

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

Патогенні гриби

Методичні вказівки
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»

Затверджено
вченою радою ХНМУ
Протокол № 12 від 20.10.2016.

Харків
ХНМУ
2016

Патогенні гриби: метод. вказ. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою» для студентів-бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю «Лабораторна діагностика» / упоряд. В. В. Мінухін, Т. М. Замазій, Н. І. Коваленко. – Харків : ХНМУ, 2016. – 76 с.

Упорядники В. В. Мінухін,
 Т. М. Замазій,
 Н. І. Коваленко.

Тема: Морфологічна характеристика грибів

Кількість годин: 2

Обґрунтування теми. Медична мікологія до теперішнього часу залишається в тіні бактеріології і вірусології, проте грибкові ураження відносяться до числа найбільш поширених інфекцій людини.

За даними ВООЗ, кожен п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожен десятий має виражені клінічні прояви. Цьому значною мірою сприяли соціальні, медичні та фармакологічні фактори. Це погіршення санітарно-просвітницької роботи, розширення мережі послуг для населення, таких як басейни, сауни, косметологічні кабінети, що за умови недотримання відповідних санітарних норм можуть бути вогнищами інфекції, а також певні проблеми в лікуванні хворих на грибкові захворювання із соціально несприятливих прошарків населення. До медичних факторів можна віднести загальне погіршення показників імунітету серед населення, використання інвазивних методів діагностики, зростання кількості випадків захворювань, що часто супроводжуються грибковими інфекціями (цукровий діабет, онкологічні захворювання, ВІЛ-інфекція). Серед лікувальних чинників провідна роль належить застосуванню антибіотиків широкого спектра дії, використанню імуносупресивних препаратів при трансплантації органів. Не останнє місце посідають і недоліки існуючих препаратів, такі як недостатня клінічна ефективність, токсичність, побічні ефекти.

Мета:

– Загальна: оволодіти мікробіологічною діагностикою хвороб, спричинених патогенними грибами.

– Конкретна:

а) знати:

– правила безпеки при роботі з біологічним матеріалом (Державні санітарні правила – ДСП 9.9.5.03599).

б) вміти:

1. Підготувати робоче місце лаборанта.

2. Дотримуватися правил роботи і техніки безпеки з інфікованим матеріалом, культурами мікроорганізмів, апаратурою.

3. Відбирати та транспортувати матеріал для дослідження при підозрі на інфекцію, обумовлену патогенними грибами.

4. Готувати матеріал, який надійшов від хворого з підозрою на мікоз.

5. Досліджувати матеріал за допомогою методів, призначених для виявлення грибів.

6. Давати оцінку результатам дослідження та заповнювати відповідну лабораторну документацію.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: музейні мікропрепарати, мікроскоп, імерсійне масло, таблиці, атлас.

Зміст заняття

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ

Гриби належать до царства *Fungi* або *Mycota* (*Mycetes*). Нещодавно гриби і найпростіші були розділені на самостійні царства: *Eumycota* (справжні гриби), *Chromista* і *Protozoa*. Деякі мікроорганізми, які раніше вважалися грибами або найпростішими, були переміщені в нове царство *Chromista* (хромовики). Царство грибів *Eumycota* містить чотири типи (*Phylum*) справжніх грибів, які мають медичне значення: *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* та *Deiteromycota*. Не мають медичного значення хітридіоміцети (тип *Chytridiomycota*) – водні сапрофітні гриби, які вражають водорості. Раніше їх відносили до грибів ооміцетів (організми, споріднені з водоростями, паразити вищих рослин), тепер відносять до царства *Chromista* (*Stramenopila*), типу *Oomycota*.

У життєвому циклі грибів представлені дві фази: статева (репродуктивна) – **телиоморфна** і безстатева (вегетативна) – **анаморфна**, яка утворює структури безстатевого розмноження (спорангіоспори, конідії). Анаморфи і теліоморфи грибів є етапами розвитку одного і того ж вегетативного тіла, які можуть відрізнитися або не відрізнитися один від одного за плідністю. Явище чергування анаморфи і теліоморфи в життєвому циклі грибів отримало назву плеоморфізму, а гриби, для яких характерне таке чергування, названі плеоморфними. Такими є багато патогенних *Ascomycota*.

Тіло гриба називається "талом". У вегетативній фазі талом складається з розгалужених ниток – гіф та їх сукупності – міцелію.

До анаморфних грибів належить більшість патогенних *Ascomycota* (*Aspergillus*, *Epidermophyton*, *Exophiala*, *Fonsecea*, *Fusarium*, *Microsporum*, *Trichophyton* та ін.), а також деякі *Basidiomycota* (*Cryptococcus*, *Malassezia*). Теліоморфа у цих організмів виявлена при культивуванні на поживних середовищах (іноді – з використанням генетичних методів) або не встановлена зовсім. Таким чином, ідентифікація патогенних грибів практично завжди базується на вивченні безстатевого спороносіння.

Основні групи грибів (у клінічній мікології):

• **Цвілеподібні (гіфальні)** здатні утворювати тонкі, розгалужені гіфи, які сплітаються в грибицю (міцелій) (*рис. 1*).

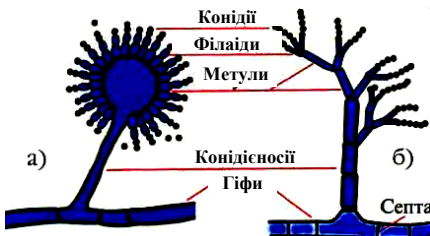


Рис. 1. Гіфальні гриби:
а) роду *Aspergillus*;
б) роду *Penicillium*

Гіфи можуть бути:

- вегетативні;
- повітряні або репродуктивні.

Гіфальні гриби, або гіфоміцети, складаються з тонких гіфів завтовшки 2–50 мкм, які сплітаються в міцелій (цвіль). Розрізняють демацієві (пігментовані – коричневі або чорні) і гіалінові (непігментовані) гіфоміцети. Гіфи, що врастають у живильний субстрат, відповідають за харчування гриба і називаються вегетативними гіфами. Гіфи, які ростуть над поверхнею субстрату, називаються повітряними або репродуктивними гіфами (відповідають за розмноження). Колонії через повітряний міцелій мають пухнастий вигляд (рис. 2). Розрізняють нижчі і вищі гриби: гіфи вищих грибів розділені перегородками, або септами з отворами. Гіфи нижчих грибів не мають перегородок, являючи собою багатоядерні клітини, які називають ценоцитними (від грец. *koinos* – єдиний, загальний).



Рис. 2. Колонії цвілевих грибів

Кожна гіфа є функціонально повноцінним фрагментом грибної клітини: вона містить протопласт з одним або багатьма ядрами, покрита цитоплазматичною мембраною і захищена клітинною стінкою.

• **Дріжджові гриби (дріжджі)** – одноклітинні гриби (аскоміцети, базидіоміцети). Дріжджовий талом утворюється в результаті дегенерації міцелію. У ході цього процесу кожен новоутворений фрагмент міцелію, який відділяється септою від материнської клітини, відокремлюється і далі функціонує як самостійний одноклітинний організм.

Дріжджові гриби (дріжджі) в основному представлені окремими овальними клітинами діаметром 3–15 мкм (рис. 3), і колонії, на відміну від гіфальних грибів, мають компактний вид (рис. 4).

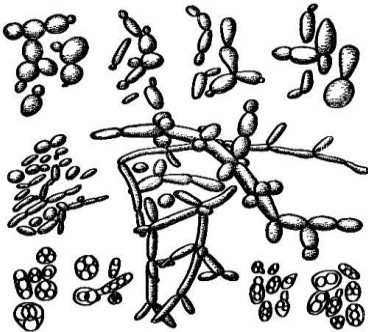


Рис. 3. Дріжджові гриби

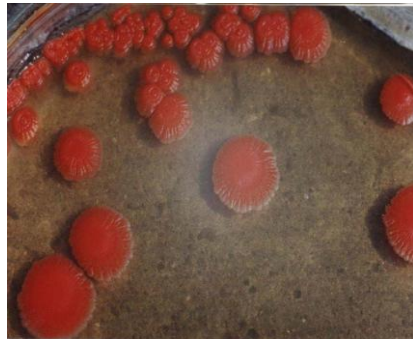


Рис. 4. Колонії дріжджових грибів

За типом статевого розмноження вони розподілені серед вищих грибів – аскоміцетів і базидіомицетів. При безстатевому розмноженні дріжджі утворюють бруньки або діляться. Можуть утворювати псевдогіфи і несправжній міцелій (псевдоміцелій) у вигляді ланцюжків подовжених клітин «сардельок» (рис. 3). Псевдоміцелій є різновидом дріжджового талому і утворений системою дріжджоподібних клітин, з'єднаних між собою клітинними стінками. Протопласти клітин при цьому повністю відокремлені один від одного, проте структурний взаємозв'язок між клітинами зберігається. Псевдоміцелій спостерігається в деяких умовах у представників *Ascomycota* (патогенний рід *Candida*) і *Basidiomycota* (*Ustilago*).

Гриби, аналогічні дріжджам, але які не мають статевого способу розмноження, називають дріжджоподібними. Вони розмножуються тільки безстатевим способом – брунькуванням або поділом. Поняття «дріжджоподібні гриби» часто ідентифікують із поняттям «дріжджі». До дріжджоподібних грибів відносять *Candida albicans* (рис. 5).

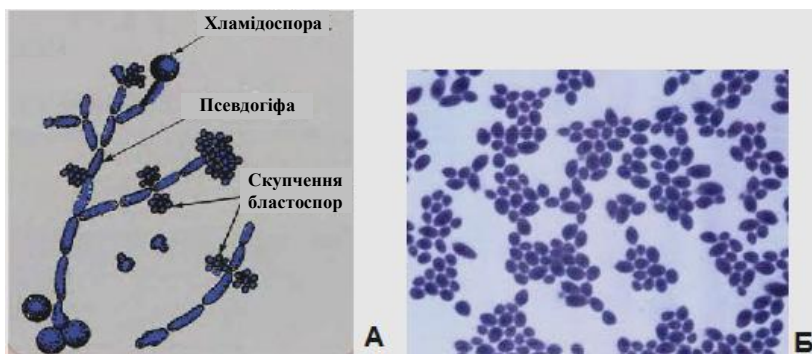


Рис. 5. *Candida albicans*: А – псевдоміцелій, Б – клітини, які брунькуються

Багато грибів характеризується диморфізмом – здатністю до гіфального (міцеліальні) або дріжджоподібного росту залежно від умов культивування. В інфікованому організмі вони ростуть у вигляді дріжджоподібних клітин (дріжджова фаза), а на поживних середовищах утворюють гіфи і міцелій (рис. 6). Диморфізм пов'язаний з температурним фактором: при кімнатній температурі утворюється міцелій, а при 37 °С (температура тіла людини) – дріжджоподібні клітини.

Диморфні гриби можуть існувати в тканинній і культуральній формі. Виділяють три види диморфізму:

- який супроводжується різноманітністю тканинних форм і постійністю культуральних (збудник кокцидіодозу);
- який супроводжується різноманітністю культуральної фази (велика частина диморфних грибів);
- у яких культуральна і тканинна форми збігаються (збудники цвілі, кандидозу, криптококозу).



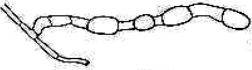



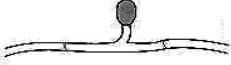

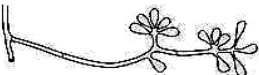

Гриби	У культурі (25 °С)	У тканині (37 °С)
Blastomyces		
Coccidioides		
Histoplasma		
Paracoccidioides		
Sporothrix		

Рис. 6. Схематичне зображення культуральної та інвазивної форм патогенних грибів

Гриби, які мають медичне значення

• **Досконалі** (мають статевий спосіб розмноження):

- зигоміцети – *Zygomycota*;
- аскоміцети – *Ascomycota*;
- базидіоміцети – *Basidiomycota*.

• **Недосконалі** (мають тільки безстатевий спосіб розмноження):
дейтероміцети – *Deuteromycota*.

Патогенні та умовно-патогенні гриби

Дріжджові: *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Geotrichum candidum*, *Rhodotorula spp.*, *Trichosporon spp.*, *Pneumocystis carinii*.

Диморфні: *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Blastoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffei*, *Sporothrix schenckii*.

Дерматоміцети: *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Exophiala werneckii*, *Pedraia hortae*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton Omentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton violaceum*.

Зигоміцети: *Absidia corymbifera*, *Basidiobolus ranarum*, *Conidiobolus coronatus*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Mucor spp.*, *Rhizomucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Saksenaea vasiformis*.

Збудники міцетомі: *Acremonium spp.*, *Curvularia spp.*, *Madurella grisea*, *Pseudallescheria boydii*.

Монілієві (непігментовані) гіфоміцети: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Scopulariopsis spp.*

Демацієві (непігментовані) гіфоміцети: Alternaria spp., Bipolaris spp., Cladosporium spp., Curvularia spp., Fonsecaea spp., Phialophora spp., Phoma spp., Exophiala dermatitidis.

МОРФОЛОГІЯ ГРИБІВ

Гриби – багатоклітинні або одноклітинні нефотосинтезуючі (без-хлорофільні) еукаріотичні мікроорганізми з товстою клітинною стінкою (рис. 7). Вони мають ядро з ядерною оболонкою, цитоплазму з органелами, цитоплазматичну мембрану і багат шарову ригідну клітинну стінку, яка складається з декількох типів полісахаридів (манани, глюкани, целюлози, хітину), а також білка, ліпідів та ін. Деякі гриби утворюють капсулу. Цитоплазматична мембрана містить глікопротеїни, фосфоліпіди і ергостероли (на відміну від холестерину – головного стеролу тканин ссавців).



Рис. 7. Будова клітини гриба

Більшість грибів – облігатні або факультативні аероби. Гриби широко розповсюджені в природі, особливо в ґрунті. Деякі гриби сприяють виробництву хліба, сиру, молочнокислих продуктів і алкоголю. Інші гриби продукують антимікробні антибіотики (наприклад, пеніцилін), імунодепресивні ліки (наприклад, циклоспорин). Гриби використовують генетики і молекулярні біологи для моделювання різних процесів. Фітопатогенні гриби завдають значної шкоди сільському господарству, викликаючи грибкові хвороби злакових рослин і зерна. Інфекції, які спричиняються грибами, називаються мікозами.

Клітини грибів покриті щільною клітинною оболонкою, що складається з полісахаридів, близьких до целюлози, і азотистих речовин, подібних до хітину. У більшості грибів вегетативне тіло (міцелій) складається з системи тонких розгалужених ниток, що називаються гіфами. Переплітаючись, міцелій утворює грибницю. Гіфи здатні рости в довжину і розвиваються на поверхні або всередині живильного субстрату. Відповідно розрізняють міцелій субстратний (вегетативний), який росте в живильне середовище, і повітряний. Кінці ниток міцелію можуть бути закручені у вигляді спіралей, завитків та ін.

Гриби розмножуються статевим або безстатевим способом. Статеве розмноження грибів відбувається з утворенням гамет, статевих спор і інших статевих форм. Статеві форми називаються телеоморфами.

При утворенні статевих спор має місце мейоз, а конідії є нестатевими репродуктивними органами. Статеві стадії виявлено у багатьох патогенних грибів, що належать до класів *Ascomycetes* і *Zygomycetes*. В інших патогенних грибів, які належать до дейтероміцетів, статеві форми розмноження не виявлені. У грибів, що мають медичне значення, існують такі різновиди статевих спор:

а) зигоспори – у деяких зигоміцетів верхівки розташованих близько один до одного гіф зливаються, відбувається мейоз, і утворюються великі зигоспори з товстими стінками (рис. 8, а);

б) аскоспори – в спеціальних клітинах, які називаються асками (сумками), у яких стався мейоз, утворюється 4–8, іноді 16 і більше спор, розміри, форма і поверхня яких можуть бути дуже різними у різних видів грибів (рис. 8, б);

в) базидіоспори – після мейозу на поверхні особливої клітини, яка називається базидіум, на вершині кожної з чотирьох стеригм розвивається по одній круглій або трохи подовженій базидіоспорі різних розмірів (рис. 8, в).

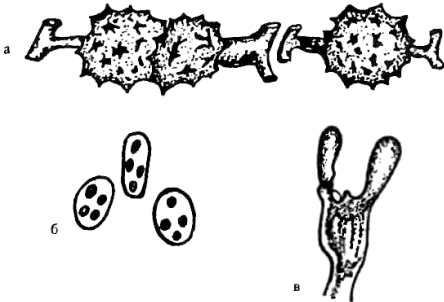


Рис. 8. Статеві спори грибів:

а – зигоспори;

б – аскоспори;

в – базидіоспори

Безстатеве розмноження грибів відбувається з утворенням відповідних форм, які називаються анаморфами. Таке розмноження відбувається брунькуванням, фрагментацією гіфа, безстатевими спорами. Ендогенні спори (спорангіоспори) дозрівають усередині спеціалізованої ділянки міцелію округлої форми – спорангію. У більшості грибів спорангії є здуття верхівки гіфи, відокремлені від неї септою. У ході спороутворення протопласт спорангія багаторазово ділиться, розпадаючись на сотні й тисячі спор. Потім спори залишають спорангій через отвори в його оболонці (кришечки, тріщини, пори), або при руйнуванні останньої. Екзогенні спори (конідії) формуються на кінчиках плодоносних гіфів, так званих конідієносців (рис. 9).

