

**ASPERGILLUS PERSII**  
**A.M. KORTE И M.**  
**ZOTTI – НОВЫЙ**  
**ВИД И ВОЗБУДИТЕЛЬ**  
**ОНИХОМИКОЗА У**  
**ЧЕЛОВЕКА И ASPERGILLUS**  
**TANNERI K. ДЖ. КВОН-**  
**ЧУНГ, ДЖ.А. СУГУИ И**  
**С.У. ПЕТЕРСОН – НОВЫЙ**  
**ВИД И ВОЗБУДИТЕЛЬ**  
**ИНВАЗИВНОГО**  
**РЕФРАКТЕРНОГО**  
**ЗАБОЛЕВАНИЯ**

**Елинов Н.П. (профессор кафедры)\***

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина,  
 Северо-Западный государственный медицинский  
 университет им. И.И. Мечникова (кафедра  
 медицинской микробиологии), Санкт-Петербург,  
 Россия

© Елинов Н.П., 2014

В статье представлены материалы о новых видах аспергиллов – *Aspergillus persii*, вызывающим онихомикоз у человека, и *Aspergillus tanneri*, вызывающим инвазивный аспергиллёз (ИА) у лиц с хроническим гранулематозным заболеванием (ХГЗ). Рассмотрены их микро- и макроскопические характеристики клеток и колоний, выросших на разных питательных средах и при различных температурах, систематическое положение в ряду близко родственных видов и родов микромрицетов, активность против них ряда антимикотиков.

Я надеюсь, что представленные материалы будут интересными и полезными российским микологам.

**Ключевые слова:** *Aspergillus persii*, *A. tanneri*, инвазивный аспергиллёз, микро- и макроскопические характеристики видов, номенклатура, онихомикоз, хроническое гранулематозное заболевание

**ASPERGILLUS PERSII**  
**A.M. KORTE AND M.**  
**ZOTTI – NEW SPECIES**  
**AND PATHOGEN OF**  
**ONYCHOMYCOSIS AT**  
**MAN AND ASPERGILLUS**  
**TANNERI K.J. KWON-**  
**CHUNG, J.A. SUGUI & S.W.**  
**PETERSON – THE NEW**  
**EXCITER OF INVASIVE**  
**ASPERGILLOSIS IN**  
**PATIENTS WITH CHRONIC**  
**GRANULOMATOUS**  
**DISEASE (CGD)**

**Yelinov N.P. (professor of the chair)**

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of  
 North-West State Medical University named after  
 I.I. Mechnikov (Chair of of Medical Microbiology),  
 St. Petersburg, Russia

© Yelinov N.P., 2014

*Materials of Italian authors about Aspergillus persii inducing the onychomycosis at man, and american (USA) scientists – about A. tanneri – the new exciter of invasive aspergillosis have surveyed in this article. Micro- and macroscopic characteristics of cells and colonies grown in different nutrient media under various temperatures; systematic position in a row of closely related of species and genera of micromycetes, the activity against Aspergillus persii and A. tanneri of some antimycotics have been considered in presented work. I hope that presented materials shall be interest and useful for Russian mycologists.*

**Key words:** antimycotics, *Aspergillus persii*, *A. tanneri*, chronic granulomatous disease, invasive aspergillosis, macro- and microscopic characteristics of species, nomenclatura, onychomycosis

В последние годы ряд авторов нередко сообщают о возрастающей роли недерматомицетов в заболеваниях кожи и её придатков и, прежде всего, ногтей [1-5; Zotti M., Montemartini Corte A.M. // Myconaxon, 2002. – Vol. 83]. В журнале «Медицинская микология» [1] была опубликована статья группы итальянских авторов (Мирка Зотти, Марко Макетти, Маддалена Перотти и др.) о новом виде аспергилла – *Aspergillus persii*; очевидно, что название вида связано с фамилией последнего соавтора. Несколько ранее Мирка Зотти и Аврора Монтемартини Корте [Zotti M., Montemartini Corte A.M. // Myconaxon, 2002. – Vol. 83] выступили со статьёй «*Aspergillus persii*: новый вид в секции *Circumdati* – важной группы в пределах родов *Petromyces* (Malloch и Cain, 1972) и *Neopetromyces* (Frisvad и Samson, 2000) и в пределах анаморфного рода *Aspergillus*. Фрисвад и коллеги [3] включили *A. persii* в число 21 других видов аспергиллов, продуцирующих охратоксин А. Он также об-

\* Контактное лицо: Елинов Николай Петрович,  
 тел.: (812) 303-51-40

разует пеницилловую кислоту, ксантомегнины, меллеин. Данный вид изолирован в 1999 от женщины в возрасте 61 года, поражённой и страдавшей от онихомикоза ещё 20 лет тому назад (Рис. 1, 2).



Рис. 1. Онихомикоз большого пальца левой стопы; проксимальное и левостороннее поражение ногтя с кератозом



Рис. 2. *Aspergillus persii* в культуре на модифицированной среде Сабуро (1% неопептона, 1,5% агар-агара, 2% глюкозы)

Виду присущи такие характеристики, как образование склероциев и дубинкоподобных образований мицелия, которые вполне особенные, и поэтому авторы предположили, что должен быть предложен новый вид *A. persii* (Рис.2а-в).

