

УДК 616.992.282+716.15-006.6)-085.277.3

**І.В. Тимчук, О.П. Корнійчук, З.В. Масляк, О.І. Бойко, В.В. Данилейченко**

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького*

## **ВПЛИВ ЦИТОСТАТИКІВ НА ГРИБИ РОДУ *CANDIDA* В ОНКОГЕМАТОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ**

У 65 % обстежених онкологічних хворих з захворюваннями системи крові на фоні поліхіміотерапії спостерігалася проліферація грибів роду *Candida* в ротовій порожнині. 30 % виділених штамів виявилися резистентними, 30 % – слабо чутливими до дії сучасних протигрибкових препаратів азольної групи, таких як флуконазол та ітраконазол, 38 % – слабо чутливими до дії ністатину. Встановлено стійкість досліджуваних культур до дії вінбластину, ендоксану, адриабластину та циклофосфаміду.

**Ключові слова:** онкозахворювання системи крові, гриби роду *Candida*, цитостатики.

Незважаючи на широке застосування в клінічній практиці впродовж багатьох десятиліть цитостатиків і гормональних препаратів, недостатньо вивчено їхню дію на мікроорганізми – збудники запальних процесів, а також на симбіотну мікрофлору організму людини. Вивчення їх впливу на мікроорганізми має суттєве значення для клінічної мікробіології, оскільки зміна біологічних властивостей збудника може призвести до розвитку атипичних форм запальних захворювань і помилок у діагностиці захворювань мікробного генезу, асоційованих з пухлинними процесами [1].

Ускладнення при протипухлинній терапії зумовлені передусім потенційною токсичністю протипухлинних засобів і антибіотиків [2]. Одним із побічних ефектів дії цитостатиків є розвиток мікробіологічних змін, що може відбиватися на перебігу основного захворювання. За даними літератури, проведені лише вибіркові дослідження впливу цитостатиків на мікроорганізми. Зокрема, методом дифузії препаратів в агар досліджено, що доксорубіцин, метотрексат, цисплатин здатні затримувати ріст *Candida tropicalis*, *E. coli* (5–7 мм), *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* (5–30 мм), *Lactobacillus spp.* (5–40 мм) [3], а в дослідках

*in vivo* циклофосфамід викликає надлишковий ріст ентеробактерій, метотрексат – підвищення чисельності стафілококів і зниження – ентеробактерій [4]. Застосування вінбластину не впливає на лактобацили через відсутність у них мішені дії (хроматин і веретено поділу) [5].

Метою дослідження було дослідити та порівняти видовий спектр грибів роду *Candida*, виділених з ротової порожнини пацієнтів з захворюваннями системи крові на тлі поліхіміотерапії та практично здорових людей; вивчити вплив цитостатиків (вінбластину, ендоксану, адриабластину та циклофосфаміду) на біологічні властивості грибів роду *Candida*.

**Матеріал і методи.** Для кількісної оцінки ураження грибами роду *Candida* матеріал з ротоглотки транспортували в бульйоні Сабуро (5 мл), струшували протягом 5 хвилин із скляними кульками і 0,5 мл цієї зависі рівномірно розтирали шпателем на твердому середовищі Сабуро. Посіви інкубували при температурі 37 °С через 24 і 48 годин, після чого підраховували число вирослих колоній і множили на 50. Вирослі колонії ідентифікували за допомогою мікроморфологічних особливостей росту грибів роду *Candida* на різних поживних середовищах та за здатністю утилізувати і ферментувати цукри [6]. Чутливість до про-

© І.В. Тимчук, О.П. Корнійчук, З.В. Масляк та ін., 2013

тигрибкових препаратів визначали за допомогою диско-дифузійного методу з використанням дисків виробництва НДЦФ (Санкт-Петербург). За інструкцією виробника у відповідності до зон затримки росту культури визначали як чутливі, помірно резистентні (слабо чутливі) або стійкі (резистентні).

Чутливість до дії цитостатиків визначали методом двократних серійних розведень. Бульйон Сабуро розливали по 0,5 куб. см у 5 пробірок; 0,5 куб. см досліджуваного препарату вносили в 1-шу пробірku, перемішували і новою піпеткою 0,5 куб. см переносили в наступну пробірku, з останньої пробірки 0,5 куб. см видаляли. Таким чином отримали ряд пробірок з досліджуваними цитостатиками, концентрації яких різняться в сусідніх пробірках удвічі. Одночасно готували контрольний цитостатик. Для інокуляції використовували мікробну суспензію, еквівалентну 0,5 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів на бульйоні Сабуро ( $5 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>). Інокулюм по 0,5 куб. см вносили в кожну пробірku. Визначення можливості росту культур проводили в концентраціях препаратів 500,0; 250,0; 125,0; 62,5 та 31,25 мкг/мл.