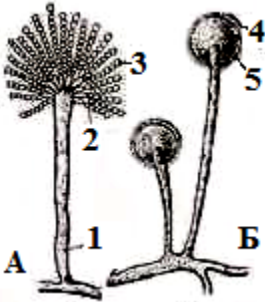


Рис. 9. Органи безстатевого розмноження грибів:

- А – конідії; Б – спорангії;
 1 – конідіеносець; 2 – стеригми;
 3 – конідіоспори; 4 – спорангій;
 5 – спорангіоспори

До безстатевих форм грибів відносять також хламідоконідії, або хламідоспори (товстостінні великі клітини, які перебувають у спокої, або комплекс дрібних клітин).

У більшості грибів, що мають медичне значення, виявляються різноманітні конідії (або екзоспори), що є формами нестатевого розмноження. Якщо у гриба не відомі статеві стадії, класифікація ґрунтується на морфологічних особливостях конідій. Вони можуть утворюватися на спеціальних конідіофорах (конідіеносцях) з боків або на кінцях звичайних неспеціалізованих гіфів або з гіфальних клітин. В одній і тій же колонії гриба може відбуватися утворення декількох типів конідій; у цьому випадку дрібні одноклітинні конідії називаються мікроконідіями, а великі, часто багатоклітинні, – макроконідіями.

Найбільш частими типами конідій є такі види спор:

а) бластоспори – прості структури, які утворюються в результаті брунькування, з подальшим відділенням бруньки від батьківської клітини, наприклад у дріжджових і дріжджоподібних грибів (*рис. 10, а*);

б) хламідоспори – гіфальні клітини збільшуються, у них утворюється товста оболонка; ці структури високостійкі до дії несприятливих факторів зовнішнього середовища і проростають, коли умови стають більш сприятливими (*рис. 10, б*);

в) артроспори – структури, які утворюються в результаті фрагментації гіф на окремі клітини (*рис. 10, в*). Зустрічаються у дріжджоподібних грибів, збудника кокцидіозу, тканинних форм дерматофітів у волоссі, шкірних лусочках і в нігтях;

г) конідіоспори – зрілі зовнішні спори – утворюються на міцелії і не є наслідком перетворення будь-яких інших клітин грибниці; вони або виникають на диференційованих конідіофорах, що відрізняються від інших ниток грибниці за розмірами і формою – аспергіл, пеніцил (*рис. 10, з, д*), або розташовуються з боків і на кінцях будь-якої гілки міцелію, та прикріплені до неї безпосередньо або тонкою ніжною (*рис. 10, е*).

Алейрії (*рис. 10, ж*) відрізняються від звичайних конідій тим, що при їх утворенні протоплазма відповідних ниток цілком йде на формуван-

ня спори, від міцелію залишаються нежиттєздатні фрагменти. З великою кількістю алейрій пов'язаний мучнистий характер культур дерматофітів на щільних середовищах.

До ендоспор досконалих грибів відносяться спорангіоспори мукових грибів; вони розвиваються в спеціальних органах, розташованих на вершині спорангієносця. Спори звільняються при розриві стінки спорангія і, потрапляючи в сприятливі умови, проростають та дають грибниці з відповідними органами спороношення (рис. 10, з). Ендоспори виявляються також у тканинних форм збудників кокцидіозу і риноспоридіозу. Вони розвиваються в круглих утвореннях – сферулах. У процесі дозрівання останніх у них розвиваються численні округлі або яйцеподібні тонкостінні ендоспори (рис. 10, і). При розриві стінки зрілої сферули ендоспори звільняються і, потрапляючи в сприятливі умови, повторюють життєвий цикл, поступово перетворюючись на зрілі сферули.

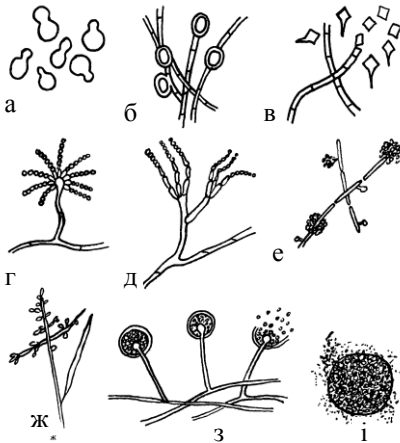


Рис. 10. Нестатеве розмноження грибів, морфологія спор:

- а – бластоспори;
- б – інтеркаларні (проміжні) і термінальні (кінцеві) хламідоспори;
- в – артроспори;
- г – конідії аспергіла;
- д – конідії пеніцила;
- е – конідії споротрихума;
- ж – алейрії;
- з – спорангії з ендоспорами у мукора;
- і – сферули кокцидіоїдного гриба

Наявність або відсутність конідій, їх розмір, форма і розташування використовуються для ідентифікації видів грибів у клінічному матеріалі (рис. 11).

Жоден з описаних вище морфологічних елементів не є абсолютно характерним для того чи іншого виду гриба, тому що в культурах різних грибів можна зустріти однакові клітинні форми, що розрізняються в деталях на різних етапах їх дозрівання. Комплексом різноманітних клітинних елементів визначається великий поліморфізм грибів у культурах на різних поживних середовищах. У паразитарному стані тканинні форми багатьох грибів дуже різко відрізняються від культуральних. Морфологічні риси тканинних форм більш одноманітні і більш характерні для збудників відповідних захворювань.

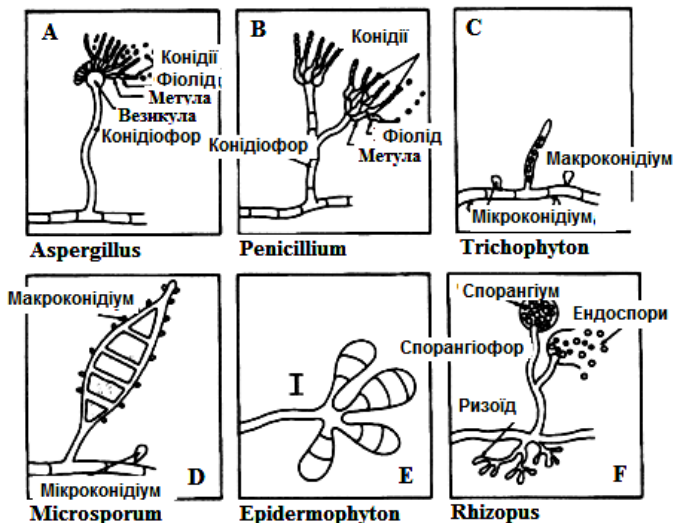


Рис. 11. Диференціація видів грибів у клінічному матеріалі:
 А. *Aspergillus*; В. *Penicillium*; С. *Trichophyton*; D. *Microsporium*;
 Е. *Epidermophyton*, F. *Rhizopus*.

ФІЗІОЛОГІЯ ПАТОГЕННИХ ГРИБІВ

Майже всі патогенні гриби – аероби: широке надходження кисню сприяє розвитку грибниці і накопиченню продуктів життєдіяльності. Для харчування грибів необхідні азотисті і вуглецевмісткі речовини (а також мінеральні сполуки), причому ці речовини можуть бути досить простими: амінокислоти, солі азоту, ди- і моносахари та ін. Цим пояснюється властивість багатьох патогенних грибів легко розвиватися в організмі людини і тварин, де збудник знаходить середовище, багате на джерела поживних речовин. Патогенні гриби здатні розмножуватися в діапазоні рН від 3,0 до 10,0; оптимальне значення рН 6,0–6,5. Оптимальна температура для розвитку міцеліальних форм 25–33 °С, для дріжджових і дріжджоподібних форм – 36–37 °С. Споруючі гриби сприяє зниження вологості живильного середовища і зменшений вміст у середовищі білків і вуглеводів.

Ферментативна активність патогенних грибів дуже різноманітна, інтенсивність її широко варіює як у різних грибів, так і в одного ж гриба в різних умовах існування. В одних грибів більш виражена протеолітична активність, в інших – сахаролітична, а у деяких – ліполітична. Одні гриби володіють великою низкою ферментів і засвоюють найрізноманітніші вуглеводи, інші, навпаки, здатні споживати лише дуже обмежений ряд азотистих речовин і вуглеводів. Різна і глибина розкладання поживних субстратів грибами: одні з них розкладають білки лише до амінокислот, інші – до аміаку і сірководню. Споживання вуглеводів одними

грибами супроводжується тільки утворенням органічних кислот, тоді як інші окислюють їх до води і вуглекислоти.

Вітаміни, деякі амінокислоти і мікроелементи для різних грибів є важливими факторами росту.

На рідких поживних середовищах багато грибів ростуть у вигляді повстяноподібного осаду, спочатку на дні, а потім у вигляді пристінкового кільця або суцільної плівки. За характером росту на щільних поживних середовищах колонії грибів поділяються на кілька типів (*рис. 12*):

1) шкірясті, гладкі, щільної консистенції, важко відокремлюються від поверхні середовища;

2) пухнасті, пухкі, ватоподібної консистенції, легко пригинаються до субстрату при дотику, з великими труднощами знімаються петлею;

3) бархатисто-ворсисті колонії, покриті дуже коротким густим міцелієм, що нагадує оксамит;

4) тендітні, плівчасті, за консистенцією нагадують ламкий картон, з дуже коротким газоном повітряного міцелію, густомучнисті при спороутворенні;

5) гіпсopodobно-мучнисті поверхневі колонії порошкоподібної консистенції; мучнистість суцільно або зірчастими вогнищами покриває колонію і легко відділяється від поверхні культури;

6) дрібнозернисті або горбисті, з шкірястою консистенцією, тісно спаяні з середовищем, нерідко з глибокими пагонами в середовище;

7) великогорбиста, з дуже крихкою консистенцією, легко відокремлюються від субстрату;

8) блискучі, сальні або матові, вершкоподібної консистенції, іноді слизо-тягучі, досить легко емульгуються в фізіологічному розчині.

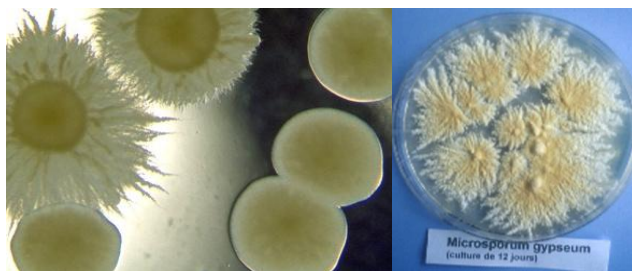
Багатьом патогенним грибам властиві різні відтінки в забарвленні повітряного міцелію, більш яскраво виражені на висоті споруляції. Велика різноманітність відтінків є у аспергілів, пеніцилів (*рис. 13*) і деяких дерматофітів. Поряд з яскравими білими, жовтими, коричневими, чорними, синіми, зеленими, червоними і малиновими культурами зустрічаються білувато-жовті, рожево-помаранчеві, золотисто-жовті, охряно-іржаві культури грибів.

Хімічна природа і розчинність пігментів різні. Одні з них розчиняються у воді, інші – в спирті, ацетоні, дихлоретані, чотирихлористому вуглеці. Водорозчинні пігменти досить швидко фарбують поживні субстрати у відповідні відтінки.

Чіткіше колір пігменту виявляється на кислих поживних середовищах з вуглеводами; стимулюють пігментоутворення інтенсивна аерація і додавання в середовище солей магнію, заліза, а для деяких грибів і солей літію. Тканинні форми грибів у патологічному матеріалі пофарбовані тільки у збудників хромомікозу та різних міцетом. Субстратний міцелій і

зворотна сторона колоній залишаються безбарвними або сірувато-жовтими, іноді спостерігаються більш темні відтінки.

Серед продуктів життєдіяльності і екстрактів з клітин деяких грибів виявлено речовини, що володіють токсичними властивостями. З ними пов'язано розчинення еритроцитів, ушкодження епітелію шкіри та її придатків і слизових, клітин різних органів. Багато грибів мають гіалуронідазну активність. Важливу патогенетичну роль відіграють полісахариди деяких дерматофітів у розвитку васкулітів, доведена токсичність деяких ліпідів з культур дріжджоподібних грибів.



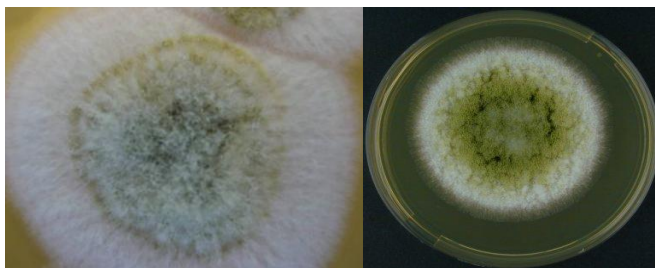
Candida albicans

Microsporum gypseum



Trichophyton rubrum

Epidermophyton floccosum



Aspergillus flavus

Рис. 12. Колонії грибів

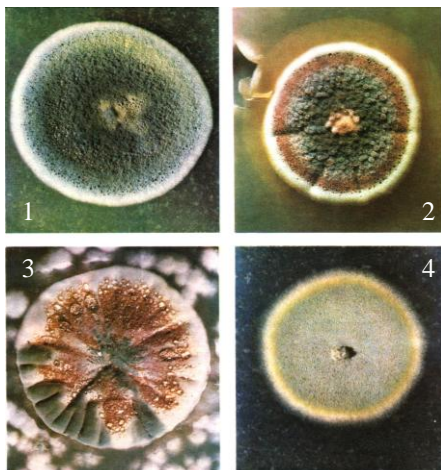


Рис. 13. Колонії пеніцилів:
 1 – пеніцил помічений (*Penicillium notatum*);
 2 – пеніцил із золотистим пігментом (*P. chrysogenum*);
 3 – пеніцил Тома (*P. thomii*);
 4 – пеніцил червоний (*P. purpurogenum*)

Стійкість грибів до впливу факторів зовнішнього середовища залежить від виду гриба, причому різні клітинні елементи його по-різному протистоять несприятливому впливу. Молоді клітини грибів у спеціальних органах плодоношення більш стійкі, ніж спори, які вільно лежать. Слизові капсули, що оточують гриби (криптококи, дріжджоподібні гриби) у патологічному матеріалі та в культурах, також забезпечують їх відносно велику стійкість до зовнішніх чинників. Кип'ятіння протягом декількох хвилин призводить до загибелі грибів у тканинній і культуральній формі. Прямі сонячні промені й ультрафіолетове світло діють на гриби згубно лише при тривалій експозиції й у вологому середовищі.

Вираженою фунгіцидною дією володіє 3–7 % оцтова кислота, саліцилова і бензойна кислоти (1–2 %), 1–10 % формалін, 0,1 % сулема, 5 % хлорне вапно.

Захворювання, що викликаються патогенними грибами, умовно можна розділити на дві групи: системні, або глибокі, мікози та поверхневі мікози. Мікози, що викликаються умовно-патогенними грибами, можуть мати змішаний клінічний перебіг.

Патогенні гриби зазвичай не продукують екзотоксинів. В організмі господаря вони, як правило, викликають розвиток гіперсенсibilізації до їх різних антигенів. При системних мікозах типовою тканинною реакцією є розвиток хронічної гранульоми з різним ступенем некрозу і утворенням абсцесу. Крім того, існує група захворювань, які називаються мікотоксикозами, вони обумовлені потраплянням в організм мікотоксинів, що утворюються в процесі життєдіяльності ряду мікроскопічних цвілевих грибів. Виділено понад 300 видів мікотоксинів, що продукуються представниками 350 видів грибів, однак практичне значення як забруднювачів харчових продуктів мають лише близько 20. Серед них найбільш поширені й небез-

печні для здоров'я людини афлатоксини B1, B2, G1, G2, M1 (продуценти – гриби роду *Aspergillus*), трихотеценові мікотоксини (у тому числі дезоксиніваленол і зеараленон, продуценти – гриби роду *Fusarium*), охратоксини, цитринін, цитреовіридин (продуценти – гриби родів *Aspergillus* і *Penicillium*), алкалоїди ріжків (*Claviceps purpurea*), у тому числі лізергінова кислота і апроклавін.

Мікотоксикози є різновидом харчових отруєнь – харчових інтоксикацій, і причиною їх є, як правило, зерно і зернові продукти. Зерно уражається грибами в період дозрівання і збирання врожаю при несприятливих метеорологічних умовах і неправильному зберіганні.

МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для діагностики мікозів застосовуються мікроскопічні (у тому числі гістологічні), мікологічні (культуральні), алергічні, серологічні, експериментальні, молекулярно-біологічні та інші методи дослідження.

З огляду на морфологічне різноманіття грибів, а також їх повільне зростання провідне значення в діагностиці мікозів мають морфологічні методи виявлення та ідентифікації збудника. Залежно від клінічних проявів хвороби досліджуванім матеріалом служать: уражене волосся, лусочки шкіри, шматочки нігтів, шкірні та нігтьові скарифікати, гній, мокротиння, пунктати лімфатичних вузлів, кісткового мозку, внутрішніх органів, кров, спинномозкова рідина, шлунковий сік, жовч, випорожнення, шматочки тканин, отримані при біопсії або аутопсії, та ін. Матеріал беруть по можливості з вогнища інфекції при дотриманні правил асептики епіляційним пінцетом, скальпелем, препарувальною голкою, лезом бритви, ножицями, ложечкою Фолькмана, пастерівською піпеткою та ін. Тампонами матеріал намагаються не брати. Щоб краще розглянути уражену ділянку, можна користуватися лупою, у хворих на мікроспорію – люмінесцентною лампою, у променях якої уражене волосся має смарагдово-зелене свічення. При підозрі на ураження дерматофітами нігті обробляють 70 % етанолом для інактивації і видалення зовнішньої (супутньої) мікрофлори, зістригають і в сухому контейнері доставляють до лабораторії. Патологічний матеріал слід брати в кількості, достатній для мікроскопічного вивчення в незабарвленому і пофарбованому вигляді, для посіву на поживні середовища або зараження експериментальних тварин, а також проведення інших досліджень. Як правило, паралельно з мікологічним проводиться бактеріологічне дослідження патологічного матеріалу.