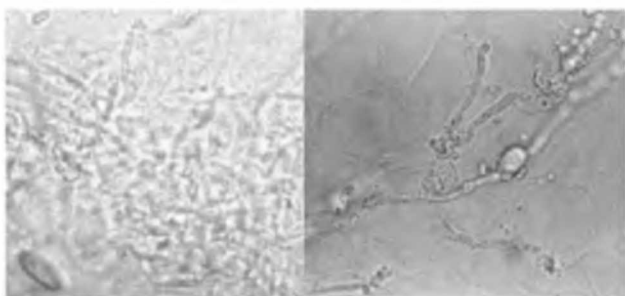


Рис. 2а. Микроскопический препарат материала из ногтя в растворе калия гидроксида, в котором видны нити мицелия с «дубинкоподобными утолщениями» у *Aspergillus persii* (x100)



Рис. 2б. Септальное «дубинкоподобное утолщение» в нити *Aspergillus persii* на дрожжевом агаре Чапека (CYA) при 25 °С (x100)

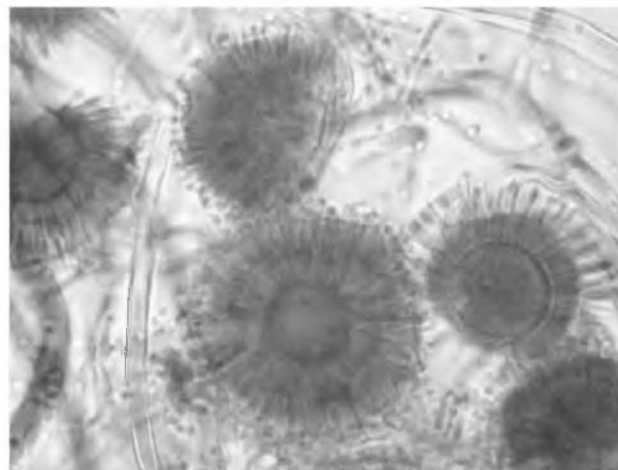


Рис. 2в. Сферические головки (10-25 мкм в диаметре) у *Aspergillus persii* (x100) с двурядными свободно расположенными (до радиальных) стеригмами, несущим и овальные конидии, гладкие 2,5-3 мкм в диаметре

Колонии гриба культивировали на 4 агаризованных средах с выдержкой при разных температурах (при +20 °С, + 24 °С и + 37 °С) – на агаре Чапека с дрожжевым экстрактом (CYA), Чапека-Докса и Сабуро (Рис. 3). На рисунке в верхнем ряду, обозначенными заглавными буквами А,В,С,Д, представлены колонии с лицевой (наружной) стороны; в нижнем ряду прописными буквами а,в,с,д обозначены те же колонии с обратной (реверсной – от лат. reverse – обратный) стороны.

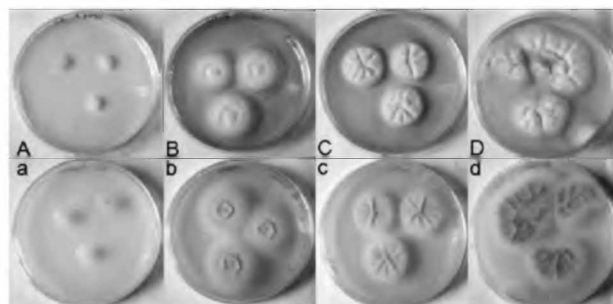


Рис. 3. Колонии *Aspergillus persii* на разных питательных средах: снимки с поверхности, обозначенные заглавными буквами (слева →направо): А,В,С,Д, а прописными буквами – а,в,с,д - с реверсной (обратной) стороны: Аа – на среде Чапека-Докса при 24 °С; Вв – на дрожжевом агаре Чапека при 20 °С; Сс – на агаре Сабуро при 37 °С; Дд – на дрожжевом агаре Чапека при 24 °С

На среде Чапека-Докса при + 24 °С (чашка А,а) в точках посева «рост» проявляется в виде небольших двояковогнутых сфер; на среде СУА при + 20 °С – колонии выпуклые с кратеровидным центром, окаймлённым выпуклым ободком [реверсная сторона – в представляет собой «зеркальный негатив» наружной (лицевой) стороны. На агаре Сабуро (чашка С,с) при + 37 °С – колонии круглые, с углублёнными бороздками, идущими от центра колонии к периферии, формируя некое подобие заглавной буквы Ж; обратная сторона колоний представляется негативом с выпуклыми рубцами в форме той же буквы Ж. На среде СУА (чашка D,d) при + 24 °С – колонии крупные (в 1,5-2 раза больше, чем на той же среде, но при + 20 °С; они выпуклые с углублённым, окаймлённым центром, от которого отходят бороздки к краю колонии; обратная сторона с «зеркальным негативом» (с углублением) на месте колоний. Культура *A. persii* из поражённого ногтя на модифицированной среде Сабуро образует пигмент жёлтого цвета и показана на рис.4.

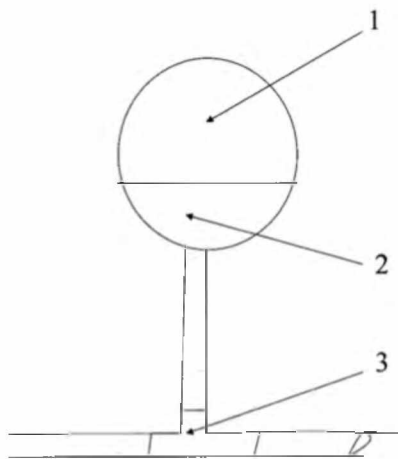


Рис. 4. Схематичный рисунок аспергиллы с обозначенными частями его структуры: 1) большая часть головки, где возникают стеригмы с конидиями; 2) меньшая часть головки, свободная от стеригм с конидиями (**апофизис**); 3) опорная клетка

Конидиальные головки сферические, стеригмы двухрядные продолговатые с терминальными овальными конидиями. Апофизисная часть у головок *A. persii* отсутствует (от англ. **Apo** - приставка «прочь от», отделённый; **physique** = **fi** - **zëk** - развитие и структура, организация тела) (Рис.5).