Додатково провели тестування протигрибкової активності цитостатиків методом дифузії в агар. У щільному середовищі Сабуро на чашках Петрі за допомогою спеціального пробійника виготовляли лунки діам. 4 мм. На поверхню агару рівномірно засівали суспензію добової культури *Candida albicans* ATCC 885-653. В лунки вносили по 20 мкл досліджуваних препаратів.

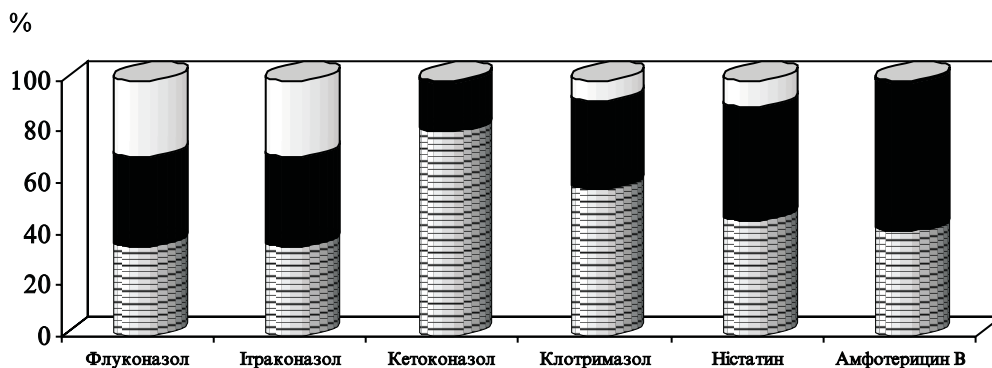
Для вивчення впливу цитостатиків на гриби роду *Candida* було використано препарати,

що застосовувались в лікуванні обстежених хворих, – циклофосфамід, вінбластин, ендоксан, адриабластин.

**Результати та їх обговорення.** На першому етапі досліджень було виявлено, що із 20 обстежених онкохворих гриби роду *Candida* виділено з ротоглотки 13 осіб, що складає 65 %, у кількості  $10^3$  –  $10^4$  КУО/мл. Це дає підстави говорити про кандидозну колонізацію ротової порожнини. В контрольній групі, яку склали 10 практично здорових людей віком 30–74 роки, гриби роду *Candida* виділено з ротоглотки 4 осіб, що складає 40 %, у кількості  $10^2$  –  $10^3$  КУО/мл, що відповідає нормі.

За видовим складом гриби роду *Candida*, виділені з ротоглотки онкохворих, розподілялися: *C. albicans* – 7 (53,8 %), *C. tropicalis* – 3 (23,1 %), *C. krusei* – 2 (15,4 %), *C. kefyr* – 1 (7,7 %). У практично здорових людей *C. albicans* становила 3 (75 %), *C. tropicalis* – 1 (25 %).

Показники чутливості грибів роду *Candida*, виділених з ротоглотки онкохворих, до дії протигрибкових препаратів наведені на рисунку. Виявлено, що 30 % досліджених штамів є резистентними, 30 % – слабо чутливими до дії сучасних протигрибкових препаратів азольної групи, таких як флуконазол і ітраконазол, 38 % є слабо чутливими до дії ністатину (на відміну від штамів, виділених у практично здорових людей, які у 95 % є чутливими до ністатину). Найвищу чутливість грибкові ізоляти виявили до кетоконазолу (69 %) та клотримазолу (60 %). При оцінці чутливості до протигрибкових препаратів та призначенні лікування треба враховувати



Чутливість грибів роду *Candida* до дії протигрибкових препаратів:

□ – резистентні; ■ – слабочутливі; ▨ – чутливі

живання протигрибкових препаратів у анамнезі у більшості обстежуваних, що зумовлює розвиток резистентних і слабо чутливих штамів.

Проведені дослідження показали, що через 24 години інкубування культур в присутності цитостатиків не виявлено затримки росту з жодним препаратом.

Додатково визначали зміну чутливості грибів роду *Candida* до дії стандартних антимікотиків при їх інкубуванні з цитостатиками при температурі 37 °С протягом 24 годин. Достовірної різниці в діаметрах зони затримки росту стандартного штаму без обробки та при його обробці цитостатиками не виявлено.

Результати тестування протигрибкової активності цитостатиків за допомогою методу дифузії в агар підтвердили попередні дослідження методом двократних серійних розведень. Навколо лунок з вінбластином (1 мг/мл), ендоксаном (5 мг/мл), адриабластином (5 мг/мл) та циклофосфамідом (5 мг/мл) затримки росту грибів роду *Candida* не виявлено. Навколо лунки з циклофосфамідом у концентрації 40 мг/мл спостерігалась стимуляція росту грибів роду *Candida*. Колонії грибів виростили швидше при обробці циклофосфамідом, а розмір колоній у кілька разів перевищував такий колоній аналогічного періоду росту без обробки препаратом.