При необхідності транспортування матеріалу до лабораторії його поміщають у стерильні пробірки, контейнери, між предметними скельцями та ін. У направленні зазначають паспортні дані хворого, локалізацію ураження, дату взяття матеріалу, діагноз. Незважаючи на те, що багато збудників мікозів стійкі в зовнішньому середовищі, матеріал рекомендується тримати у вологій атмосфері за наявності кисню і доставляти до лабораторії протягом 2 год, особливо в разі контамінації матеріалу бактеріями.

Зі збудниками гістоплазмозу, кокцидіозу та інших особливо небезпечних мікозів працюють у спеціально обладнаних лабораторіях із дотриманням спеціальних правил, що дозволяють запобігти лабораторному зараженню і поширенню інфекції.

Мікроскопію слід проводити з того дня, коли на живильному середовищі з'являються перші колонії. Перед мікроскопічним дослідженням необхідно визначити, чи є грибок дріжджовим або цвілевим. Це здійснюють за зовнішнім виглядом колоній, результатами проросткової проби.

При мікроскопії цвілевих грибів враховують структуру міцелію (тобто особливості будови гіф, їх колір, наявність септ, особливості будови конідій і спор, включаючи розмір, форму, колір конідій; будову їх клітинної стінки, наявність септ та ін.).

Для проведення мікроскопії готують нативні і пофарбовані препарати (рис. 14).

Нативні препарати готують із волосся, зіскрібків із нігтів, лусочок шкіри та інших тканин, попередньо оброблених 10–30 % розчином КОН для розчинення кератину і освітлення препарату.

Можна використовувати також хлоралактофен за Аманом (хлоралгідрат + фенол + молочна кислота), лактофенол (20 % фенолу, 20 % молочної кислоти, 40 % гліцерину, 0,5 % метиленового синього) або інший розчин. Матеріал поміщають на предметне скло в краплю КОН, перемішують, накривають покривним склом і витримують 5–15 хв при кімнатній температурі, потім притискають покривним склом. Для більш вираженого освітлення препарат трохи підігрівають або застосовують для освітлення розчин КОН із диметилсульфоксидом (ДМСО): 20 г КОН + 100 мл 60 % ДМСО. Після обробки препарат вивчають у звичайному світловому мікроскопі (при збільшенні $\times 40$, часто з опущеним конденсором) або в фазово-контрастному мікроскопі.

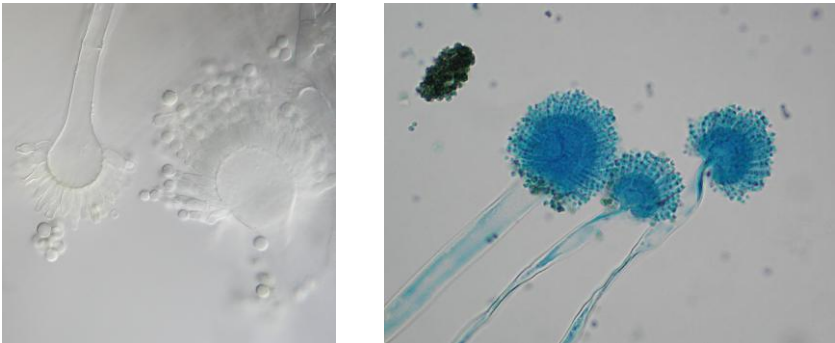


Рис. 14. *Aspergillus flavus*: нативний і пофарбований препарати

Якщо досліджуваний матеріал рідкий, його попередньо центрифугують і роблять мазки з осаду.

При мікроскопії нативних препаратів можна визначити характерне розташування спор гриба в ураженому волоссі, міцелію в лусочках шкіри і зіскрібків із нігтів, що дозволяє лабораторії дати попередній висновок. Остаточний висновок про видову належність гриба дають тільки після мікологічного дослідження матеріалу.

Пофарбовані препарати готують, як правило, з матеріалу, що має в'язку або рідку консистенцію. У пофарбованому матеріалі легше виявити елементи гриба, ніж у нативних препаратах. Найчастіше використовують такі методи забарвлення: за Грамом, Романовським–Гімзою, за Гоморі (метенаміновим сріблом), за Мак-Манусом (періодною кислотою і реактивом Шиффа), Цілем–Нільсеном, Грамом-Вельш, Райтом, Лейшманом, лактофенолом, лактофуксином, за Аравійським. Для забарвлення дерматофітів застосовують методи Сабуру, Адамсона, Хоммершміда, Берка та ін.

Для експрес-діагностики використовують спеціальні методи забарвлення, так як забарвлення за Романовським–Гімзою або Грамом не завжди дозволяє виявити в матеріалі клітини грибів. При необхідності застосовують люмінесціюючі імунні сироватки (РІФ).

Клітини грибів, як правило, грампозитивні (рис. 15, 16). Забарвлення за Грамом допомагає виявити супутні бактеріальні клітини і капсулу у криптококів. Тушове (негативне) забарвлення за Буррі дозволяє виявити інкапсульовані клітини *Cryptococcus neoformans* у препаратах ліквору при криптококовому менінгіті. Забарвлення за Романовським–Гімзою використовується для виявлення в мокротинні трофозоїдів *Pneumocystis carinii* та у крові або кістковому мозку (як і забарвлення за Райтом) дріжджової форми збудника гістоплазмозу. Для виявлення нокардій та інших кислотостійких грибів застосовують метод забарвлення за Цілем–Нільсеном або модифікований метод Хенкса.



Рис. 15. *Epidermophyton floccosum*

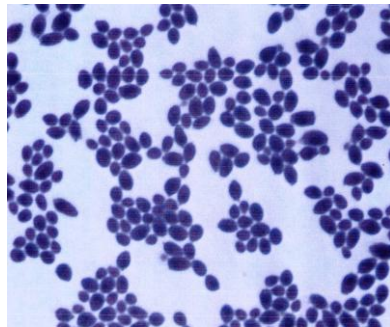


Рис. 16. *Candida albicans*

Для приготування забарвлених препаратів матеріал обробляють різними способами. Якщо досліджуваний матеріал рідкий, то з нього готують незабарвлений мазок для мікроскопії в освітлюючих рідинах: суміш спирту з гліцерином.

Щільний досліджуваний матеріал (шкірні, нігтьові лусочки) поміщають у краплю 10–20 % розчину КОН, трохи підігрівають до появи кристаликів луку по периферії краплі. Потім краплю накривають покривним склом і проводять мікроскопію.

Для виявлення капсульних грибів використовують забарвлення альціановим синім (за методом Моурі), що дозволяє виявити кислі гетерополісахариди, які є капсульним матеріалом.

Найбільш прийнятним методом забарвлення гістологічних препаратів є метод Гоморі, що дозволяє виявляти в тканинах елементи гриба. Високою чутливістю володіє метод прямої люмінесцентної мікроскопії (внесений при обробці препарату флюорохром зв'язується з полісахаридами клітинної стінки гриба, забезпечуючи потім яскраве світіння клітини при ультрафіолетовому опроміненні). Високоспецифічним методом виявлення грибів в тканинах є застосування прямої РІФ на основі моноклональних антитіл, мічених флюорохромом.

Мікроскопію проводять спочатку під малим збільшенням (об'єктив до $\times 20$), потім під великим без імерсії (об'єктив до $\times 40$). При мікроскопії виявляють типові для грибів елементи: нитки міцелію, спори або клітини дріжджів, гіфи, спорангії, клітини, що брунькуються.

Наступний етап – мікологічні дослідження – виділення і ідентифікація грибів. Розглянемо особливості цього етапу залежно від досліджуваного матеріалу.

МІКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мікологічне (культуральне) дослідження спрямоване на виділення чистої культури гриба та її ідентифікацію.

Посіви проводять на щільні та рідкі, неселективні і селективні поживні середовища: Сабуро, сусло-агар, Чапека, кукурудзяний, рисовий, картопляний агар, Френсіса, Полаччі та ін. Гриби добре ростуть також на деяких середовищах для бактерій – кров'яному, шоколадному, серцево-мозковому агарі, вугільно-дріжджовому середовищі. Їх, як і картопляний агар із глюкозою, використовують для виділення грибів зі «стерильних» матеріалів (крові, ліквору, біоптатів та ін.) й інкубують більш тривалий час. Для приготування селективних середовищ до неселективних додають антибіотики (левоміцетин – 20–50, стрептоміцин – 40, пеніцилін – 20 мг/мл та ін.), а також барвники (бенгальський рожевий та ін.) або дезінфектанти. Так, для виділення грибів із контамінованих бактеріями матеріалів використовують агар Сабуро з глюкозою, до якого додають пеніцилін і гента-

міцин або гентаміцин і хлорамфенікол. Для первинної диференціації грибів за кордоном широко використовують хромогенний агар CHROM. У його складі є хромогенні субстрати, які при дії на них того чи іншого ферменту грибів розщеплюються з утворенням забарвлених сполук. У результаті цього колонії різних грибів на агарі CHROM відрізняються за кольором: білі, кремові, жовті, коричневі, чорні, рожеві, червоні та ін.

Терміни культивування різні для різних видів грибів (від 2–4 днів до 4 тиж). При підозрі на диморфні гриби культуру виділяють до 8 тиж.

Оптимальний режим культивування для більшості патогенних грибів 30 °С, 20–25 °С, рідше 37 °С – при підозрі на диморфні гриби.

Тривалість інкубації для більшості грибів становить не більше 4 тиж; якщо по закінченні цього часу зростання не спостерігається, дають негативну відповідь. У разі підозри на диморфний мікоз при відсутності росту протягом 4 тиж, культуру витримують 8 тиж і тільки після цього дають негативний результат.

Якщо гриби виявляються в змішаних культурах, їх чисті культури отримують після посівів до ізольованих колоній на кров'яному агарі або після обробки соляною кислотою (для знищення бактерій). В останньому випадку культуру гриба засівають у 3 пробірки з 5 мл бульйону Сабуро з глюкозою, у які додають 4, 2 і 1 краплю 1 N розчину HCl відповідно. Через 24–48 год інкубування при 25 °С по 0,1 мл бульйону розсівають на агарі Сабуро з глюкозою.

Виділені культури гриба ідентифікують за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенції, кольору, здатності до росту при 37 °С, мікроскопічній будові – характером розгалуження міцелію і наявності в ньому септ, розташуванню конідіеносців, спор, а також біохімічними та іншими ознаками (рис. 17). Розміри грибів визначають за допомогою окуляра-мікрометра. У деяких грибів вивчають здатність ферментувати і асимілювати органічні речовини. Для вивчення розвитку міцелію в динаміці використовують метод мікрокультур.

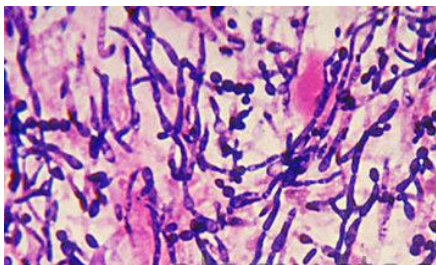


Рис. 17. Клітини і колонії *C. albicans*

При культуральному дослідженні **діагностично значущим є виділення:**

- будь-якого цвілевого гриба, якщо цей гриб був виявлений мікроскопічно;
- цвілевого або дріжджового гриба при дослідженні стерильного в нормі матеріалу;
- диморфних грибів;
- грибів роду *Cryptococcus*;
- дерматофітів зі шкіри, волосся, нігтів.

Алгоритм мікологічного дослідження:

1. Визначення грибкової етіології збудника (мікроскопія).
2. Визначення дріжджовий гриба або пліснявий:
 - мікроскопія клінічного матеріалу (наявність міцелію);
 - характер колоній на живильному середовищі, швидкість росту (дріжджові гриби – 48 год, плісняві гриби ростуть повільно).
3. Остаточну ідентифікацію гриба до рівня виду (внутрішньовидова) проводять із використанням біохімічних тестів й імунологічних методів.

При дослідженні біохімічних властивостей вивчають здатність виділеної культури до асиміляції (ауксанограма) і ферментації (зігограма). Можливе використання автоматизованих систем ідентифікації (тест-системи для ідентифікації грибів).

КЛАСИФІКАЦІЯ МІКОЗІВ

Поверхневі мікози (кератомікози) – ураження поверхневих шарів шкіри, волосся:

Malassezia furfur – збудник різнобарвного лишая.

Exophiala werneckii – збудник чорного лишая.

Piedraia hortae – збудник чорної п'єдри (п'єдріоз).

Trichosporon beigeli – збудник білої п'єдри (трихоспороз).

Епідермофітії (епідермомікози, дерматомікози, дерматомікози) – ураження епідермісу, шкіри, волосся.

Рід Microsporum:

Microsporum audouinii – збудник мікроспорії.

Microsporum ferrugineum – збудник мікроспорії.

Рід Trichophyton:

Trichophyton tonsurans – збудник трихофітії.

Trichophyton violaceum – збудник трихофітії.

Trichophyton rubrum – збудник рубромікозу.

Рід Epidermophyton:

Epidermophyton floccosum – збудник епідермофітії.

Epidermophyton interdigitale – збудник епідермофітії.

Підшкірні, або субкутанні, мікози – ураження дерми, підшкірної клітковини, м'язів.

Sporothrix schenckii – збудник споротрихозу.

Fonseca compacta – збудник хромомікозу.

Fonseca pedrosoi – збудник хромобластомікозу.

Phialophora verrucosa – збудник хромомікозу.

Phoma spp., *Alternaria spp.*, *Bipolaris spp.*, *Curvularia spp.*, *Exophiala spp.* – збудники феогіфомікозу.

Збудники міцетоми (хронічний гнійно-запальний процес підшкірної клітковини і суміжних тканин) – *Actinomyces spp.*, *Nocardia spp.*, *Madurella spp.*, *Exophiala spp.*

Системні, або глибокі, мікози – ураження внутрішніх органів і тканин.

Histoplasma capsulatum, *H. duboisii* – збудник гістоплазмозу.

Blastomyces dermatidis – збудник бластомікозу.

Coccidioides immitis – збудник кокцидіоїдозу.

ParaCoccidioides brasiliensis – збудник паракокцидіоїдозу.

Cryptococcus neoformans – збудник криптококозу.

Опортуністичні мікози.

Aspergillus spp. – аспергільоз.

Mucor spp. – зигомікоз.

Penicillium spp. – пеніциліоз.

Fusarium spp. – фузаріоз.

Candida spp. – кандидоз.

Pneumocystis jiroveci (*Pneumocystis carinii*) – пневмоцистоз.

Практичні навички з теми.

1. Проведення мікроскопії мазків-препаратів з грибами.
2. Визначення морфотинкторіальних властивостей патогенних грибів.

Алгоритми лабораторної роботи

Алгоритм: «Методи фарбування».

Забарвлення за Мак–Манусом (Шик-реакція). Фіксований в абсолютному спирті препарат обробляють 5 хв 5 % розчином йодної кислоти, промивають протягом 2 хв водою, поміщають на 2 хв у розчин основного фуксину (0,1 г основного фуксину розтирають в 5 мл етилового спирту і 95 мл води), а потім, швидко промивають водою і опускають на 10 хв у розчин гідросульфату цинку (1 г цинку гідросульфату, 0,5 г винокам'яної кислоти, 100 мл дистильованої води). Промивають 5 хв водою, зневоднюють по 2 хв у зростаючих концентраціях етанолу (70–80–95–100 %) і протягом 2 хв освітлюють у ксилолі. Гриби фарбуються в малиновий колір, фон мазка – блідо-рожевий.

Забарвлення за Грамом–Вельш. Препарат знежирюють сумішшю Нікіфорова протягом 24 год, фарбують 1 хв генціановим фіолетовим

(1 частина генціанового фіолетового + 2 частини анілінового масла), а потім 1 хв обробляють сумішшю 5 % розчину йодиду калію і 3 % розчину перекису водню 4:1). Під контролем мікроскопа препарат знебарвлюють 1 % розчином аніліну і зневоднюють абсолютним алкоголем.

Забарвлення лактофенолом. Мазок на склі заливають на 30–60 хв сумішшю, що містить 2 частини гліцерину і по 1 частині карболової, молочної кислот і дистильованої води. При додаванні 5 % розчину метиленового синього гриби фарбуються у світло-блакитний колір.

Забарвлення лактофуксином. Мазок заливають на 4–5 хв сумішшю, що містить 0,1 г кислого фуксину на 100 мл молочної кислоти. На рожевому фоні чітко видно елементи гриба блакитного кольору.