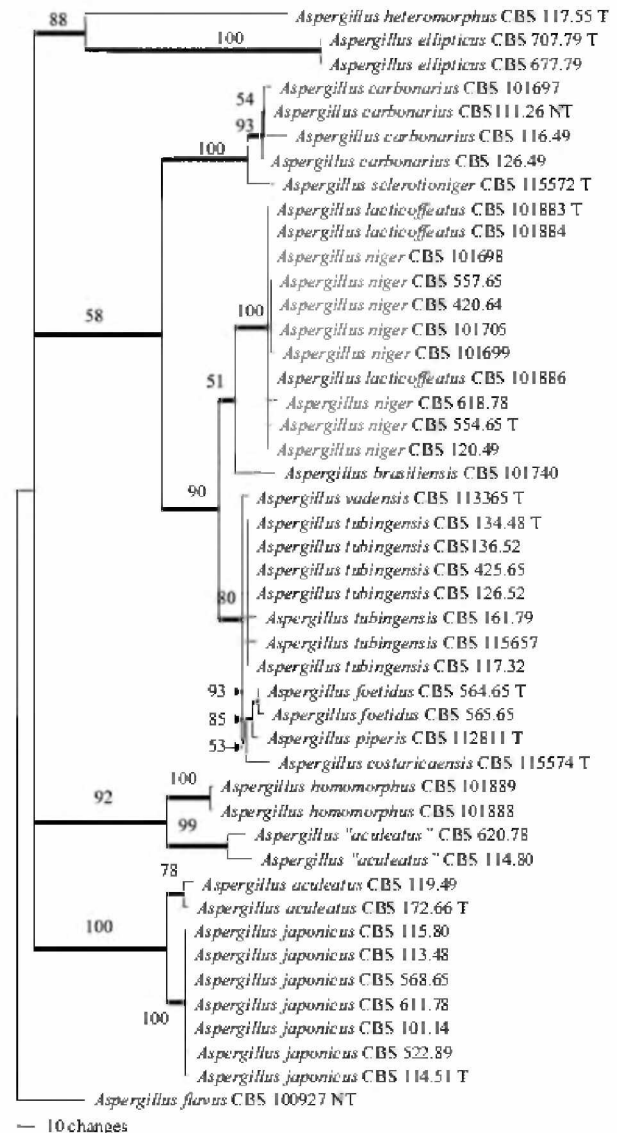


Рис. 5. Одни из 500 равных МРТ 517 ступеней, базирующихся на эвристическом поиске частичных β-глобулиновых последовательностей *Aspergillus flavus* как одного из рода. Ветви отчётливо составляют 100% у 70% большинства, как правило, в соответствии с парсимонийными деревьями. Интенсивно окрашенный *Aspergillus persii*, как и другие более окрашенные аспергиллы, являются продуцентами охратоксина А

Из других аспергиллов, описанных в качестве этиологических агентов онихомикоза, названы *A. flavus*, *A. sclerotiorum* и *A. terreus*, относящиеся к секциям *Flavi*, *Circumdati* и *Terrei* соответственно. Члены секции *Circumdati*, включающие *A. sclerotiorum* и *A. persii*, типично образуют головки с преобладающе двухрядными стеригмами с желтыми (или охряными или цвета кожи буйвола) конидиями (Klich M.A., et al, 1st ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002). Субкультуры первого изолята *A. persii* были переданы в католический университет (Бельгия, MUCB 41970), в Centraalbureau voor Schimmelcultures, Нидерланды (CBS112795) и в Mycotheca университета в Турине, Италия (MUT 3318). Последовательность (сиквенс = sequence) генов β-тубулина передана в GenBank (AY 819988) другими авторами [5]. При пер-

вом подходе к лечению пациентки применили так называемую «эмаль», содержащую 28% тиоконазола, но это оказалось явно недостаточным. Также разочаровывающим стало применение лака для ногтей с 5% аморолфина. Прибегнув к комбинированному лечению (местному – после тщательной чистки инфицированной части ногтевой пластины наносили мазь, содержащую 1% амфотерицина В, а *per os* назначали суточную дозу – 250 мг – тербинафина), удалось добиться желаемого эффекта через 3 месяца. Подобное лечение продолжали 2 года, когда пациентку признали избавившейся от онихомикоза и его возбудителя. Спустя почти 10 лет, эта же пациентка вновь заболела (заразилась, рецидив?!) онихомикозом в ноябре 2008 г., а в январе 2009 г. был определён и получен в культуре патоген, оказавшийся тем же видом *A. persii*. В тот же коллектив университета Генуя (Италия) [3] в июне 2006 г. обратился 56-летний мужчина с онихомикозом больших пальцев обеих ног. У пациента не было сахарного диабета и каких-либо иммунологических нарушений, но приобрёл онихомикоз в 2005 г., более выраженно проявившийся в 2006 г. Ногтевые пластины были дистрофическими. При микроскопии патологического материала грибок не был обнаружен, но получен в культуре на агаре Сабууро с глюкозой. В целях подтверждения образцов патогена проанализировали последовательность генов  $\beta$ -тубулина. Вся геномная ДНК *A. persii* была выделена по инструкции от Qiagen DN easy Plant Mini Kit® (QIAGEN GmbH, Hilden, Германия). Амплификация гена  $\beta$ -тубулина выполнена с использованием Bt2a и Bt2b праймеров [Glass N.L., Donaldson G.C. // Appl. Environ. Microbiol., 1995. – Vol. 61].

Амплификацию проводили в Biometra T3000 термоциклере (Goettingen, Германия), ДНК-сиквенирование – в Италии (DiNAMYCODE, Турин), Данными сиквенирования, вместе с морфологическими данными, подтвердили идентификацию *A. persii*. Живые культуры патогена от данного пациента также переданы в Нидерланды (CBS 124573) и в Mycotheca университет в Турине, Италия (MUT 4189). Последовательность генов  $\beta$ -тубулина передана в GenBank (GQ850380). Пациенту назначили местную и системную терапию. Местно также, как и в первом случае с пациенткой, выполняли смягчение ногтевых пластин 50% раствором мочевины с последующим применением 5% аморолфиновой «эмали». При системной терапии ежедневно назначали 400 мг итраконазола в течение одной недели в месяц и так – 6 месяцев (пульс-терапия). После проведенного лечения больной клинически выздоровел, однако, к сожалению, в феврале 2009 г. ногти на больших пальцах вновь «заболели» – в ногтевых пластинах обнаружили *A. persii*. На предложение начать вторую лечебную попытку пациент отказался.

