чутливості грибів.

Додаткові фактори, що впливають на чутливість грибів:

- Мутації в генах, що кодують білки, які є мішенями антимікотиків, можуть спричинити розвиток резистентності;
- Адаптація та активація механізмів виведення препарату. Деякі грибки можуть збільшити ефективність своїх механізмів виведення антимікотиків, що призводить до зменшення їхньої концентрації в клітинах і, відповідно, до меншої ефективності лікування;
- Ефекти внутрішньоклітинного середовища: Умови внутрішньоклітинного середовища можуть впливати на ефективність антимікотиків, наприклад, зміни у рівні рН чи концентрація йонів;
- Механізми експресії генів. Різні механізми експресії генів можуть визначати, наскільки ефективно буде застосована певна генетична інформація в клітині для виробництва білків, які взаємодіють з антимікотиками;
- Взаємодії з іншими мікроорганізмами в середовищі можуть впливати на чутливість грибів до антимікотиків;
- Властивості грибкового біомікробіому. Зміни у складі та функціональності грибкового біомікробіому можуть впливати на чутливість до антимікотиків;
- Взаємодії з імунною системою хазяїна може впливати на ефективність антимікотичного лікування;

Тому на основі отриманих результатів можна сформулювати певні висновки щодо чутливості різних антимікотиків, які широко застосовуються у лікувальній практиці в період від 2019 до 2023 років.

Усі антимікотичні засоби, за чутливістю до яких велись спостереження в період 2019-2023 років, можна розділити на дві групи. Перша з них включає ністатин, флюконазол та воріконазол. Чутливість до цих препаратів у штамів *C. albicans* була високою, не залежала від їх локалізації і не зазнавала суттєвих змін протягом усього періоду спостережень.

Антигрибкова активність решти препаратів (амфотерицин В, ітраконазол, клотримазол, еконазол, міконазол, кетоконазол) була нижчою. (найнижчою у міконазолу). Чутливість до них також майже не залежала від локалізації штамів, але змінювалась у продовж періоду спостережень. Загальний малюнок динаміки чутливості схожий для усіх препаратів другої групи з невеликими винятками: у 2020 році зниження відсотків чутливих штамів з наростанням цього показника у послідуєчі роки.

ВИСНОВКИ

1. Пандемія COVID-19 спричинила зростання випадків виділення штамів *C. albicans* як причини запальних захворювань різної локалізації. Із згасанням пандемії частота виділення даного збудника зменшилась і мало відрізнялась від доепідемічних рівнів.
2. Чутливість штамів *C. albicans* до антимікотичних засобів та її динаміка за період спостережень майже не залежала від локалізації збудника.
3. Протягом періоду спостережень найвища і майже незмінна чутливість зареєстрована до ністатину, воріконазолу, флуконазолу. Найнижча – до міконазолу.
4. Для ряду антимікотиків, які належали до різних груп за своєю хімічною будовою (амфотерицин В, ітраконазол, клотримазол, еконазол, кетоконазол, в меншій мірі міконазол) виявлена схожа динаміка чутливості протягом періоду спостережень. Різке, часто статистичне достовірне зниження чутливості у 2020 році, на піку пандемії COVID-19 з наростанням цього показника у наступні роки.
5. На динаміку чутливості штамів *C. albicans* до антимікотиків має вплив як хімічна будова, так і інші фактори, природа яких не вияснена. Це, в свою чергу, вимагає постійного моніторингу за цим показником для раціоналізації профілактики та лікування кандидозів.