Забарвлення за Аравійським. Фіксований над полум'ям мазок заливають у чашці Петрі гематеїном Майєра (4 г гематеїну, 50 мл етилового спирту (95 %), 5 % калійних квасців, 100 мл дистильованої води) і поміщають на 15 хв у термостат при 37 °С. Потім фарбу зливають і 3 хв забарвлюють препарат еозином (на 1 мл води додають 5 крапель насиченого спиртового розчину еозину), після чого мазок промивають водою і обробляють 1–2 хв 1 % розчином перманганату калію. Промитий водою препарат просушують і проводять мікроскопію. Сферули збудника кокцидіоза фарбуються в жовтувато-рожевий колір, оболонка – в блідо-рожевий колір у центрі й рожево-фіолетовий по краях.

Метод Сабуро. Луску і волосся спочатку знежирюють у хлороформі, потім поміщають на годинникове скло з мурашиною кислотою і нагрівають до кипіння. Добре промивають у воді й протягом 1 хв фарбують насиченим водним розчином метиленового синього (24 частини метиленового синього, 16 частин 5 % розчину борату натрію, 40 частин дистильованої води). Промитий у воді препарат зневоднюють в абсолютному спирті, освітлюють ксиолом і заливають канадським бальзамом.

Метод Адамсона. Освітлені протягом 15–30 хв у 10 % розчині КОН волосся і лусочки шкіри промивають у 1 % розчині етилового спирту, висушують і фарбують протягом 15–60 хв генціановим фіолетовим. Занурюють їх у розчин Грама на 3–5 хв, а потім на 2–3 год – в анілінове масло, після чого висушують фільтрувальним папером і заливають канадським бальзамом.

Метод Хаммершміда. Патологічний матеріал, фіксований у суміші Карнуа (40 г крижаної оцтової кислоти, 60 мл абсолютного спирту, 30 мл хлороформу), протягом 1 хв обробляють на склі 70 % етанолом. Потім препарат промивають водою і занурюють на 10 хв у свіжовідфільтрований насичений водний розчин коричневого бісмарка. Обережно промивають водою, висушують у спирті зростаючої концентрації або на повітрі, освітлюють ксиолом і заливають канадським бальзамом.

Метод Берна. Після знежирення в суміші Нікіфорова волосся і лусочки шкіри протягом 1 хв забарвлюють розчином Берка (16 частин 5 % розчину борату натрію, 20 частин насиченого водного розчину метиленового синього і 24 частини дистильованої води). Потім препарат поміщають у свіжоприготовлений рідкий розчин резорцину, промивають етанолом (лусочки шкіри для знебарвлення обробляють перекисом водню), зневоднюють спиртом зростаючої концентрації (70–95 %), освітляють ксилолом і заливають канадським бальзамом.

Метод Бессона. Після знежирення шкіри ефіром на ділянку ураження накладають смужку липкого целофану (скотчу) і притискають його пальцем. Потім смужку знімають, прополіскують у бензолі і липкою стороною накладають на ретельно знежирене предметне скло. Для отримання забарвленого препарату смужку целофану після зняття з шкіри занурюють на 15–20 с у розчин Берка, швидко промивають водою і двічі в абсолютному спирті, потім – у бензолі і наклеюють на предметне скло. Іноді перед нанесенням смужки липкого целофану шкіру забарвлюють протягом 15–20 с декількома краплями барвника (надлишок його видаляють фільтрувальним папером).

Модифікований метод Хенкса. Після приготування мазка і фіксації його в полум'ї паличника на нього в надлишку наливають розчин карболового фуксину і витримують 5 хв. Потім фарбу зливають, заливають мазок 50 % етанолом і відразу промивають мазок водою. Для знебарвлення фону на мазок наносять 1 % сірчану кислоту, після чого ретельно промивають мазок водою. Для контрастування фону мазок дофарбовують 2,5 % метиленовим синім у 95 % етанолі протягом 1 хв. *Nocardia* spp. та інші кислотостійкі гриби фарбуються в бордово-червоний колір, фон – блакитний.

Алгоритм: «Середовища для культивування грибів».

Середовища для культивування дерматофітів та інших грибів

Агар Сабуро (г/л): мальтози (глюкози) – 40, пептона – 10, агар-агару – 15–18. Стерилізація при 110–112 °С при 0,5 атм протягом 15 хв, рН після стерилізації 5,6–6,8. Для додання селективних властивостей у середовище вводять хлорамфенікол (50 мкг/мл) або інші антимікробні засоби. Застосовують для первинного посіву досліджуваного матеріалу.

Булйон Сабуро (не містить агар-агар). Застосовується для вирощування грибів при виготовленні антигенних препаратів.

Сусло-агар. До 100 мл пивного сусла (з 7–8 % вуглеводів за Баллінг) додають 15–18 г агар-агару. Стерилізація при 110–112 °С протягом 10 хв, рН після стерилізації 6,5–7,0. Застосовують, як і агар Сабуро, для первинного посіву досліджуваного матеріалу.

Агар для дерматофітів, DTM agar (г/л): глюкози – 10, пептона – 10, фенолового червоного – 0,2, агар-агару – 20. Стерилізація при 121 °С (1 атм) протягом 15 хв, рН після стерилізації 5–5,7. Для додання селективних

властивостей у середовище вводять: циклогексимід (0,05 %) для пригнічення росту більшості сапрофітних грибів, хлортетрациклін і гентаміцин (по 50 мкг/мл) для пригнічення росту грампозитивних і грамнегативних бактерій, включаючи синьогнійну паличку. Застосовують для первинного посіву досліджуваного матеріалу.

Середовища для вирощування цвілевих і дріжджових грибів. Агар Чапека –Докса (г/л): сахарози – 30, натрію нітрату – 3, калію гідрофосфату – 1, магнію сульфату – 0,5, калію хлориду – 0,5, заліза сульфату – 0,01, агар-агару – 15. Стерилізація при 112–120 °С протягом 15 хв, рН після стерилізації 7,1–7,4. Це синтетичне середовище застосовується для культивування грибів, вивчення хламідоспор у грибів *Candida* і морфології аспергіл.

Диференційні середовища. Кукурудзяний агар (г/л): кукурудзяної муки – 43, глюкози – 20, агар-агару – 15. Стерилізація при температурі 110–112 °С протягом 15 хв. Застосовується для виявлення червоного пігменту у *Trichophyton rubrum* і хламідоспор у *Candida albicans*.

Середовище Городкова (г/л): м'ясної води – 10 мл, пептона – 10, натрію хлориду – 5, глюкози – 2,5, агар-агару – 15. Стерилізація при 110–112 °С протягом 30 хв. Застосовують для виявлення аскоспор у дріжджів.

Рисове середовище (г/л): рису очищеного – 20, маніту – 20, L-серину – 10, натрію сульфату – 5, агар-агару – 20. Стерилізація при 110–112 °С протягом 20 хв, рН після стерилізації 6,8. Використовується для виявлення хламідоспор у дріжджоподібних організмів.

Рисовий відвар за Еліновим. 20 г очищеного рису кип'ятять в 1 л дистильованої води протягом 30 хв, пропускають через паперовий фільтр і доводять фільтрат до 1000 мл дистильованою водою, додають 20 г маніту, 10 г серину, 5 г натрію сульфату, 20 г агар-агару. Готове середовище освітлюють кінською сироваткою (70 мл на 1000 мл середовища). Стерилізують при 110–112 °С протягом 20 хв.

Картопляний агар. 20 г тертої картоплі настоюють у 1 л водопровідної води протягом 4 год при кімнатній температурі, додають 20 г агар-агару, кип'ятять 10–15 хв, фільтрують, розливають у пробірки по 4–5 мл і стерилізують при 120 °С протягом 30 хв.

Картопляний агар з глюкозою відрізняється тим, що беруть 100 г протертої картоплі і після фільтрування середовища додають 10 г глюкози. Стерилізують, як середовище Сабуро.

Солодово-дріжджовий агар з глюкозою (г/л): пептону – 5, дріжджового екстракту – 3, екстракту солоду – 3, глюкози – 10, агар-агару – 20. Стерилізують при 120 °С 15 хв, рН після стерилізації 6,2. Для додання селективних властивостей після стерилізації середовища доводять рН до 4 або додають антибіотики.

Термінологія. *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Geotrichum candidum*, *Rhodotorula spp.*, *Trichosporon spp.*, *Pneumocystis carinii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Bistoplasma capsulatum*, *ParaCoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffeii*, *Sporothrix schenckii*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium audouinii*, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Exophiala werneckii*, *Pedraria hortae*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton Omentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton violaceum*, *Absidia corymbifera*, *Basidiobolus ranarum*, *Conidiobolus coronatus*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Mucor spp.*, *Rhizomucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Saksenaeya vasiformis*, *Acremonium spp.*, *Curvularia spp.*, *Madurella grisea*, *Pseudallescheria boydii*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Scopulariopsis spp.*, *Alternaria spp.*, *Bipolaris spp.*, *Cladosporium spp.*, *Curvularia spp.*, *Fonsecaea spp.*, *Phialophora spp.*, *Phoma spp.*, *Exophiala dermatitidis*.

Питання для контролю знань

1. Загальна характеристика грибів. Класифікація патогенних грибів, їх значення в патології людини.
2. Морфологія та біологічні властивості грибів. Стійкість до факторів зовнішнього середовища.

Тестові завдання:

1. У дитини на слизовій оболонці щік і на язичці виявлені білуваті плями, що нагадують молоко, яке згорнулося. У приготованих мазках-препаратах знайдені грампозитивні овальні дріжджоподібні клітини. Збудник якого захворювання був виявлений?
A. Стафілококи. D. Дифтеріяна паличка.
B. Фузобактерії. E. Актиноміцети.
C. Гриби роду Кандида.
2. При мікроскопії зскрібка з язика, пофарбованого за Грамом, виявлено овальні, круглі, подовжені ланцюжки бруньок-клітин темно-фіолетового кольору. Про збудника якого захворювання може йти мова?
A. Дифтерія. D. Стрептококова інфекція.
B. Стафілококова інфекція. E. Кандидоз.
C. Актиномікоз.
3. До лабораторії направлений матеріал із білуватих нашарувань слизової оболонки ротової порожнини. При посіві матеріалу на середовищі Сабуро відмічено зростання сметаноподібних колоній. При бактеріоскопії виявлені короткі нитки, що брунькуються. До збудників якої інфекції відносять виділені мікроорганізми?
A. Рикетсіоз. C. Мікоз. E. Снірохетоз.
B. Мікоплазмоз. D. Хламідіоз.

4. При фарбуванні змиву із зівів для виявлення грибів були використані наступні реагенти: генціановий фіолетовий, 3 % розчин перекису водню, 1 % розчин аніліну і абсолютний алкоголь. Який реагент відсутній?

A. *NaOH.*

D. *Винокам'яна кислота.*

B. *Гідросульфід цинку.*

E. *Спиртовий розчин еозину.*

C. *5 % розчин йодиду калію.*

5. При фарбуванні змиву із зівів для виявлення грибів були використані наступні реагенти: гліцерин, карболова, молочна кислота і дистильована вода. При додаванні 5 % розчину метиленового синього гриби фарбуються у світло-блакитний колір. Який метод був використаний?

A. *Забарвлення лактофенолом.*

D. *За Берном.*

B. *За Грамом.*

E. *За Бенссоном.*

C. *За Буррі-Гінсом.*

Тема: Лабораторна діагностика мікозів

Кількість годин: 4.

Обґрунтування теми: за останні десятиліття спостерігається зростання клінічно значущих захворювань, що викликаються умовно-патогенними мікроорганізмами, тобто мікробами з низьким для людини рівнем патогенності, які виявляють патогенні властивості тільки в певних умовах пригнічення природної резистентності організму. Одними з головних чинників зростання спровокованих ними так званих «опортуністичних» інфекцій є:

1) зниження рівня природної імунологічної резистентності населення через погіршення екологічної обстановки;

2) розширення масштабів медичного оперативного втручання, використання діагностичної та лікувальної апаратури, що допускає втручання всередину організму і створює загрозу додаткового інфікування;

3) використання імуносупресорів, гормонів, цитостатичних засобів та інших медикаментів, які ослаблюють імунну систему людини;

4) зростання захворюваності на СНІД, рак, цукровий діабет та інші хвороби, що супроводжуються вираженими імунологічними порушеннями.

Клінічні прояви грибкового інфікування були відомі ще в стародавні часи. Розвиток оптики, винахід мікроскопа і застосування його в медицині і природознавстві призвело до відкриття мікроорганізмів, у тому числі і грибів, що викликають захворювання у людини. З середини XIX – початку XX ст. з'являється ряд публікацій, що описують збудників грибкових захворювань: кандидозу, кератомікозу, геотрихозу, криптококозу, хромо-мікозу, споротрихозу і деяких інших цвілевих мікозів.

В останні роки однією з актуальних проблем охорони здоров'я стали опортуністичні мікози, які є частими ускладненнями багатьох захворювань, що входять у компетенцію лікарів різного фаху: терапевтів, педіатрів,

пульмонологів, гінекологів, хірургів, дерматологів, урологів та ін. Зростання випадків грибкових інфекцій серед населення пов'язано з декількома причинами. Погіршення екологічних умов знижує антиінфекційну резистентність людини, що призводить до порушення балансу між нормальною флорою і імунною відповіддю організму, до різкої активації умовно-патогенних грибів, розширюючи спектр збудників, що викликають ураження шкіри і внутрішніх органів. Нераціональне використання антибіотиків, цитостатиків, гормональних препаратів, променевої і хіміотерапії в боротьбі з основним захворюванням також призводить до зниження імунітету, селекції стійких штамів мікроорганізмів і розвитку грибкових ускладнень. Часта катетеризація, парентеральне харчування, проведення штучної вентиляції легенів, гемодіаліз, трансплантація органів, кандидоносійство медперсоналу та інше збільшують ризик інфікування внутрішньолікарняними штамми грибов. Частішають випадки самолікування, антисанітарні умови життя, важкі хронічні захворювання є фактором розвитку поверхневих і глибоких мікозів.

Як правило, глибокі мікози (аспергільоз, кандидоз, геотрихоз, зигомікоз, криптококоз та ін.) Зустрічаються в групах ризику: у хворих з ендокринними порушеннями, туберкульозом, бронхіальною астмою, хронічними процесами в легенях, онкологічними та гембластичними захворюваннями, СНІДом тощо.

В онкологічних хворих, хворих з ендокринопатією і хронічними гнійними захворюваннями, у ВІЛ-інфікованих пацієнтів кандидоз різних локалізацій розвивається в 10–50 % випадків.

Відзначається зростання випадків вагінального кандидозу у жінок репродуктивного віку. За останні 15 років частота виявлення грибів у вагінальних виділеннях у пацієнток гінекологічної клініки зросла з 17 до 35 %, що становить як небезпеку для здоров'я жінки, так і загрозу інфікування грибами *Candida* плода і новонародженої дитини. Особливу групу складають новонароджені діти, у яких кандидоз як внутрішньолікарняна інфекція становить 29,5 %. До кінця першого місяця життя у 54,6 % дітей виявляється кандидоносійство.

У нашій країні щорічно десятки мільйонів чоловік проходять лікування в стаціонарах, де пацієнт піддається ризику інфікування резистентними внутрішньолікарняними штамми мікроорганізмів. Приєднання нозокоміальної інфекції, у тому числі грибкової, до основного захворювання ускладнює перебіг хвороби, нерідко призводить до летального результату. Внутрішньолікарняні системні мікози, спалахи грибкових інфекцій у пологових будинках, акушерських клініках – одна з актуальних маловивчених проблем у клінічній медицині. За статистикою США, 5 % госпіталізованих пацієнтів страждають на внутрішньолікарняні інфекції. Серед них у 5–8 % захворювання викликані грибами роду *Candida*, у 1–2 % – іншими збудниками (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Cryptococcus* та ін.).

Деякі глибокі мікози виникають і у здорових імунокомпетентних людей, коли при травмах і пошкодженнях шкірних покривів збудники споротрихозу, хромомікозу та міцетоми з навколишнього середовища, ґрунту, предметів побуту та ін. проникають у шкіру, підшкірну клітковину, лімфатичну систему і при відсутності відповідного лікування можуть привести до інвалідизації хворого.

Сучасний прогрес медичної науки служить лікуванню раніше невиліковних хвороб, полегшує серйозні страждання і продовжує людське життя. Але, з іншого боку, велика кількість пацієнтів, чиє життя було врятоване або продовжене завдяки проведеному лікуванню, стають жертвами опортуністичних грибкових інфекцій. І це незважаючи на той факт, що ці ускладнення можуть бути легко діагностовані й успішно вилікувані. Значна кількість смертельних випадків через грибкове інфікування є результатом браку адекватного і кваліфікованого лабораторного дослідження в медичній мікології.

Мета:

Загальна: оволодіти мікробіологічною діагностикою хвороб, спричинених патогенними грибами.

Конкретна:

а) знати:

– правила безпеки при роботі з біологічним матеріалом (Державні санітарні правила – ДСП 9.9.5.03599);

б) вміти:

1. Підготувати робоче місце лаборанта.
2. Дотримуватися правил роботи і техніки безпеки з інфікованим матеріалом, культурами мікроорганізмів, апаратурою.
3. Відбирати та транспортувати матеріал для дослідження при підозрі на інфекцію, обумовлену патогенними грибами.
4. Готувати матеріал, який надійшов від хворого з підозрою на мікоз.
5. Досліджувати матеріал за допомогою методів, призначених для виявлення грибів.
6. Давати оцінку результатам дослідження та заповнювати відповідну лабораторну документацію.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: музейні мікропрепарати, мікроскоп, імерсійне масло, таблиці, атлас.