Очевидно, что в каждом из приведенных случаев возможны 4 объяснения: 1) выражено торпидное (вялое) течение окончательно недолеченного заболевания (онихомикоза); 2) долговременно отсрочен-

ный рецидив за счёт ослабленных, но до конца не убитых, особей патогена в оставшейся, кажущейся здоровой, ногтевой пластине; 3) повторное заражение ногтя(-ей) за счёт контакта пациентов; в этом(-их) случае(-ях) необходимо проведение тщательного исследования эпидемиологической ситуации (первоисточником патогена может быть домашняя обувь (!?); 4) неадекватность выбора антимикотика. Штаммы *A. persii* – изоляты (1) от 1999 г (от пациентки – женщины в возрасте 61 г.) и (2) от 2006 г. (от пациента-мужчины 56 лет) проверены на чувствительность к антимикотикам [3] (таблица 1).

Таблица 1

Чувствительность *A. persii* к ряду антимикотиков

<i>A. persii</i> №	МИК (мкл/мл) M38A2/YeastOne						МИК (мкл/мл) M38A2 TERB
	Am	FZ	IZ	VZ	POS	CAS*	
1	8/8	>256/>256	0,5/1	1/0,5	0,5/1	>16/>16	0,5
2	16/8	>256/>256	1/1	0,5/0,5	1/1	>16/>16	1

Примечание:\* МЕС(мкл/мл) M38A2/MIC(мкл/мл) YeastOne.

Am = амфотерицин В; FZ = флуконазол, IZ = итраконазол; VZ = вориконазол; POS = позаконазол; CAS = каспифунгин; TERB = тербинафин; M38A2 = CLSI документ; YeastOne \*Sensititre метод.

Как следует из таблицы, оба штамма *A. persii* были чувствительны к вориконазолу, итраконазолу, позаконазолу и тербинафину с небольшим различием между двумя применёнными методами – микроразведения в бульоне (Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Filamentous Fungi. Approved Standard, 21nd ed. M-38-A2.V.28, #16.Wayne, IN: National Committee Laboratory Standards, 2002) в соответствии с документом CLSIM38-A2, используя питательную среду RPMI 1640 с добавлением 2% глюкозы, и метод *Sensititre Yeast One* панель (*Trek Diagnostic Systems*). Инкубирование разведений и панели проводили при 35 °С с учётом результатов через 2 и 3 суток. Из названного ряда препаратов «выпадают» по активности флуконазол и каспифунгин; первый из них в достаточно большой концентрации ингибировал рост *A. persii* лишь на 50%, а минимальная эффективная концентрация (МЭК) каспифунгина была определена как самая малая, при которой всё же был отмечен аномальный рост тестируемого микромицета. Контролями в данных экспериментах (метод микроразведения) служили *Aspergillus flavus* ATCC и *A. fumigatus* ATCC 204305. Результаты с ними оказались в пределах, отмеченных и рекомендованных. Frisvad J.C., Frank J.M. с коллегами [3] прибегнули к **кладистике, или филогенетической реконструкции**, то есть методу систематики, нацеленному на воспроизведение генеалогического происхождения организмов посредством объективного и воспроизводимого анализа, а из этого образца предложить искусственную гипотезу естественной классификации, или филогении. Она основывается на трёх следую-

щих фундаментальных предположениях:

1) таксоны объединяют в естественные группы на основании долевого участия в производимых характеристиках (**синаноморфии**);

2) все признанные группы должны происходить из единого предшественника (например, они являются монофилетическими), и что самый **парсимонийный** образец, требующийся, по крайней мере, в ряду ступеней для доказательства родства таксонов, является, очевидно, одним из самых корректных;

3) группы, определённые при использовании доли примитивных (первобытных) характеристик (**simplesiomorphies**), очевидно, должны быть парафилетическими и, таким образом, не включают всех потомков предка. Авторы использовали второй метод – парсимонийного анализа последовательных данных, ограниченных до 500 равных более парсимонийных древ (МРТ= *most parsimonious trees*), один из которых показан в филограмме (Рис. 5). Древо закоренено на *Aspergillus flavus*.

*A. tanneri* – возбудитель хронического гранулематозного инвазивного заболевания, впервые описанного группой исследователей из США [6]. Видовой эпитет «*tanneri*» авторы дали с позволения семьи второго пациента, страдавшего и погибшего от ХГ, инфицированного штаммом NIH1004, и выделенного из легочного биоптата; другой штамм NIH1005 был изолирован из гнойного свища в желудке первого пациента. И, если в 2007 г. в роде *Aspergillus* насчитывали 200 видов, то в последние 6 лет к ним добавили ещё 2 вида, отнесенных к секции *Circumdata*. С 1981 г. и до настоящего времени всего описано 10 видов аспергиллов как возбудителей инвазивного хронического гранулематозного заболевания, и во всех таких случаях исходы для пациентов оказались летальными. Такими видами стали: *A. calidoustus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. quadrilineatus* (*Emericella quadrilineatus*), *A. tanneri*, *A. terreus*, *A. udogawae* (*Neosartorya udogawae*) и *A. viridimutans*.

Применительно к *A. tanneri*, культуры были изолированы от двух пациентов, наблюдаемых согласно протоколам, одобренным Советом Национального института аллергии и инфекционных заболеваний в составе NIH (национальные институты здравоохранения в г. Бетезда, США).

**Первый пациент** – юноша 17 лет, у которого с семимесячного возраста выявили остеомиелит, индуцированный *Staphylococcus aureus* (сплайсинговая мутация экзона 6, отсутствие продукции супероксида). Пациента профилактически поддерживали антибиотиками и  $\gamma$ -интерфероном.