Таким чином, є всі підстави говорити про підвищення рівня колонізації слизової оболонки ротоглотки у осіб, що приймають цитостатики з приводу онкозахворювань системи крові.

В середньому лише 50 % штамів є чутливими до дії досліджуваних препаратів, що дає підстави рекомендувати обов'язкове виявлен-

ня чутливості виділених грибів роду *Candida* до дії протигрибкових препаратів з метою призначення оптимальної антифунгальної терапії. Оскільки ці препарати мають значний побічний токсичний вплив на організм людини, то у випадку хворих, що приймають хіміотерапію, додаткове необґрунтоване навантаження на організм може призвести до поглиблення важкості хвороби.

### Висновки

Вплив цитостатиків на досліджувані культури специфічний і залежить від препарату і його концентрації. Найбільший вплив на гриби мав циклофосфамід.

Препарати вінбластину, ендоксану, адриабластину та циклофосфаміду в концентрації до 5 мг/мл не впливають на характер росту грибів роду *Candida*, у той час як при дії циклофосфаміду в концентрації 40 мг/мл спостерігається стимуляція їх росту.

Методом двократних серійних розведень виявлено ріст культури у досліджуваному діапазоні концентрацій, що свідчить про стійкість культур до дії досліджених цитостатиків, причому відмінностей у біологічних властивостях інкубованих з цитостатиками культур в порівнянні з контролем не спостерігалось.

Досліджені препарати не змінюють чутливість грибів роду *Candida* до дії стандартних антимікотиків.

**Перспективність подальших досліджень.** Планується продовження досліджень щодо впливу цитостатиків на популяцію мікроорганізмів і порівняння результатів до початку терапії, в ході терапії та після її завершення.

### Список літератури

1. Вплив тривалої дії цитостатиків і гормонів на властивості *Escherichia coli* / А.В. Руденко, А.Н. Брудько, Н.В. Воробей, Г.Д. Сулова // Мікробіологічний журнал. – 1999. – Т. 61. – № 5. – С. 33–40.
2. *Leape L.L.* The nature of adverse events in hospitalized patients. Results of the Harvard Medical Practice Study II // *L.L. Leape, T.A. Brennan, N. Laird* // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – 324. – Р. 377–384.
3. *Типлинська К.В.* Адаптація дискового методу для експрес-оцінки стійкості мікроорганізмів до цитостатиків / *К.В. Типлинська, О.В. Советова, В.Ю. Горчаков* // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2009. – № 4. – С. 118 – 124.
4. *Шитов Л.Н.* Влияние цитостатиков на биологические свойства условно-патогенных бактерий микрофлоры кишечника в эксперименте : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л.Н. Шитов. – М., 2010. – 26 с.

5. Визначення впливу цитостатиків на штами – потенційні продуценти пробіотичних препаратів / К.В. Типлинська, О.В. Советова, К.С. Позднякова [та ін.] // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2009. – № 3. – С. 99–106.

6. Мороз А.Ф. Грибы рода *Candida* (Методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам): Методические рекомендации / А.Ф. Мороз, А.Е. Снегирева. . – М., 2009. – С. 3–54.

**И.В. Тимчук, Е.П. Корнийчук, З.В. Масляк, А.И. Бойко, В.В. Данилейченко**

#### **ВЛИЯНИЕ ЦИТОСТАТИКОВ НА ГРИБЫ РОДА *CANDIDA* У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

У 65 % обследованных онкобольных с заболеваниями крови на фоне полихимиотерапии наблюдалась пролиферация грибов рода *Candida* в полости рта. 30 % выделенных штаммов оказались резистентными, 30 % – слабо чувствительными к современным противогрибковым препаратам азольной группы, таким как флуконазол и итраконазол, 38 % – слабо чувствительными к нистатину. Установлена устойчивость исследуемых культур к действию винбластина, эндоксана, адриабластина и циклофосамида.

**Ключевые слова:** онкозаболевания системы крови, грибы рода *Candida*, цитостатики.

**I.V. Tymchuk, O.P. Korniychuk, Z.V. Maslyak, O.I. Boyko, V.V. Danylejchenko**

#### **INFLUENCE OF CYTOSTATICS ON *CANDIDA* SPECIES FUNGI OF ONCOHEMATOLOGICAL PATIENTS**

The proliferation of *Candida* species fungi was observed in 65% of examined oncology patients with tumor diseases of the blood system in the course of polychemotherapy. 30% of obtained strains appeared to be resistant and 30% weakly sensitive to the influence of modern antifungal agents of azole group such as fluconazole and itraconazole, 38% are weakly sensitive to the influence of nistatine. The resistance of investigated cultures to the influence of vinblastine, endoxan, adriablastin and cyclophosphamide has been ascertained.

**Key words:** oncology patients with diseases of blood, *Candida* species fungi, cytostatics.

Поступила 18.09.13