Зміст заняття

Механізми антифунгальної резистентності. Умовно-патогенні дріжджоподібні та плісняві гриби – збудники «опортуністичних» інфекцій – найбільш численна група мікозів. Більшість із них є представниками природної мікрофлори шкірних і слизових покривів, а реалізація їх патогенного потенціалу можлива лише при порушенні механізмів захисту організму хазяїна. У даний час деякі види умовно-патогенних грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) за своєю інвазивною активністю, токсигенністю

і здатністю викликати серед ослаблених осіб заразні інфекції у вигляді спалахів, наближаються до мікробів – «істинних» збудників інфекційних захворювань. Найбільша кількість мікозів ЛОР-органів обумовлена саме грибами-«опортуністами». Дані гриби мають виражену здатність до колонізації слизових оболонок, можуть викликати місцеві запальні процеси на слизових оболонках і шкірі, гранулематозні ураження, вісцеральні і септичні інфекції.

Колонізація тканин господаря і тканинна інвазія полегшуються наявністю у грибів-збудників факторів, за допомогою яких вони фіксуються в тканині і здійснюють деструкцію клітин у процесі інвазії. Здатність до адгезії («прилипання») дерматофітів і ряду цвілевих грибів до клітин шкіри, а дріжджоподібних і деяких міцеліальних грибів – до клітин слизових оболонок, дозволяють припускати у цих грибів наявність спеціальних рецепторів, що забезпечують їх фіксацію на тканинах.

Однією з ознак паразитарної адаптації збудників мікозів є наявність у них різноманітних факторів, здатних порушувати механізми імунного захисту організму хазяїна. У збудників кандидозу присутні антигенні компоненти, подібні за специфічністю до антигенів тканин господаря. Це не тільки ускладнює процес формування захисної імунної реакції, але і може індукувати виникнення аутоімунних уражень. У мікозів (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*) основними механізмами порушення захисних реакцій господаря є їх здатність до пригнічення захисної активності фагоцитів і порушення процесів формування специфічного імунітету. Пригнічення імунної системи господаря може здійснюватися як за допомогою прямої гальмівної дії на розмноження лімфоцитів і секрецію ними медіаторів, так і через активацію імунітетів-супресорів.

Неспецифічні механізми антифунгальної резистентності представлені біологічними бар'єрами – «граничними тканинами». Неспецифічні гуморальні і клітинні фактори захисту при нормальному їх функціонуванні в більшості випадків здатні запобігти виникненню мікотичної інфекції. Тільки при недостатності цієї «первинної» ланки захисту в імунну реакцію залучаються специфічні фактори та механізми, що реалізують процеси формування набутого імунітету.

Цілісні, нормально функціонуючі «граничні» тканини (шкірні та слизові покриви) є ефективною перешкодою для проникнення грибів у внутрішнє середовище макроорганізму. Багатошарова будова епітелію шкіри з наявністю рогового шару, який постійно оновлюється, забезпечує механічне звільнення покриву від потенційних збудників інфекції. Крім того, антифунгальні властивості шкіри визначаються кислим характером середовища, що володіє антимікробними властивостями і наявністю представників мікрофлори – основних антагоністів грибів (колонізаційний імунітет).

Антифунгальна резистентність слизових оболонок, у тому числі носа і глотки, забезпечуються рядом механізмів. Крім нормальної мікрофлори є ряд інших сполук, які здатні блокувати адгезію грибів до клітин

епітелію: лізоцим, секреторні імуноглобуліни – антитіла, що відносяться до sIgA та ін.

Проникнення гриба через названі бар'єри у внутрішнє середовище організму можливе або при механічному порушенні бар'єрів, або після їх колонізації. Колонізація грибами «граничних» тканин може здійснюватися тільки при пригніченні активності одного або ряду факторів захисту оболонок, наприклад, у випадках загибелі нормальної мікрофлори в ході антибіотикотерапії та ін.

У разі проникнення грибів у внутрішнє середовище організму в захисні реакції включаються специфічні гуморальні і клітинні фактори імунітету. Слід зазначити, що в цілому гуморальні фактори імунітету, як неспецифічні, так і специфічні (антитіла), самостійно або при взаємокооперації здатні чинити тільки фунгістатичну, але не фунгіцидну дію на гриби.

Резистентність організму людини відносно збудників мікозів не вичерпується перерахованими факторами. Наприклад, у сироватці крові здорових людей присутній білок неімуноглобулінової природи, який чинить летальну дію на збудника кандидозу. Вміст цього фактора знижується в крові хворих з патологією печінки, нирок та іншими захворюваннями.

Серед неспецифічних клітинних факторів імунітету найбільшу значимість для захисту організму людини від грибів мають фагоцити. Взаємодія фагоцитів з грибами, як правило, має характер прямого контакту. При взаємодії з фагоцитами невеликі за розмірами клітини грибів піддаються поглинанню та внутрішньоклітинній загибелі, а великі утворення піддаються умертвінню позаклітинно за допомогою розчинних продуктів, що виділяються клітинами фагоцитами при дегрануляції. Поліморфноядерні фагоцити (нейтрофільні, меншою мірою еозинофільні лейкоцити) – короткоживучі клітини ефекторного типу – є провідними клітинними факторами захисту. Доведено, що навіть масивна колонізація або поверхневе інфікування збудником кандидозу призводить до розвитку вісцерального або системного кандидозу тільки в умовах нейтропенії. Кількісні або якісні дефекти популяції нейтрофільних лейкоцитів є найбільш частим фактором, що призведе до виникнення гострих септикопіємічних форм «опортуністичних» мікозів.

Мононуклеарні фагоцити (моноцити, макрофаги) також беруть участь у підтримці природної резистентності до грибів. Клітини цієї системи мають значення для захисту організму в ході розвинутого інфекційного процесу і формування набутого імунітету. При взаємодії з грибами мононуклеарні фагоцити продукують ряд імуномедіаторів (інтерлейкін-1 та інтерферони).

Поряд із фагоцитами в підтримці неспецифічної резистентності до грибів беруть участь і неспецифічні клітинні чинники імунітету нефагоцитарної природи, провідне значення серед яких займає система природних

кілерних клітин. Активність природних кілерів може зростати за умови опсонізації об'єкта антитілами, а також при впливі на саму клітку γ -інтерферону.

Механізми імунного захисту при мікозах включаються ініціацією імунної відповіді при кооперативній взаємодії антигенів, що розпізнають лімфоцити з допоміжними антигенами, які представляють клітини, в основному, клітинами моноцитарно-макрофагального походження. Мононуклеарні фагоцити здійснюють внутрішньоклітинну деструкцію корпускулярних антигенів грибів, їх ферментну переробку (процесування) і експонують продукти процесування на мембрані для подання до розпізнавання лімфоцитами.

Ефективний захист при мікозах зв'язується з формуванням «клітинного» імунітету, асоційованого з розвитком гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ). Формування ГСТ і розвиток реакції за типом «гранулематозного» запалення є єдиним ефективним механізмом захисту тільки при мікозах, спричинених «первинно-патогенними» грибами. Інтенсивні ГСТ, як правило, супроводжують сприятливий результат, а відсутність або слабка виразність цих реакцій формує варіанти мікотичної інфекції з важким хронічним перебігом. Хронічним типам мікотичних інфекцій більше властива гіперактивація клітин-супресорів.

Супресія «клітинних» механізмів імуногенезу при хронічних мікотичних інфекціях може протікати на тлі гіперактивації процесів антитілогенезу. У таких випадках інтенсивне накопичення в організмі специфічних антитіл IgG і IgE обумовлює несприятливий перебіг мікозів і розвитку алергії.

Постінфекційного імунітету у вигляді повної несприйнятливості до повторного зараження збудником при мікозах не відзначається.

Мікотична інфекція та імунодефіцити. Імунодефіцитні стани є одним з найбільш важливих факторів, що сприяють виникненню мікотичних інфекцій. При цьому інфекції, викликані грибами, можуть виступати своєрідними «маркерами» порушення імунітету. Зниження імунної реактивності організму людини може розглядатися як «фізіологічний імунодефіцит» – період новонародженості, старечий вік, вагітність, стрес, травма та ін.

Схильність до мікозів обумовлена в основному не фізіологічними, а імунодефіцитами патологічного характеру. Патологічні імунодефіцити, як первинні (спадкові), так і вторинні (набуті), супроводжуються зниженням антифунгальної резистентності організму. Найбільшою мірою до виникнення мікозів і їх важкого перебігу призводять дефектність неспецифічних механізмів імунітету (особливо фагоцитозу) і порушення роботи тимус-залежної ланки імунної системи.

На окрему увагу заслуговує питання про мікотичну алергію. Моносенсibiliзація людини антигенами грибів – явище широко розповсюджене і не завжди є наслідком мікотичної інфекції. Виникненню мікотичної сенсibiliзації сприяють продукти життєдіяльності грибів (харчові білки, антибіотики та ін.), які широко застосовуються в промисловості та побуті. Така сенсibiliзація може призводити до виникнення алергічних захворю-

вань побутового або професійного характеру. Так, при побутових атопіях антигени цвілевих грибів виступають одним з найважливіших компонентів «алергенів домашнього пилу». При діагностиці і терапії таких захворювань практикуються підходи, що не відрізняються від таких при інших видах неінфекційної алергії.

Викликана грибами алергізація організму може мати характер гіперчутливості як негайного (ГНТ), так і сповільненого типу (ГСТ). Найбільше значення в патогенезі мікозів має ГНТ «реагінового» типу, що реалізується в реакціях місцевої анафілаксії. Така алергія, обумовлена накопиченням в організмі антитіл IgE («реагіни»), відзначається при деяких клінічних формах хронічного кандидозу, цвілевих мікозів (особливо аспергільозу), дерматомикозів та інших мікозів. Виражена анафілактична сенсibiliзація, як правило, супроводжує «неінвазивний» шкірно-слизовий тип мікотичних інфекцій і значно рідше відзначається при «інвазивних» вісцеральних формах мікозів.

Варіанти і типи мікотичного інфекційного процесу різноманітні. Гостра мікотична інфекція може протікати у вигляді локальної з доброякісним перебігом або генералізованої (септична, септикопемічна) клінічної форми.

Гострий генералізований мікоз може розвинути як первинний процес при «трансар'єрному заносі» в організм клітин збудника при медичних маніпуляціях, травмах або під впливом додаткових імуносупресивних факторів (призначення глюкокортикоїдних гормонів, цитостатичних препаратів). Такі форми мікозів навіть при інтенсивній терапії відрізняються важким перебігом і поганим прогнозом.

Хронічні мікотичні інфекції можуть бути розділені на місцеві (локальні) і дисеміновані. Хронічні локальні мікози відзначаються в осіб з відсутністю змін в імунній системі або ж при «опортуністичних» мікозах. Захворювання протікає порівняно доброякісно у вигляді обмежених інфекційних гранулєм. Хронічні дисеміновані інфекції протікають у вигляді «поверхневих» (шкірно-слизових) й «інвазивних» (вісцеральних) форм мікозів. Перші характеризуються тенденцією до поширення збудника «по горизонталі», як правило, в межах поверхневих шарів «граничних» тканин господаря. Такі форми мікозів найчастіше ускладнюються алергією «реагінового» типу і набувають характеру інфекційно-алергічних шкірно-слизових варіантів ураження. При цьому інфекції супроводжує підвищення вмісту в крові IgE, транзиторні еозинофілії і формування в ураженій тканині еозинофільних інфільтратів. Хронічні дисеміновані форми мікотичної інфекції практично не піддаються зворотному розвитку навіть в умовах інтенсивної етіотропної і патогенетичної терапії.

Діагностика мікозів за допомогою тільки клінічних методів неможлива з огляду на те, що їх клінічні прояви та ознаки не мають абсолютної специфічності. Діагноз мікотичних захворювань не може ґрунтуватися виключно на даних лабораторного дослідження, оскільки багато збудників

мікозів можуть виявлятися на слизових оболонках і шкірі здорових осіб. Тому при мікозах для постановки діагнозу використовується комплекс клініко-лабораторного обстеження пацієнта, що включає:

1. Анамнез (застосування антибіотиків, імунодефіцитні стани).
2. Клінічні прояви мікотичної інфекції.
3. Виділення гриба-збудника з підтвердженням його участі в даному інфекційному процесі:

- а) мікроскопічне дослідження в нативних або забарвлених мазках;
- б) виділення збудника на живильних середовищах;
- в) серологічні методи;
- г) шкірно-алергічні проби.

Діагностична значимість виявлення збудника в патологічному матеріалі при різних мікотичних інфекціях неоднакова. Для постановки діагнозу «риноспоридіоз» достатнім є мікроскопічне виявлення гриба-збудника в досліджуваному матеріалі. При мікозах, спричинених умовно-патогенними дріжджоподібними і пліснявими грибами, вагомим діагностичним критерієм є виявлення збудника в стерильних ділянках слизових оболонок. При ураженнях слизової оболонки носа, глотки, шкіри слухового проходу діагностичні критерії цих мікозів складніші. Підтвердженням кандидозу є виявлення при мікроскопії грибів у значній кількості і з ознаками активного росту (розгалужений міцелій) і повторне виділення гриба одного і того ж виду в зростаючих кількостях (мірні посіви).

При діагностиці кандидозу і аспергільозу можуть використовуватися серологічні методи у вигляді виявлення в крові у хворих антитіл, що з'являються тільки при інвазивних формах цих інфекцій.

Для підтвердження грибкової природи супутньої мікозам реакінової алергії необхідно визначення в крові хворих специфічних відносно грибів Ig E.

Імунологічні реакції «клітинного» типу (РБТЛ, РТМЛ) і шкірно-алергічні проби є цінною ознакою для ретроспективної діагностики і прогнозу мікозу, тому що виявляє у пацієнтів формування гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ).

Лікування мікозів. Підходи до лікування мікотичних інфекцій розрізняються залежно від виду гриба-збудника, від стану імунної системи хворого та ін.

Хірургічні методи лікування є основними при риноспоридіозі. Збудник відрізняється малою інвазивністю, але високою резистентністю до хіміотерапії. Видаляються всі поліпозні вогнища з наступною електрокоагуляцією тканини.

При локалізованих інфекціях слизових оболонок і шкіри, викликаних дріжджоподібними і міцеліальними грибами (синусит), повністю лікувати хворих тільки хірургічним методом без проведення медикаментозної етіотропної терапії, як правило, не вдається.

При отомікозах антифунгальні препарати застосовуються місцево, у той час як при мікозах слизових оболонок носа і глотки застосування тільки місцевої антифунгальної терапії практикується дуже рідко. Важливим моментом патогенетичного лікування є застосування імунотерапії.

Основними засобами етіотропної терапії мікозів є антифунгальні антибіотики і препарати з групи азолів, які володіють антифунгальними властивостями. Вони використовуються для системної та місцевої терапії мікозів, часто в поєднанні.

У разі аспергільозу накопичений досвід лікування хірургічними методами і амфотерицином В. Розширене хірургічне втручання показано при залученні в процес навколоносових пазух (верхньощелепних), орбіти і при внутрішньочерепному ураженні. У післяопераційному періоді проводиться дренування і лаваж навколоносових пазух амфотерицином В. Можливо його місцеве застосування у вигляді розчинів – зрошення, на тампонах і турундах, за допомогою інгаляції.

При прояві аспергильозу навколоносових пазух у вигляді кулястого грибкового утворення або міцетомі, які не виявляють ознак інвазії, лікування обмежується хірургічним видаленням утворення. Роль системної протигрибкової терапії в цьому випадку не визначена.

У дуже рідкісних випадках гриби роду *Aspergillus* можуть стати причиною алергічного синуситу. Лікування таких пацієнтів складається з місцевого застосування кортикостероїдів. При невдалому хірургічному лікуванні і загостренні захворювання можуть призначатися кортикостероїди системно.

Практичні рекомендації з лікування кандидозу полягають у виділенні головної ролі азольних сполук. Ці препарати ефективні, низькотоксичні, можуть застосовуватися місцево і системно. Значну проблему становлять рецидиви кандидозу слизових оболонок у багатьох пацієнтів. Це пов'язано з розвитком резистентності *Candida albicans* до азольних сполук. Тому визначення чутливості до азолів вкрай важливо при виборі препарату.

При кандидозі ротоглотки ефективні місцеві (клотримазол) і пероральні азоли (флюконазол, кетоконазол, ітраконазол), пероральні полієни (суспензії ністатину і амфотерицину В). Приблизно у 64 % хворих інфекція, рефракторна до флюконазолу, відповідає на терапію ітраконазолу.

Пастилки клотримазолу або ністатину рекомендуються використовувати при кандидозі ротоглотки, що вперше виник.

Пероральний флюконазол (дифлюкан) рівною мірою ефективний, а за деякими даними, перевершує місцеву терапію. Амфотерицин В іноді ефективний при стійкості до ітраконазолу. Внутрішньовенний амфотерицин В зазвичай виявляється ефективним при рефракторному перебігу, де він використовується як препарат останньої лінії.

Використання в лікуванні мікозів імунологічних методів заслуговує на особливу увагу. Застосування імунотерапії призводить до нормалізації механізмів антифунгального захисту ураженого організму і може висту-

пати провідним лікувальним фактором, дозволяючи обмежити етіотропну терапію її місцевим варіантом або зовсім уникнути її.