В восемь лет он перенёс бактериемию *Klebsiella* sp. после аппендэктомии. Позже, в возрасте 12, 13 и 15 лет, страдал от рекуррентной пневмонии, «отвечающей» на эмпирическое лечение антибиотиками. В 16 лет у пациента была диагностирована грибковая пневмония с плевральной эффузией (излиянием), медиастинальным абсцессом и сдвигом к печени и селезёнке. Удаление абсцесса из печени и спленэк-

томию сопровождали агрессивным лечением АмфВ, итраконазолом, вориконазолом и каспоfungином. Кроме того, были проведены трансфузии гамма-интерферона и гранулоцитов. Несмотря на интенсивную терапию, инфекция прогрессировала и диссеминировала дальше. Лихорадка, нарушение дыхания и эдема (отёк) достигали высшей точки в респираторной недостаточности, связанной с массивной лёгочной инфекцией. Изоляты грибов из биоптатов лёгких, печени, селезёнки и фистул желудка, а также БАЛ (бронхоальвеолярного лаважа) выделяли идентичные колонии неспорулирующей белой плесени. При аутопсии показаны неисчислимы абсцессы в лёгких, печени, средостении, брюшной полости, с множественными адгезиями, интенсивными воспалительными инфильтратами и некрозом. GMS (Гомори метенамин серебра) – окрашиванием тканевых секций показаны септированные пряди гиф с ветвлением или без него.

**Второй пациент** – юноша 19 лет был с диагностированным хроническим гранулематозным заболеванием (ХГЗ) в двухмесячном возрасте (большой интерстициальный пробел целых СУВ и ХК генов, дающий выход фенотипа McLeod'a, отсутствие продукции супероксида).

В возрасте двух лет он получал противотуберкулёзные лекарства для лечения медиастинальной аденопатии и предполагаемого туберкулёза.

В восьмилетнем возрасте он предстал с пневмонией правой верхней доли, в которой рос *Phaeoacremonium inflatipes*, который отвечал на лечение АмфВ и итраконазолом.

В возрасте 13 лет ему потребовались расширение мочеочника и замена резинового стента. Он также имел цервикальную аденопатию, обусловленную *Serratia marcescens*.

В возрасте 17 лет у пациента была выявлена пневмония правой верхней доли вследствие гемоптитизиса (кровохаркания из дыхательных путей), в течение которого он получал вориконазол с постепенным рентгенографическим улучшением.

В 18 лет, ещё во время лечения вориконазолом, у него был новый эпизод пневмонии, который сопровождался дополнительным лечением широкого спектра антибиотиками. Однако продолжались кашель, перемежающееся кровохаркание, потеря веса и лихорадка. Было добавлено лечение позаконазолом. Из БАЛ выделяли культуру (штамм) белой плесени, напоминающую таковую, изолированную от первого пациента. Микафунгин, амбизом, вориконазол, тербинафин и альбендазол были добавлены к лечебному режиму без устойчивого успеха. Чтобы смягчить серьёзные лёгочные ограничения на функцию лёгких посчитали своевременной обширную инфильтрацию, наблюдаемую при компьютерной томографии (КТ). В образце лёгочной ткани, взятом через игольную биопсию, выростала та же плесень, которую изолировали из БАЛ. Пробное лечение внутривенно вводимым пентамидином, базируясь на

его активности на модели фузариоза у мышей [7], сопровождалось временно изменяющимся ментальным статусом. Образцы биоштатов лёгких и грудной стенки содержали многочисленные гифы.

**Экспериментальная инфекция.** Опыты были проведены с одобрения и досмотром со стороны специального комитета при US NIH. Вирулентность *A. tanneri* NIH 1004 сравнивали с вирулентностью *A. fumigatus* штамм В-5233 на двух ХГЗ моделях у мышей, заражаемых свежесобранными конидиями путём фарингеальной (глоточной) аспирации [8]. ХГЗ-дефицитные мыши получали  $2 \cdot 10^4$  и  $5 \cdot 10^3$  КОЕ/мышь соответственно. Эти концентрации инокулюма вызывали смертность до 80% и 100% в течение 10-15 суток ХГЗ-мышей, заражённых *A. fumigatus* В-5233. Сроки выживания мониторировали до 80 суток после заражения. Данные выживания анализировали, используя long-ранг-тест. Лёгкие мышей подвергали гистопатологическому изучению в окрашенном гематоксилин-эозином и по Гомори (GMS метенамином серебра) состоянии.

Изоляты *A. tanneri* NIH 1004 и NIH 1005 были переданы в Agricultural Research Culture Collection Peoria (Illinois) под доступными номерами NRRL 62425 и NRRL 62426 соответственно. Голотип NIH 1005 (NRRL 62426) – высушенная колония, выращенная на агаре Чапека с солодовым экстрактом (MEA – malt-extract agar), была передана в национальную коллекцию грибов (U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD) под доступным номером BPT882529.

ДНК-сиквенсы из NIH1004 переданы в GenBank под следующими доступными номерами: JN 853798, JN 896584, JN 896585 и JN 896586 для ITS (внутреннего транскрибируемого спейсера), Msm 7, RPB 2 Tasr1 соответственно. Морфология колоний показана на рисунке 6, а микроскопическая картина – на рис. 7.

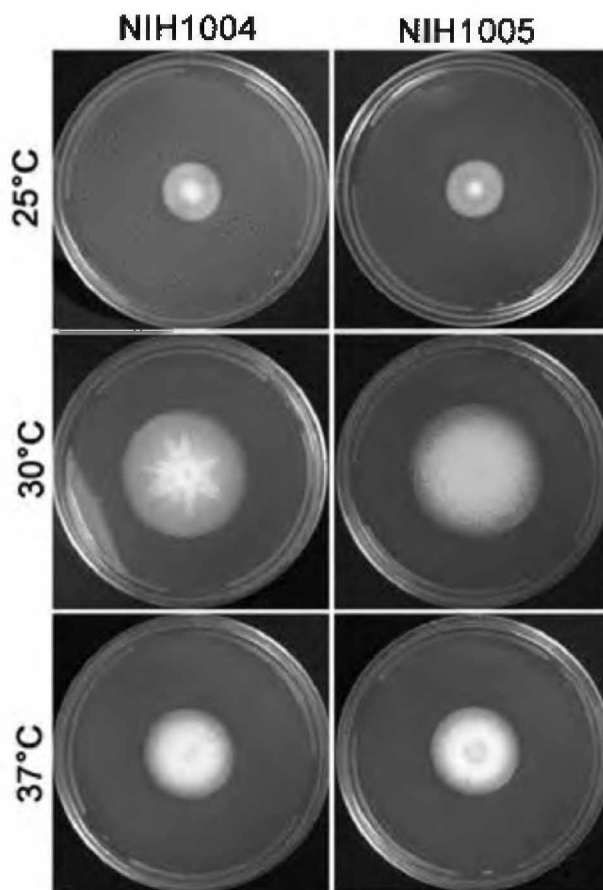


Рис. 6. Морфология колоний *A. tanneri* NIH1004 и NIH1005 на MEA-агаре через 2 недели роста и развития при +25 °C, +30 °C и +37 °C