При розвитку інвазивних варіантів інфекції з ураженням вісцеральних органів або системним перебігом захворювання пріоритетна етіотропна терапія, а доповнення її імунотерапевтичними засобами обмежене. Для таких ситуацій перспективні препарати, отримані з донорського матеріалу (інтерферони, «Лейкінферон», «Лейкомакс»), перспективні рекомбінантні імуномедіатори (інтерлейкін 1).

Патогенетична терапія хворих на мікози з проявом мікогенної алергії включає в себе весь арсенал десенсибілізуючої терапії, імуносупресивну терапію глюкокортикоїдними та іншими імуносупресантами. Однак застосування всіх цих засобів проводиться на тлі або слідом за інтенсивною терапією етіотропними антифунгальними препаратами.

Таким чином, мікозні інфекції є індикаторами стану імунної недостатності, потребують своєчасної діагностики, верифікації гриба-збудника, вибору адекватної етіотропної терапії та імунної корекції.

КАНДИДОЗ

Кандидоз – мікотична інфекція, яка обумовлена дріжджоподібними (д/п) грибами роду *Candida*, що належать до сімейства *Cryptococcaceae*. До цього роду відносяться безспоріві дріжджі, у яких псевдоміцелій може бути добре розвиненим, рудиментарним або зовсім відсутнім; деякі види утворюють справжній міцелій (рис. 18).

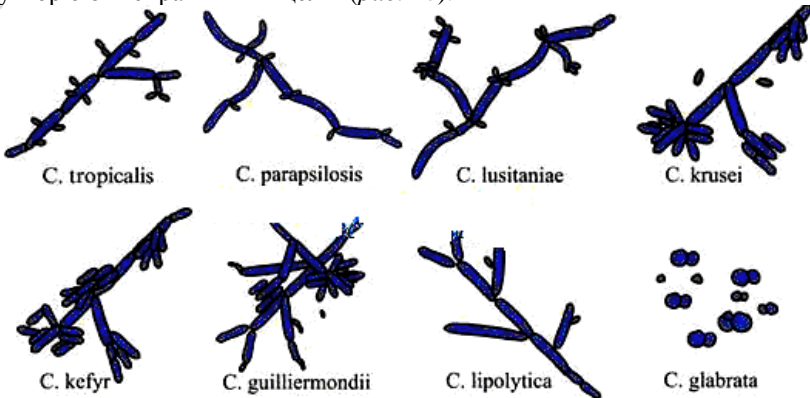


Рис. 18. Гриби роду *Candida* (представлені овальними, дріжджовими клітинами, які брунькуються, псевдогіфами і гіфами із септами)

Гриби роду *Candida* широко розповсюджені в природі. Їх можна виявити в повітрі, ґрунті, воді, предметах побуту, продуктах харчування, а також на слизовій оболонці травного тракту, геніталій і шкірі у людей.

Вважають, що до 2/3 людей є носіями (нігті, кишечник та ін.) кандидозних бластоспор, але у більшості останні знаходяться в «сплячому» стані. При вагітності, прийомі естрогенмістких препаратів (наприклад, оральних контрацептивів), антибіотиків дріжджоподібні гриби «йдуть у ріст». Кандидоз – частий супутник зниженого імунітету, тому його відносять до групи опортуністичних захворювань, що супроводжують СНІД.

Candida не утворюють каротиноїдних пігментів і не формують капсул. Рід *Candida* включає 163 види, але основну роль у патології людини відіграє обмежена кількість видів при різкому домінуванні *C. albicans*.

Морфологія: дріжджова фаза *Candida* представлена одноклітинними організмами відносно великих розмірів – $1,5 \times 1,5$ до 8×14 мкм, овальної, округлої або овально-витягнутої форми (рис. 1). Молоді клітини мають округлу або яйцеподібну форму «спори», зрілі – подовжену. Справжнього міцелію – грибних ниток – дріжджоподібні гриби не мають, а утворюють псевдоміцелій. Його нитки відрізняються від справжнього міцелію тим, що не мають загальних оболонок і перегородок, а складаються з ланцюжка тонких клітин, що стикаються одна з одною (рис. 20).

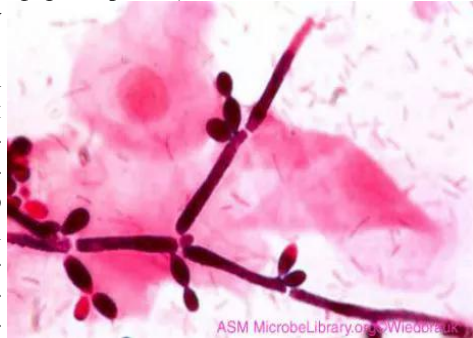


Рис. 19. Дріжджова форма *Candida*

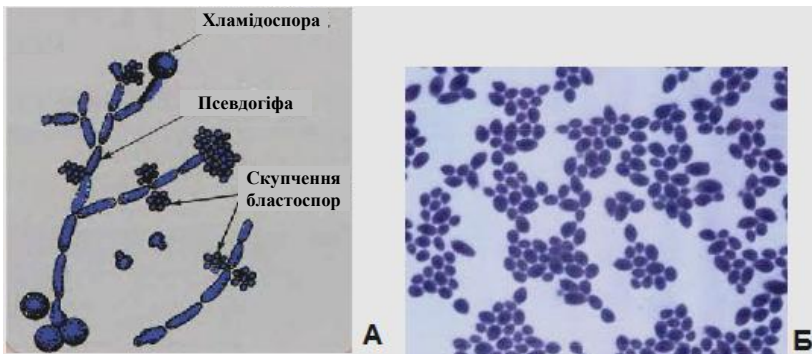


Рис. 20. *Candida albicans*: А – псевдоміцелій, Б – клітини, які брунькуються

Культуральні властивості. Вони порівняно швидко ростуть на щільних і рідких поживних середовищах, краще з додаванням вуглеводів. Оптимальна температура росту $25-28^{\circ}\text{C}$, патогенні для людини і тварин види добре ростуть при 37°C , можуть рости в діапазоні $5-40^{\circ}\text{C}$, оптимум

pH 5,8–6,5, але гриби здатні рости при кислих значеннях середовища (pH 2,5–3,0). Факультативні анаероби, при цьому анаеробний метаболізм особливо характерний для нитчастої фази. У складі клітинної стінки переважають вуглеводи (92 %), серед яких маноза становить 86 %, глюкоза – 6 %, при цьому 96 % вуглеводів пов'язані з білками глікозидазними зв'язками. Як мінорні компоненти містяться Д-галактоза, Д-ксилоза і фосфат, білки складають лише 7 %. Клітинна стінка містить хітин, концентрація якого вище в міцелії.

S. albicans на щільному середовищі утворює опуклі колонії білого або кремового кольору сметаноподібної консистенції (рис. 21); дріжджові клітини овальної або подовжено-овальної форми розміром 2,9–7,2 × 2,9–14,4 мкм, філаментують нерівномірно, скупчення дріжджових клітин (гломерули) сильно заломлюють світло і мають майже чорне забарвлення. Переважає кулястий тип зростання, причому гломерули через тісне прилягання один до одного в процесі росту деформують свою первісну кулясту форму. По периферії ниток зустрічається тип *Candida*, може виявлятися і крило подібний тип.

Клітини *S. albicans* у рідких білкових середовищах (сироватка, плазма або яєчний білок у розведеннях 1:2–1:10) протягом 2–4 год при 37 °С проростають, утворюючи короткі нитки («росткові трубки»). Цей феномен, який отримав назву RB-фактора, виявляється у переважній більшості штамів *S. albicans*, але не є строго специфічним для цього виду, тому що морфологічно подібну картину дають деякі інші види *Candida* і справжні дріжджі. Рідкісні штами *S. albicans*, що не утворюють "росткових трубок", є авірулентними.

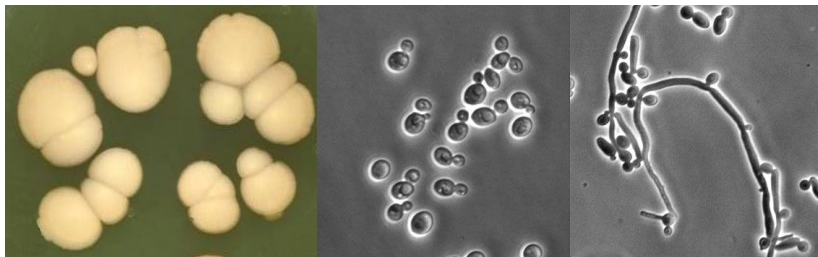


Рис. 21. Колонії і клітини *S. albicans*

Види *Candida*, є найбільш частими збудниками кандидозу, ідентифікуються за морфологічними ознаками (макро- і мікроскопічна картина дріжджової фази, характер філентації) і ферментативної активності. Для ідентифікації всіх видів *Candida* потрібні додаткові тести: визначення

асиміляції різних джерел живлення, уреазної активності, толерантності до 50 % глюкози, здатності рости на безвітамінних середовищах, розщеплення арбутину, забарвлення діазонієвим блакитним В, асиміляція гідрохлориду ацетилглюкозаміну.

За антигенною структурою *Candida* є надзвичайно гетерогенною групою, всередині якої є як родинні, так і відокремлені види. Останнє положення диктує необхідність використання для імунологічних досліджень антигенів гомологічного виду. У даний час *C. stellatoidea*, *C. clausenii* і *C. langeronii* у зв'язку з високим ступенем гомологічності ДНК віднесені до *C. albicans*.

При проникненні в тканини дріжджові клітини *C. albicans* трансформуються в міцеліальну фазу, для якої характерні зменшення товщини клітинної стінки і втрата потужного електронно-прозорого шару, характерного для дріжджової фази.

Фактори патогенності. Клітини *C. albicans* і її компоненти проявляють імуномодуючий ефект. Цілісні клітини, клітинні стінки обох фаз, а також розчинні полісахариди *C. albicans* активують систему комплементу за альтернативним шляхом, при цьому активність зазначених компонентів гриба вище, ніж ліпополісахариду *E. coli*.

Деякі ферменти *Candida* можуть розглядатися як важливі чинники агресії збудника. У мембранах і клітинній стінці *C. albicans* містяться фосфоліпази, частина яких секретується за межі клітини. За одними даними, фосфоліпазна активність властива тільки *C. albicans*, за іншими – різко посилена порівняно з гетерологічними видами. Позаклітинне виділення ферментів клітинами, що руйнуються полегшує інвазію організму життєздатними клітинами гриба, що володіють меншою фосфоліпазною активністю.

З вірулентністю *C. albicans*, *C. tropicalis* і *C. parapsilosis* пов'язують протеолітичну активність цих видів: мутанти *C. albicans*, позбавлені протеїнази, мали меншу вірулентність порівняно з вихідним штамом. Цей фермент забезпечує підвищену стійкість гриба до фунгіцидної дії гранулоцитів і макрофагів.

C. albicans у живильному середовищі, що містить роговий шар людини, виділяє протеїназу, здатну розщеплювати кератин і меншою мірою роговий шар шкіри: людське волосся стійке до дії цього ферменту.

Були виділені й охарактеризовані й інші токсичні субстанції *Candida*, а саме кандитоксин, глікопротеїновий і низькомолекулярні токсини, але їх патогенетичне значення залишається нез'ясованим.

Епідеміологія. *Candida* відносяться до умовно-патогенних мікроорганізмів із високим рівнем носійства, яке проявляє виражену тенденцію до збільшення. На слизовій піхви невагітних жінок носійство досягає 11–12,7 %, але різко збільшується в останній третині вагітності, складаючи, за різними даними, 29,3–46–86 %. У фекаліях частота виділення *Candida* досягає

80 %, на непошкодженій шкірі – до 9,5 %. Загальний рівень носійства формується до 16–18-річного віку, залишаючись надалі без істотних змін.

Первинне інфікування організму людини відбувається в родових шляхах матері, про що свідчить висока частота виділення *Candida* у новонароджених (до 58 %) і майже повний збіг видового складу *Candida* у дитини і матері. Інфікуванню сприяє збільшена частота носійства і кандидозу піхви в останній третині вагітності.

Кандидозний вульвовагініт у вагітних розвивається в 10–20 разів частіше, ніж у контрольній групі. Припускають, що вагітність є фактором у розвитку кандидозу через імуносупресивну дію високого рівня прогестерону і присутності в сироватці імуносупресивного фактора. Подальша колонізація організму дитини відбувається за рахунок предметів побуту, рук персоналу і харчових продуктів, в результаті чого до кінця 1 року майже у 60 % дітей формується ГСТ до антигенів *C. albicans*.

Новонароджені проявляють високу чутливість до екзогенного зараження: у 98,5 % інфікованих дітей на 5–6-й день життя розвивається кандидоз ротової порожнини. Прогноз захворювання сприятливий, за винятком недоношених, у яких мікоз може набувати вісцерального і генералізованого характеру.

Описано трансплацентарний шлях зараження при кандидозі, прогноз якого залежить від ступеня доношеності: при народженні дитини після 36 тиж вагітності захворювання, як правило, протікає у вигляді поверхневих уражень, які легко лікуються, а при народженні в більш ранні терміни мікоз набуває системного характеру з високою летальністю.

Роль нерациональної антибактеріальної терапії в розвитку кандидозу обґрунтована великою кількістю досліджень, у яких вирішальне значення надається пригніченню нормальної мікрофлори макроорганізму, яка конкурує з *Candida* за рецептори слизових, глюкозу як джерело живлення і блокує проникнення дріжджів через слизовий гель і пригнічує їх ріст, ймовірно, за рахунок летючих жирних кислот. Крім пригнічення нормальної мікрофлори антибактеріальні антибіотики проявляють імуносупресивну дію.

При СНІДі кандидоз слизових у структурі мікотичних ускладнень становить 80–90 %. Кандидоз слизових при нез'ясованому патогенезі (відсутність в анамнезі терапії цитостатиками, антибактеріальними антибіотиками, нормальний ендокринний статус) є маркером СНІДу. Хоча при розтині загиблих від СНІДу виявляють до 20 % випадків дисемінованого кандидозу, причиною смерті у більшості хворих є вторинні інфекції, пухлини і кахексія.

Порівняно з іншими імунодефіцитними станами, кандидоземія, незважаючи на інтенсивну колонізацію слизової зівя, зустрічається на тлі СНІДу рідко і лише в термінальній стадії захворювання. Причинами дисемінації є нейтропенія, антибіотична терапія, внутрішньовенні катетери.

Кандидоз може поширюватися вздовж усього шлунково-кишкового тракту. Легеневі ураження виникають у результаті аспірації грибів з ротової порожнини або гематогенного поширення і носять обмежений характер у вигляді ураження окремих бронхіол або нечисленних альвеол. Гриби можуть проникати в тканини вдруге, через ерозії, викликані герпетичною інфекцією.

Кандидоз, що розвинувся, викликає додаткову імуносупресію, тому вимагає антифунгального лікування. Імуносупресорною активністю володіють манан і глікопротеїн *C. albicans*.

Важливе значення в розвитку кандидозу належить ендокринопатії: цукровий діабет, гіпаратиреоїдоз, поєднання гіпоадренкортицизму, гіпаратиреоїдозу, які з поверхневим кандидозом були об'єднані в єдиний синдром.

Систематичне (до 1 року) використання контрацептивів гормональної природи призводить до збільшення як частоти носійства, так і кандидозу піхви.

Локальні кандидозні ураження виникають через порушення цілісності епітеліальних покривів (виразкові поверхні, мацерації, мікротравми).

При парентеральному проникненні збудника в результаті оперативних втручань на органах черевної порожнини і серці, використання апаратів екстракорпорального кровообігу, тривалого парентерального харчування, зондування судин і порожнин серця, порушення асептики при ін'єкціях (наркомани) розвивається генералізована форма кандидозу в осіб з нормальним імунним статусом. При екзогенному потраплянні гриба в організм основну захисну роль виконують фагоцити, в першу чергу нейтрофіли.

Поверхневі ураження слизових можуть переходити в дисеміновану форму, якщо знижується неспецифічний захист макроорганізму, який забезпечується фагоцитами, як це має місце при лейкоміях і в термінальній фазі СНІДу.

Лабораторна діагностика

Мікроскопічне дослідження є найдоступнішим методом, його можна використовувати в умовах звичайних поліклінік, де немає спеціальних лабораторій. При кандидозних ураженнях у патологічному матеріалі спостерігають скупчення 10–15 і більше дріжджових клітин, переважно з брунькуванням, у багатьох полях зору мікроскопа (*рис. 19*). Псевдоміцелій міститься у великій кількості. При гострих формах захворювання в мазках переважають клітинні форми, при хронічних – скупчення псевдоміцелію.

Культуральна діагностика відіграє найважливішу роль у постановці діагнозу. Вона дозволяє встановити вид гриба (що, як зазначалося вище, практично неможливо при мікроскопії), а також охарактеризувати ступінь обсіменіння грибами (визначити кількість дріжджових клітин в одиниці об'єму). Недоліком є необхідність спеціалізованої бактеріологічної лабо-

раторії, дотримання певних правил взяття і доставки матеріалу, очікування результатів зростання гриба на поживних середовищах (кілька днів).

Внутрішньошкірні проби проводять із полісахаридним антигеном різних видів грибів (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*). Пробу ставлять за типом реакції Манту («гудзик на туберкульоз»). Реакцію враховують через 24–48 год після проведення проби. Внутрішньошкірні проби вважають більш специфічними при хронічному перебігу кандидозної інфекції.

Серологічні реакції. Реакцію аглютинації при кандидозах вважають істинно позитивною при розведенні сироватки вище, ніж 1 : 100. Реакція зв'язування компліменту (РЗК) з полісахаридними антигенами менш чутлива, але більш специфічна порівняно з реакцією аглютинації. При відносно невеликих осередках ураження РЗК майже завжди негативна.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – відносно новий, але за рахунок високої чутливості і специфічності вельми перспективний метод. Як не парадоксально, саме висока чутливість обмежує застосування методу ПЛР в діагностиці кандидозу: результат виявляється позитивним навіть у присутності невеликої кількості ДНК гриба при носійстві, яке, як було сказано вище, широко розповсюджене.

Імунодіагностика порушень при кандидозі включає загальну оцінку імунного статусу (кількісне визначення Т- і В-лімфоцитів, функціональна активність на неспецифічні мітогени) і виявлення вибіркового імунодефіциту на антигени гриба (внутрішньошкіряна проба, РБТ, продукція MIF).

Критерії діагностики кандидозу:

1. Виявлення збудника в стерильних рідинах (кров, ліквор), пунктах закритих порожнин (плевральна порожнина або абсцеси, не сполучені з поверхнею шкіри і слизових оболонок), а також в біопсійному матеріалі (гістологічно або методом посіву).

2. Виявлення в патологічному матеріалі нитчастої форми *Candida* (справжнього міцелію або псевдоміцелію).

3. Повторні виділення одного і того ж виду гриба у великих кількостях з осередків ураження (слизові оболонки, шкіра та її придатки; абсцеси, що відкриваються свищами).

4. Виявлення в сечі грибів роду *Candida* у високих концентраціях (10^4 клітин і більше в 1 мл), позитивний антиглобуліновий тест (імунолюмінесцентне виявлення антитіл на поверхні дріжджових клітин).

5. Наявність преципітуючих антитіл у сироватці при використанні для їх виявлення цитоплазматичного антигену (зустрічна імунодифузія, зустрічний або перехресний імуоелектрофорез).

6. Виявлення в сироватці антигенів гриба.

7. Діагностика шляхом лікування – клінічне поліпшення, що супроводжується зменшенням концентрації збудника в патологічному матеріалі.

Лікування

1. Необхідно виявити і при можливості усунути патогенетичні фактори захворювання:

– дослідження імунного й ендокринного статусу;

– дослідження шлунково-кишкового тракту.

2. Провести терапію основного захворювання.

3. Застосування антимікотиків місцевої та системної дії.

При гострих формах поверхневого кандидозу шкіри та слизових оболонок ефективні місцеві антимікотичні препарати у вигляді розчину, крапель, крему, мазі, вагінальних таблеток. В останні 30 років при лікуванні кандидозу широко застосовуються препарати азольного ряду, що мають широкий спектр дії, а також полієнові антибіотики, аліламініві сполуки, похідні циклопроксаламіну.

Противірибкові препарати для системного застосування:

1. Флуконазол: дифлазол, дифлюкан, мікосист, флюкостат, форкан.

2. Ітраконазол: орунгал.

3. Кетоконазол: нізорал, ороназол.

4. Тербінафін: ламізил, екзифін.

5. Натаміцин: пімафуцин.

Противірибкові препарати для зовнішнього застосування:

1. Біфоназол: біфосин, мікоспор.

2. Клотримазол: антифунгол, кандибене, канестен, канізон, клотримазол.

3. Еконазол: екалін, екодакс.

4. Ізоконазол: травоген.

5. Кетоконазол: нізорал.

6. Міконазол + мазипредон: мікозолон.

7. Оксиконазол: міфунгар крем.

8. Нафтифін: екзодерил.

9. Тербінафін: ламізил, екзифін.

Профілактика

1. Для профілактики розвитку кандидозно-інфекції в осіб, які отримують антибактеріальні препарати, необхідно призначати противірибкові препарати. Добова доза залежить від ступеня ризику, лікування проводять протягом основної терапії.

2. Лікування хворих з кандидозом у кишечнику.

3. Попередження розвитку кандидозу у хворих з важкими соматичними та ендокринними захворюваннями, а також з імунодефіцитом (неодноразові мікологічні дослідження).

4. Профілактика дисбактеріозу.

5. Попередження розвитку кандидозу у новонароджених.

АСПЕРГІЛЬОЗ

Гриби роду *Aspergillus* є важливою причиною небезпечних для життя інфекцій у пацієнтів з імуносупресією. Ця зростаюча популяція включає пацієнтів з тривалою нейтропенією, активною ВІЛ-інфекцією, спадковими імунodefіцитами і хворих після трансплантації алогенних гемопоетичних стовбурових клітин та/або трансплантацією легень.

Аспергільоз – хвороба, що викликається різними видами цвілевих грибів роду *Aspergillus*. Частіше протікає з переважним ураженням легень, в осіб з імунodefіцитами набуває важкого септичного (генералізованого) перебігу.

Аспергільоз є причиною захворювань, які класично визначають як інвазивні, сапрофітичні або алергічні. Інвазивні захворювання, викликані грибами роду *Aspergillus*, включають інфекції нижніх дихальних шляхів, пазух носа і шкіри, як місць безпосереднього проникнення збудника. ЦНС, серцево-судинна система та інші тканини можуть бути інфіковані в результаті гематогенної дисемінації або безпосереднього розповсюдження інфекції із сусідніх ділянок. Сапрофітичні форми включають аспергільозний отомікоз і аспергільому легень. Алергічні форми включають алергічний аспергільозний синусит і алергічний бронхолегеневий аспергільоз.

Етіологія. Збудники – різні види роду *Aspergillus*. Найбільш часто виділяють від пацієнтів з інвазивним аспергільозом вид *Aspergillus fumigatus*. Наступні за частотою види це *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* і *Aspergillus terreus*. У деяких установах можуть частіше виявляти *A. flavus* або *A. terreus*.

Біологічні властивості. Морфологічно аспергіли складаються з однотипного міцелію (шириною 4–6 мкм), іноді виявляються «головки» з конідіями (рис. 22). При посіві на середовище Сабуро ростуть швидко, утворюючи плоскі колонії, спочатку білі, трохи пухнасті або оксамитові, потім набувають синюватого, коричневого, жовтуватого й іншого забарвлення залежно від виду; при цьому поверхня їх стає борошністою, порошокатою (рис. 23). Аспергіли володіють великою біохімічною активністю, продукують різні ферменти (протеолітичний, сахаролітичний, ліполітичний), а деякі види містять ендотоксини, при введенні яких експериментальним тваринам розвиваються паралічі і настає їх загибель. Мають алергізуючу дію. З дезінфікуючих засобів на аспергіли найбільш активно діють розчини карболової кислоти і формалін.

Епідеміологія. Аспергіли широко розповсюджені в природі. Їх постійно можна знайти в ґрунті, зерні, борошні, сіні (особливо запліснявiliх), в пилу приміщень, де обробляються шкіри, вовна, прядиво. Виявляються аспергіли навіть у пилу лікувальних установ, що обумовлює внутрішньолікарняне інфікування. Збудник проникає в організм, як правило, через повітря з пилом.

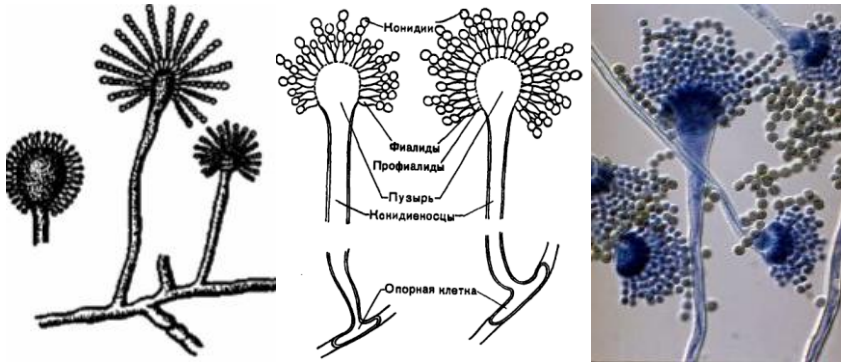


Рис. 22. Конідії роду *Aspergillus*

З професійних груп частіше уражаються працівники сільського господарства, ткацьких і паперопрядильних підприємств. Захворювання в ослаблених осіб може виникнути і як ендогенна інфекція, оскільки на слизовій оболонці зіва здорових людей іноді виявляються аспергілі.

За останні роки актуальною проблемою став аспергілез в осіб з різними імунodefіцитами. Зокрема, у 20 % таких



Рис. 23. Колонії роду *Aspergillus*

хворих розвиваються мікози, а серед останніх більше 70 % припадає на аспергілез. Спостерігаються внутрішньолікарняні зараження імунodefіцитних пацієнтів пилом, що містить аспергілі (повітряно-пилова передача інфекції). Випадків зараження людини від хворих людей не спостерігається.

Патогенез. Збудник аерогенним шляхом потрапляє на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів. Може наставати інфікування через шкіру, звичайно змінену будь-яким іншим патологічним процесом. Провідну роль у патогенезі аспергілезу відіграє зниження імунного захисту організму. Аспергілез ускладнює різні патологічні процеси шкіри, слизових оболонок, внутрішніх органів. Зокрема, легеневі форми аспергілезу виникали на тлі бронхоектатичної хвороби, абсцесів легенів, туберкульозу і раку легенів, хронічного бронхіту та ін. В останні роки аспергілез став особливо часто спостерігатися в осіб з імунodefіцитами (вроджені імунodefіцити, особи, які отримують протипухлинну хімотерапію, імунodefіцитанти, а також ВІЛ-інфіковані). Він зустрічається значно частіше, ніж інші глибокі мікози. В ослаблених осіб спочатку уражаються грибом легені, потім залучається плевра, лімфатичні вузли. Струмом крові аспергілі можуть заноситися в інші органи, утворюючи там специфічні гранульоми, що звичайно призводить до формування абсцесу. З легеневого аспергілезу перетворюється

на генералізований (септичний) і нерідко (понад 50 %) закінчується загибеллю хворого. При масивній інгаляції спор аспергіл у осіб з нормальною імунною системою може виникнути гостра дифузна пневмонія, що закінчується самовидужанням.

Симптоми і перебіг. Інкубаційний період точно не встановлено. Аспергіли можуть уражати будь-які органи і тканини. До клінічних проявів можна віднести наступні форми аспергілозу: 1) бронхолегеневий; 2) генералізований (септичний); 3) ЛОР-органів; 4) ока; 5) шкіри; 6) кісток; 7) інші форми (ураження слизових оболонок рота, геніталій, мікотоксикоз та ін.).

Бронхолегеневий аспергілоз може проявлятися спочатку як аспергілозний бронхіт або трахеобронхіт. Спочатку аспергіли знаходяться в поверхневих шарах слизової оболонки бронхів, потім процес поширюється глибше, утворюються поверхневі й більш глибокі виразки. Захворювання протікає хронічно, хворого турбує загальна слабкість, кашель з виділенням сірого кольору мокротиння, іноді з прожилками крові. У мокротинні можуть виявлятися грудочки, у яких містяться аспергіли. Процес зазвичай прогресує, захоплює легені, розвивається аспергілозна пневмонія. Легенева форма мікозу може бути гострою і хронічною. При гострих формах підвищується температура тіла, лихоманка звичайно неправильного типу, нерідко відзначаються повторні озноби, з'являється кашель з рясним виділенням слизисто-гнійного або кров'яного мокротиння. У деяких хворих мокротиння містить зеленувато-сірі грудочки, у яких при мікроскопії виявляються скупчення міцелію і спор гриба. З'являються задишка, біль у грудях, нічні поти, наростає слабкість, схуднення. При вислуховуванні відзначаються вологі хрипи, іноді шум тертя плеври. У крові лейкоцитоз (до $20 \times 10^9/\text{л}$), еозинофілія, ШОЕ збільшена. При рентгенологічному дослідженні виявляється запальна інфільтрація у вигляді овальних або округлих інфільтратів, схильних до розпаду. Навколо порожнин, що утворюються, можна побачити широкий інфільтративний вал.

Хронічні форми легеневого аспергілозу зазвичай вторинні і нашаровуються на різні ураження легень (бронхоектази, каверни, абсцеси). Клінічна картина складається із симптомів основного захворювання і уражень, обумовлених аспергілозною інфекцією. Іноді хворі відзначають запах цвілі з рота, в мокротинні можуть з'явитися зеленуваті грудочки, що складаються зі скупчень гриба. Рентгенологічно характерним є заповнення порожнин, що виникають в результаті основного захворювання, своєрідною тінню у вигляді кулі з повітряним прошарком між тінню кулі і стінками порожнини. Цей прошарок газу виявляється у вигляді своєрідної серпоподібної порожнини («ореола»). Летальність при легеневому аспергілозі коливається від 20 до 37 %.

Септичні (генералізовані) форми аспергілозу розвиваються на тлі різкого пригнічення імунітету (хворі на СНІД та ін.). Ця форма характери-

зується гематогенним поширенням аспергил з утворенням метастазів у різних органах і тканинах. Можуть спостерігатися ураження шлунково-кишкового тракту (нудота, блювання, запах цвілі з рота, рідкі пінисті випорожнення, що містять велику кількість аспергил), абсцеси головного мозку, специфічні увеїти, множинні ураження шкіри у вигляді своєрідних вузлів. Спостерігаються і зміни органів дихання, з яких зазвичай і починається аспергільозний сепсис. У хворих на СНІД ознаки аспергільозу поєднуються з проявами основного захворювання та опортуністичних інфекцій (пневмоцистоз, саркома Капоші, криптоспоридіоз, кандидоз, генералізована герпетична інфекція та ін.). На цьому тлі аспергільозний сепсис або генералізований аспергільоз призводить до летального результату.

Аспергільоз ЛОР-органів проявляється у вигляді зовнішнього та середнього отиту, після операцій на внутрішньому вусі, аспергільоз з ураженням слизової оболонки носа і придаткових пазух – аспергільозу гортані. Може бути аспергільозне ураження шкіри і нігтів. Професійний аспергільоз може розвиватися в осіб, що мають контакт із спорами різних видів аспергилів (ткацькі фабрики, шпагатно-прядильні, виробництво солоду та ін.). Аспергільоз частіше протікає у них у вигляді хронічного бронхіту, іноді з симптомами бронхоспазму.

Перебіг аспергільозу у хворих на СНІД. Аспергільоз є найчастішим мікозом, що розвивається на тлі імунodefіциту. Він виникає в кінці передСНІДу, частіше вже при розгорнутій клінічній симптоматиці СНІДу. Інфікування настає екзогенним повітряно-пиловим шляхом, що може відбуватися і під час перебування в лікувальному відділенні. Захворювання розвивається швидко, спочатку у вигляді легеневого аспергільозу, який потім переходить в септичну (генералізовану) форму і супроводжується ураженням багатьох органів і систем. Протікає важко.

Діагностика. При розпізнаванні аспергільозу враховуються епідеміологічні причини (професія, наявність хвороб, що послаблюють імунітет, та ін.). З уражень бронхів і легенів діагностичне значення має тривалий перебіг хвороби, утворення характерних інфільтратів з наступним розпадом, характер мокротиння, лейкоцитоз, еозинофілія. Підтвердженням діагнозу служить виділення збудника (з мокротиння, матеріалу, взятого з бронхів, біоптатів уражених органів). Бронхоальвеолярні змиви, трансторакальний черезшкірний пунктат з аспірацією, торакоскопічна біопсія є стандартними процедурами для постановки діагнозу інвазивного аспергільозу легенів. У рідинах і зразках тканин, отриманих у ході цих процедур, при прямій мікроскопії можна виявити характерний розгалужений під кутом міцелій із септами, а при культуральному дослідженні виділити гриби роду *Aspergillus*. Де це можливо, зразки, отримані в ході цих процедур, пересівають на грибові середовища для оптимального росту *Aspergillus*. Однак результати цитологічного дослідження, гістологічного

дослідження, безпосереднє дослідження мазка і культуральне дослідження можуть бути помилково негативні, якщо вони отримані від пацієнтів, які вже отримують системну протигрибкову терапію, а також у випадках, коли діагностичні процедури не могли бути виконані безпосередньо в ураженій ділянці. Таким чином, відсутність позитивної культури або негативні результати прямої мікроскопії не виключають діагнозу інвазивного аспергільозу. Культуральне підтвердження у випадках, коли це можливо, є важливим етапом для диференціювання аспергільозу від інших міцеліальних грибкових інфекцій типу фузаріозу і сцедоспоріозу. При негативних результатах культурального дослідження використовують імуноферментний тест на галактоманан або D-глюкан і дані КТ. Досить часто міцелії грибів *Aspergillus* виявляють у гістологічному препараті у пацієнтів з імуносупресією і клінічними проявами інфекції.

Діагностика, що заснована на методі ПЛР, який визначає *Aspergillus*-специфічні грибкові гени, перспективна для аспергільозу. Однак ці системи не були стандартизовані, недоступні для комерційного використання і поки залишаються на стадії дослідження.

З крові аспергіли виділяються дуже рідко навіть при генералізованих формах аспергільозу. Діагностичне значення має поява антитіл до збудника, що виявляються за допомогою серологічних реакцій (РЗК та ін.). Шкірні проби зі специфічним аспергільозним антигеном можна використовувати лише при мікозі, що відносно доброякісно протікає в осіб з нормальною імунною системою. Слід враховувати, що у ВІЛ-інфікованих вже на стадії передСПІДу реакції гіперчутливості уповільненого типу стають негативними.