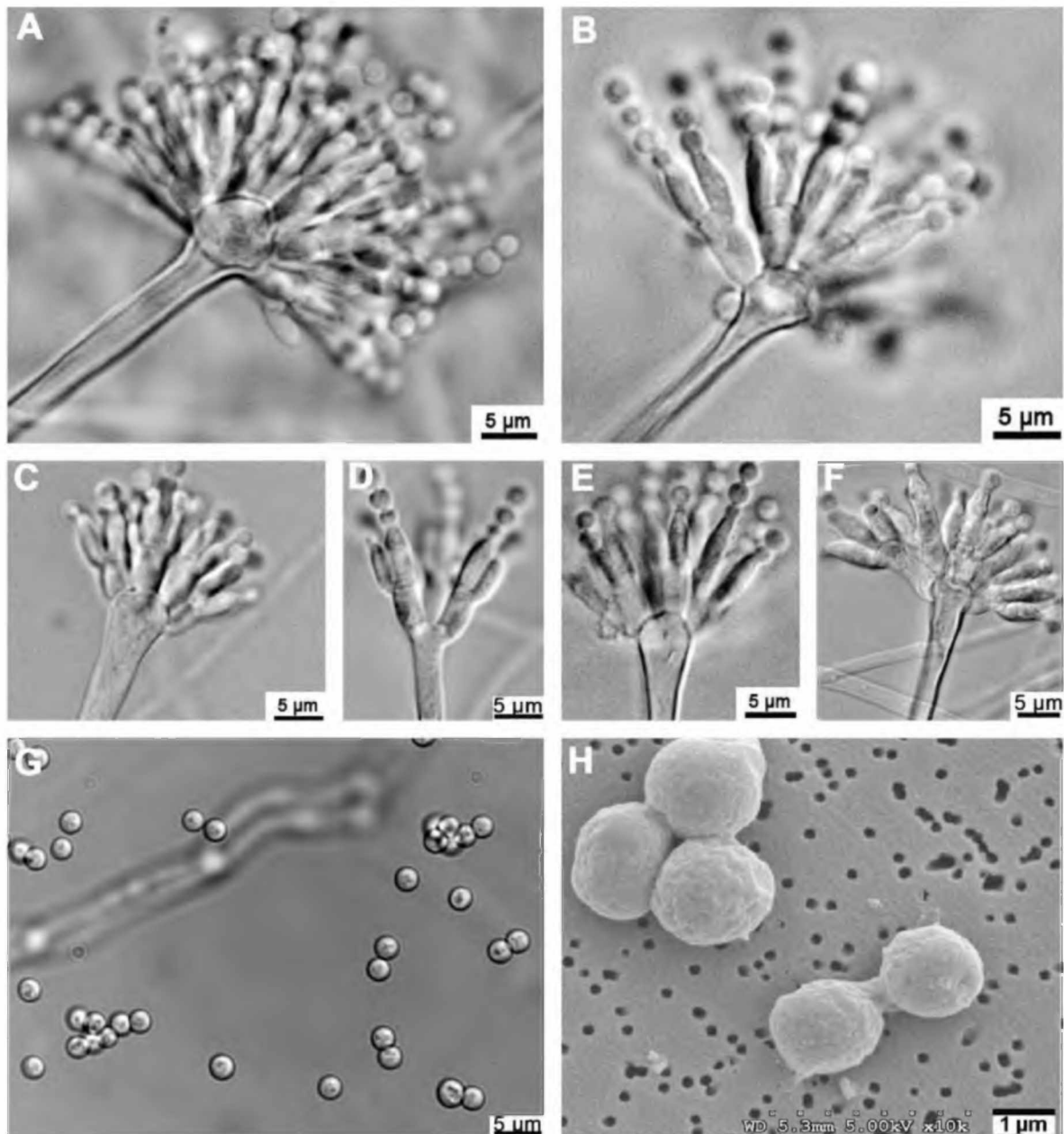


Рис. 7. Микроскопическая картина конидиеносцев и конидий *A. tanneri* N1H1004 и N1H1005. Конидиальные головки первого обозначены буквами А, С и D, а второго – В, Е и F на MEA агаре и на кукурузном агаре соответственно; шаровидные конидии с гладкими стенками в световом микроскопе обозначены в нижней части рисунка буквами G и H

**Характеристика нового вида *Aspergillus tanneri***

K.J. Kwon-Chung, J.A. Sugui and S.W. Peterson sp. nov.

Колонии белого цвета, растут медленно на агаре Чапека, достигая размера 1,5-2 см в диаметре за две недели роста и развития при +25 °С; от 4 до 4,5 см – при +30 °С и до 3 см – при +30 °С; субстратный мицелий тонкий и гиалиновый (по греч. *hyalos* – стекловидный). Колонии на MEA-агаре росли и развивались быстрее – достигали 2,9-3 см в диаметре за 2 недели при +25 °С, от 6 до 7 см – при +30 °С и 4-5 см – при +37 °С (см. рис 6). Субстратный мицелий возвышался, и колонии с возрастом становились слабо окрашенными в желтоватый цвет. Реверсная сторона колоний оставалась бесцветной. Конидиеносцы, редко формировались в темноте при +30 °С, но их образование повышалось с возрастом. Конидиенос-

цы гиалиновые, гладкие, длинные и тонкие, от 2 до 4 мкм в ширину, несущие гиалиновые, грушевидные или булавовидные головки, размером 5-7x7-10 мкм (см. рис. 7), метелы 1,5-3x4,8 мкм, покрывающие от половины до двух третей поверхности головки (см. на рис. 7 А, В, С, и D), каждый несущий две или более стеригм (фиалид), иногда становящимися септированными, размером 1-2x4 до 10 мкм (см. на рис. 7 от А до F). Конидии овальные, гиалиновые, гладкие, 2-3 мкм в диаметре (на рис. 7 G и H). Миниатюрные конидиальные головки без расширенной части кажутся по структуре почти пенициллоподобными (см. на рис. 7 D). Телеоморфу у *A. tanneri* не наблюдали. Филогенетическое древо *A. tanneri* в сравнении с *A. fumigatus* приведено на рис. 8.

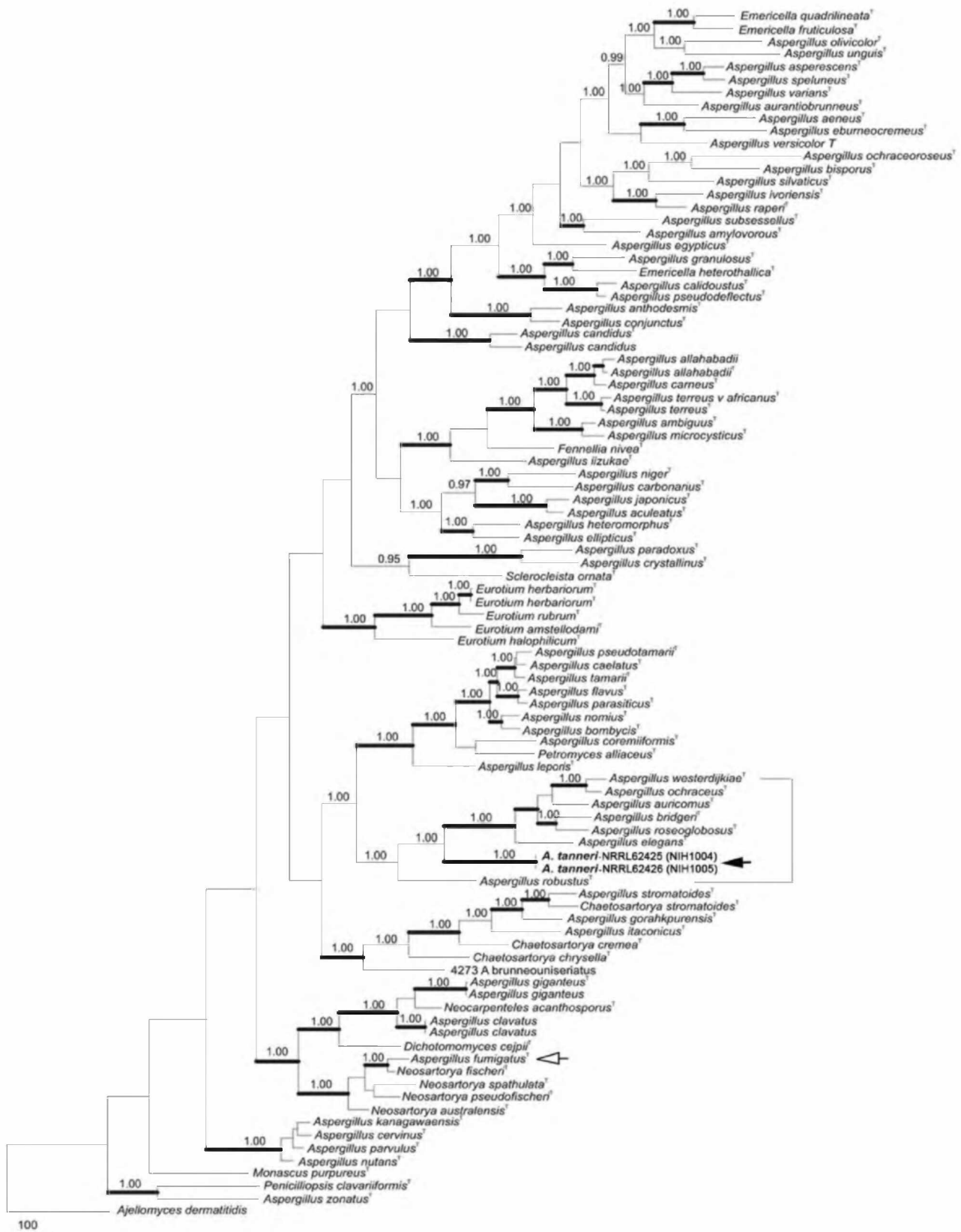


Рис. 8. Филогенетическое древо, выведенное из комбинированных Msc, RPB2 и Tsr1 данного набора. Тонкой стрелкой отмечен *A. fumigatus* (секция Fumigati), а темной – *A. tanneri* (секция Circumdati). Темные ветви соответствуют более чем 95% выгодному составу поддержки



### Чувствительность *Aspergillus tanneri* к антимикотикам.

Результаты определения чувствительности тест-культур *A. tanneri* и контрольных штаммов *A. fumigatus* представлены в таблице 2.

Таблица 2

### Чувствительность *A. fumigatus* и *A. tanneri* к вориконазолу, итраконазолу и амфотерицину В (АмфВ) in vitro методом микроразведения CLSi (M38-A2)

Штаммы	МИКа (мкг/мл)		
	Вориконазол	Итраконазол	АмфВ
<i>A. tanneri</i> (NIH 1005)	4	4	>16
<i>A. fumigatus</i> (В-5233)	1	1	2
<i>A. fumigatus</i> (AF-293)	2	1-4	2

Неудача с ответами обоих пациентов на агрессивное антифунгальное лечение стала основой предположения о том, что новый вид мог быть природоустойчивым к существующим антимикотикам. Чтобы определить высоко ли резистентен *A. tanneri* к противогрибковым препаратам, авторы сравнили значения МИК для вориконазола, итраконазола и АмфВ. Для выполнения Е-теста конидии в количестве  $3 \cdot 10^6$  на чашку Петри с агаризованной средой МЕА равномерно распределяли на поверхности среды, а тест-полоски были положены в центре перед инкубацией при  $+37^\circ\text{C}$  в течение 3 суток.

Для сравнения использовали также два референтных штамма *A. fumigatus*, широко применяемые для патобиологических исследований.

МИК для *A. tanneri* были значительно выше, чем к АмфВ и, вообще, к азоловым препаратам в сравнении с МИК для *A. fumigatus* (таблица 2). *A. tanneri* проявил интенсивный мицелиальный рост при содержании в среде 16 мкг/мл АмфВ.

Высокая устойчивость *A. tanneri* к антифунгальным препаратам была также подтверждена и в Е-тестах (Рис. 9).

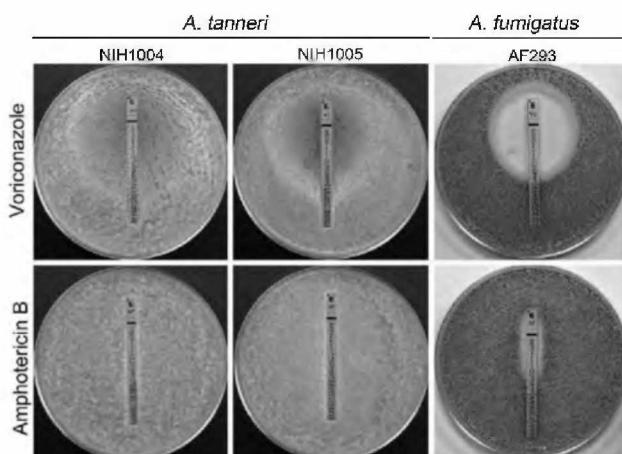


Рис.9. Чувствительность *A. tanneri* и *A. fumigatus* к вориконазолу и АмфВ по результатам Е-теста

При  $+37^\circ\text{C}$  в течение 72 часов *A. fumigatus* образовывал зелено-батиловую спорующую культуру, тогда как *A. tanneri* вырастал преимущественно в

виде тонкого белого цвета мицелия.

*A. fumigatus* штамм AF293 проявил большие светлые зоны задержки роста применительно к вориконазолу (МИК – 0,5 мкг/мл) и меньшую зону ингибирования роста для АмфВ (МИК – 1,5 мкг/мл). Напротив, зона задержки роста для вориконазола, также как и для АмфВ, отсутствовала на чашках Петри, засеянных *A. tanneri*.

Подобные результаты были получены со средой RPMI 1640. Е-тестами с позаконазолом и итраконазолом, выполненными на средах МЕА и RPMI 1640, показаны аналогичные данные высокой устойчивости *A. tanneri* в сравнении с *A. fumigatus*. Авторы полагают, что выявленные ими данные по высокой резистентности *A. tanneri* к антимикотикам могли способствовать получению неудачных результатов с терапией пациентов. Следует также отметить, что *A. tanneri* NIH 1004 и NIH 1005 не образуют охратоксины.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аспергиллы, в широком понимании рода *Aspergillus*, могут быть уникальными патогенами, являясь в то же время сапробами. Они колонизируют разные экотипы и обитают в природных регионах Земного Шара на всех материках. Однако есть виды, колонизирующие людей с иммунодефицитами, или иммунокомпрометированных лиц. Наиболее распространенным видом при этом оказывается *A. fumigatus*.

Достаточно сказать, что как возбудитель аспергиллёза он индуцирует более 200 000 случаев заболеваний среди населения Земного Шара.

К нему примкнули недавно открытые *A. persii* – возбудитель онихомикоза у людей (описанный итальянскими исследователями) и *A. tanneri*, рассмотренные в данной публикации. Из-за развивающегося туризма по всему миру не исключается завоз сравнительно редких патогенов и в нашу страну. В последнее десятилетие текущего века появляются работы, авторы которых пытаются связать особенности метаболизма (прежде всего – первичного обмена) болезнетворных аспергиллов и их патогенности (вирулентности); называют регуляцию утилизации потребляемого *A. fumigatus* азота; для проявления патогенности у некоторых мутантов *Aspergillus* sp. строго необходима пара-аминобензойная кислота (ПАБК) и др. [8]. При изучении аспергиллов-патогенов следует быть крайне внимательным к их видовой дифференциации и индикации, а экспериментаторам – стремиться привлечь и ауксотрофные виды к оценке их патогенности, равно как и особенности генома каждого вида или штамма.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Zotti M, Machetti M, Perotti M, et al. A new species *Aspergillus persii* as an agent of onychomycosis // Medical Mycology. – 2010. – Vol. 48. – P. 656-660.
2. Bonifaz A., Cruz-Agular P, Ponce R.M. Onychomycosis by moulds // Eur. J. Dermatol. – 2007. – Vol. 17. – P. 70-72.
3. Frisvad J.C., Frank J.M., Houbraken J.A.M., et al. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati* // Stud. Mycol. – 2004. – Vol. 50. – P. 23-43.
4. Gupta M., Sharma L.N., Kanga A.K., et al. Onychomycosis: clinic-mycologic study of 130 patients from Himachal Pradesh, India // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. – 2007. – Vol. 73. – P. 389-392.
5. Romano C., Cianni C., Difonzo E.M. Retrospective study onychomycosis in Italy: 1985-2000 // Mycoses. – 2005. – Vol. 48. – P. 42-44.
6. Sugui J.A., Peterson S.W., Clark L.C., et al. *Aspergillus tanneri* sp. nov., a new pathogen that cause invasive disease refractory to antifungal therapy // J. Clin. Microbiol. – 2012. – Vol. 50, №10. – P. 3309-3317.
7. Rao G.V., et al. Efficacy of a technique for exposing the mouse lung to particles aspirated from the pharynx// J. Toxicol. Environ. Health A. – 2003. – Vol. 66. – P. 1441-1452.
8. Krappmann S. and Braus G.H. Nitrogen metabolism of *Aspergillus* and its role in pathogenicity // Med. Mycology Supplement. – 2005. – Vol. 43. – P. 531-540.

Поступила в редакцию журнала 02.06.2014

Рецензент: Степанова А.А.