Лікування легеневого і генералізованого аспергільозу є важкою задачею. Хіміотерапія малоефективна. Для терапії легеневого аспергільозу з обмеженим інфільтратом в останні роки успішно застосовують хірургічні методи (лобектомія з резекцією уражених ділянок легень). У більшості хворих операція протікає без ускладнень і дає гарні віддалені результати (рецидивів не спостерігається). При поширенні процесу на багато органів хірургічні методи використовуються в комплексі з консервативним лікуванням. Призначають препарати йоду всередину в наростаючих дозах. Із протимікозних антибіотиків використовують амфотерицин В. При легневих формах аспергільозу показані інгаляції розчинів йодиду натрію, ністатин натрієвої солі, 0,1 % розчин діамантового зеленого. При нашаруванні вторинної інфекції (зазвичай стафілококової) можна застосовувати оксацилін або еритроміцин. Антибіотики тетрациклінової групи і левоміцетин протипоказані, тому що вони сприяють виникненню аспергільозу. Призначають вітаміни і загальнозміцнююче лікування.

При лікуванні аспергільозних уражень шкіри і слизових оболонок місцево використовують протизапальні і протимікозні препарати.

Прогноз. При легеневих формах летальність складає 20–35 % (в осіб з імунodefіцитами, не пов'язаними з ВІЛ-інфекцією – близько 50 %). При генералізованій (септичній) формі прогноз несприятливий. При аспергільозі шкіри і слизових оболонок прогноз сприятливий.

Профілактика і заходи у вогнищі. Боротьба з пилом і травматизмом на виробництві. Носіння респіраторів робітниками на млинах, зерноскладах, овочесховищах, ткацьких підприємствах. У лікувальних установах для осіб з імунodefіцитами вдається значно зменшити частоту екзогенного інфікування аспергільозом шляхом очищення повітря, що надходить у палати спеціальними повітряними фільтрами. Для попередження вторинних (легеневих) аспергільозів важливо раннє розпізнавання і лікування основного захворювання.

ПНЕВМОЦИСТОЗ

Вперше *Pneumocystis jiroveci* була виявлена С. Chagas в 1909 р. в тканинах тварин і, оскільки її вивчення було утруднене, тому що вона практично не культивується на поживних середовищах, *P. jiroveci* не розглядалася як патогенний для людини мікроорганізм. Тільки в 1942 р. *P. jiroveci* вперше пов'язують з патологією людини, коли верифікують мікроб у легенях новонародженого, померлого від інтерстиціальної пневмонії. Активне вивчення *P. jiroveci* починається в 50-х роках у результаті спалахів у дитячих будинках інтерстиціальної пневмонії, що не піддавалася лікуванню сульфаніламидами і антибіотиками і призвело до летальних наслідків. У 1955 р. *P. jiroveci* виділяють у хворого на пневмонію, що протікає на тлі вродженої В-клітинної агаммаглобулінемії, що відкриває еру дослідження пневмоній у хворих з різними імунodefіцитами. У 1981 році *P. jiroveci* виявляється як етіологічний фактор важкої пневмонії у хворого на СНІД, і з тих пір переважна увага приділяється вивченню пневмоцистної пневмонії при даній патології.

У природних умовах *P. jiroveci* зустрічається практично у всіх тварин: диких, синантропних і сільськогосподарських (щурів, мишей, зайців, великої рогатої худоби, свиней, кіз, овець, собак). Відзначено важкий перебіг епізоотій у свиней.

Пневмоцистоз – захворювання, обумовлене *P. jiroveci*, що є однією з найбільш частих причин розвитку пневмоній у осіб з ослабленим імунітетом.

Пневмоцистоз може протікати у вигляді гострих респіраторних захворювань, загострень хронічних бронхолегеневих захворювань, а також (найважча його форма) у вигляді пневмоцистної пневмонії. З усього спектра захворювань, при яких визначаються пневмоцисти, найбільш вивчена пневмоцистна пневмонія (ПП).

Етіологія. Збудник *P. jiroveci* – позаклітинний паразит із суворим тропізмом до легеневої тканини, що уражає пневмоцисти 1 і 2 порядку. На

підставі ряду морфологічних ознак, нездатності до зростання *in vitro*, відсутності реакції на протигрибкові препарати пневмоцисти раніше відносили до типу найпростіших, хоча повної ідентичності з найпростішими у них не визначалося. За останні роки на підставі аналізу послідовності ДНК, ліпідного складу стінки, реакції на амфотерицин, гена H^+ATP -ази та іншого отримані вагомі докази належності мікроба до класу грибів, а саме – до аскоміцетів, філогенетично пов'язаних із *Schizosaccharomyces pombe*.

Місцем природного проживання в нормальних умовах є легені. Мікроскопічно *P. жіговесі* визначаються у вигляді 4 форм, які відображають 4 стадії її розвитку: дрібних (1–5 мікрон) тонкостінних трофозоїтів (овальної або амебоподібної форми з 2-шаровою оболонкою) і прецист (овальної форми без псевдоподій), і більших цист (5–7 мікрон, із відносно товстою оболонкою), що містять до 8 ядер – внутрішньоцистичних тілець (діаметром 1–2 мікрона, оточених тонкою 2-шаровою мембраною), що є попередниками позацистичних трофозоїтів (рис. 24). Дрібні тонкостінні трофозоїти ростуть і перетворюються на великі тонкостінні прецисти, які, дозріваючи, стають товстостінними цистами, і шляхом прямого розподілу, або шизогонії, у них виникають спорогонії, які потім виходять з материнського спорозоїта і визначаються як дрібні тонкостінні трофозоїти. Коли зріла циста розривається, спорозоїти або продовжують цикл розвитку в альвеолах, перетворюючись на трофозоїт, або виходять у зовнішнє середовище (з крапельками слизу при кашлі) і, у разі набуття нового господаря, також включаються у свій цикл розвитку. У забарвлених гістологічних препаратах визначаються зазвичай лише багатоядерні цисти (рис. 25).

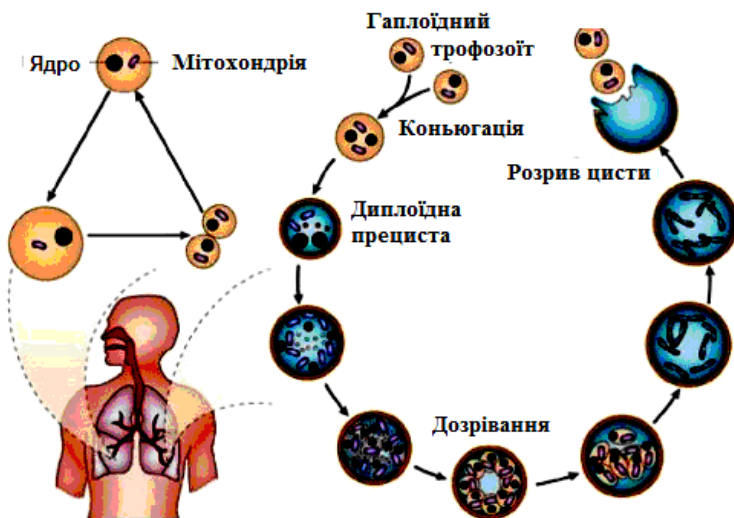


Рис. 24. Життєвий цикл *Pneumocystis jirovecii*

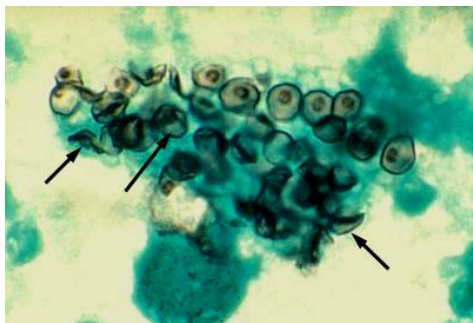


Рис. 25. Цисти *Pneumocystis jirovecii*

Весь життєвий цикл *P. jirovecii* проходить в альвеолах. *P. jirovecii*, розмножуючись в організмі господаря, прикріплюється до епітелію легенів, атакуючи пневмоцити 1 і 2 порядку і альвеолярні макрофаги. *Pneumocystis jirovecii* є, таким чином, позаклітинним паразитом, що провокує у господаря запальну відповідь. Під електронним мікроскопом видно, як при пневмонії *P. jirovecii* розташовуються уздовж стінок альвеол, тісно прилягаючи до пневмоцитів 1-го типу, у яких і визначаються максимальні зміни. *P. jirovecii* поширюються повільно і поступово заповнюють альвеолярний простір.

Епідеміологія. Більшість авторів визнає, що пневмоцистна інфекція у людини не є зоонозою, оскільки у *P. jirovecii* сильно виражена специфічність господаря, що підтверджується наявністю генетичної дивергенції *P. jirovecii* у п'яти різних видів ссавців. Однак безумовно епідеміологічні джерела *P. jirovecii* інфекції залишаються невідомими: людина це чи тварина або зовнішнє середовище, також як не вивчена тривалість збереження *P. jirovecii* поза дихальних шляхів на об'єктах навколишнього середовища.

Про можливість поширення інфекції від людини до людини свідчать наступні дані:

1) титри антипневмоцистних антитіл значно вище у медичних працівників, що контактують з хворими на пневмоцистну пневмонію;

2) у повітрі приміщень, де перебувають хворі з пневмоцистною пневмонією, визначається ДНК *P. jirovecii*;

3) є повідомлення про сімейні спалахи пневмоцистної пневмонії і епідемічні спалахи в межах одного відділення.

Результати серологічних досліджень показують, що більшість людей перенесли безсимптомну пневмоцистну інфекцію в перші роки життя.

У 80 % дітей, які досягли 3 років, із нормальним імунітетом виявляються антитіла до *P. jirovecii*, на підставі чого зроблено висновок про те, що сероконверсія відбувається в ранньому віці, коли дитина інфікується мікробом. Протипневмоцистні антитіла виявляються у 71 % дітей у віці від 11 до 15 років. Пневмоцисти передаються повітряно-краплинним шляхом. Відомо, що від 1 до 10 % здорових людей є носіями пневмоцист. Клінічні ознаки пневмоцистозу спостерігаються лише в ослаблених дітей

і в імуноскомпрометованих осіб (хворі на СНІД, а також пацієнтів, які отримують імуносупресори). Описані спалахи пневмоцистної пневмонії в стаціонарах, де знаходилися на лікуванні хворі з вищезазначеною патологією.

Серед хворих на СНІД пневмоцистоз є однією з найбільш частих опортуністичних інфекцій (більше 80 %) і при відсутності лікування майже завжди призводить до летального результату. У інших хворих з ослабленим імунітетом пневмоциста виділяється в 40 % випадків.

Важкі пневмонії, викликані *P. jiroveci*, в основному виникають у осіб з ознаками значного пригнічення імунної системи, зокрема, в ослаблених недоношених новонароджених, при вроджених агаммаглобулінеміях, СНІДі, а також при застосуванні імуносупресивної терапії при злоякісних новоутвореннях, колагенозах, колагенових, лімфопроліферативних і гематологічних захворюваннях, трансплантації органів та ін.

За даними експериментів на тваринах, інкубаційний період триває від 4 до 8 тиж.

Патогенез захворювання визначається механічним ураженням інтерстиціальної тканини легенів як власне паразитом, так і запальними клітинами. Стінки альвеол інфільтруються мононуклеарами, клітини інтерстиція – плазматичними клітинами. Товщина альвеолярної стінки збільшується в 5–20 разів, унаслідок чого розвивається альвеолокапілярний блок. *P. jiroveci* при цьому не проникають ані в кровеносні, ані в лімфатичні судини, ані в міжальвеолярні перегородки, і в переважній більшості випадків не відбувається дисемінація збудника в інші органи, однак у хворих на СНІД не виключається дисемінація і позалегенева локалізація пневмоцистозу.

Передбачається, що в імунокомпетентних осіб при наявності специфічних антитіл, які фіксують комплемент на поверхні мікроба, *P. jiroveci* фагоцитуються і руйнуються альвеолярними макрофагами.

На клітинній поверхні *P. jiroveci* ідентифікований глікопептид, що несе антигенні властивості, характерні і для легеневої тканини, що робить певний внесок у невразливість *P. jiroveci* для імунної системи господаря, і не виключено, що внаслідок зазначеного паразит широко розповсюджений серед населення.

Відзначається місцева і системна продукція антитіл у відповідь на *P. jiroveci*, але утворені антитіла не проявляють повноцінну протективну дію. Хворі на СНІД ще менш здатні на гуморальну відповідь до *Pneumocystis jiroveci*.

Визнано, що виражене зменшення числа і/або функції Т-лімфоцитів є тим критичним імунодефіцитним станом, який необхідний для розвитку ПП, однак є переконливі дані про те, що стан гуморального імунітету також відіграє велику роль у виникненні захворювання. Так, у більшості хворих на СНІД на час першого епізоду пневмоцистної пневмонії кількість CD4+лімфоцитів становить від 50 до 75/мл, а більше 90 % всіх випадків розвивається при кількості CD4+лімфоцитів менше 200/мл. Якщо пацієнт із числом CD4+лімфоцитів менше 200/мл не отримує протипнев-

моцистну профілактику, ризик розвитку пневмоцистної пневмонії становить 8,4, 18,4 і 33,3 % протягом 6, 12 і 36 міс відповідно.

Токсинів паразит не продукує. Запальні зміни при ПП можуть бути дуже слабкі і неспецифічні, а можуть визначатися й інтенсивні інфільтрати з плазматичних клітин, що і лягло в колишню назву хвороби «інтерстиціальна плазматична пневмонія».

Симптоми і перебіг. Пневмоцистоз у дітей розвивається зазвичай на 4–6-му місяці життя (недоношені, хворі на рахіт, гіпотрофію, з ураженнями ЦНС) і в більш старших вікових групах (при гемобластозі, злоякісних новоутвореннях, СНІДі). Захворювання починається поступово, у дитини знижується апетит, припиняється збільшення маси тіла, з'являються блідість і ціаноз носо-губного трикутника, легке покашлювання. Нормальна на початку захворювання температура змінюється на субфебрильну з підйомами до фебрильної. У легенях з'являються непостійні дрібно- та середньопухирчасті хрипи. З'являються задишка (до 50–70 за 1 хв), ціаноз, кашель кашлюкоподібного характеру. Нерідко кашель супроводжується виділенням пінистого мокротиння, в якому можуть виявлятися пневмоцисти. Рентгенологічно реєструються вогнищеві тіні різної величини і щільності, що дають картину «хмареподібних» легень. У крові виявляється лейкоцитоз, помірна еозинофілія і збільшення ШОЕ.

Іноді пневмоцистоз у дітей протікає під маскою гострого ларингіту, обструктивного бронхіту або бронхіоліту. У ряді випадків настає летальний результат при клінічній картині набряку легенів.

У дорослих пневмоцистоз розвивається в осіб, які отримують імуносупресивну терапію (зазвичай – кортикостероїди), і у хворих на СНІД. При медикаментозній імуносупресії захворювання часто маніфестується на тлі зниження дози кортикостероїдів. Продромальний період триває зазвичай 1–2 тиж, а у хворих на СНІД він досягає 10 тиж. Поступово з'являється субфебрилітет, помірна задишка при фізичному навантаженні, сухий кашель, болі в грудній клітці. Через 1–2 тиж можуть з'явитися лихоманка, задишка в спокої, посилюється сухий кашель (продуктивний кашель відзначається рідко). При огляді виявляється тахіпное, тахікардія, ціаноз. У легенях часто вислуховуються сухі, рідше – вологі хрипи. Кількість лейкоцитів зазвичай залежить від фонового захворювання.

Пневмоцистна пневмонія при СНІДі зазвичай характеризується млявим хронічним перебігом. Спочатку аускультативна симптоматика не виявляється, рентгенологічна картина теж може залишатися без патологічних змін. У міру прогресування захворювання з'являються двосторонні прикореневі інфільтрати, що трансформуються потім або в фокусні, або інтерстиціальні зміни. Зрідка виявляються солітарні вузлики, які можуть перетворюватися на каверни утворенням з великої центральної порожнини. Причиною абсцедування, ймовірно, є приєднання бактеріальних і мікозних інфекцій.

Таким чином, найбільш характерні для ПП клінічні симптоми: болісний сухий кашель, поворотна лихоманка невстановленої причини, нічна пітливість, наявність молочниці на орофарингеальних слизових, а також немотивована втрата маси тіла, які асоціюються з рівнем у крові CD4-лімфоцитів нижче 200 на 1 мл.

Швидке наростання симптомів, гарячки, поява продуктивного кашлю свідчить про приєднання гнійної бактеріальної інфекції, тоді ПП може асоціюватися з банальною пневмонією, і в цих випадках необхідно призначати антибактеріальну терапію.

Ускладнення. Провідним ускладненням, що найчастіше обумовлює летальність, є дихальна недостатність, пов'язана з різким порушенням вентиляції і газообміну. Можливі також такі ускладнення, як абсцеси, спонтанний пневмоторакс (на тлі утворення дрібних легневих кіст), ексудативний плеврит.

Імунітет при пневмоцистозі нестійкий. Рецидиви ПП відзначаються у 10 % дітей і дорослих з імунодефіцитними станами, при СНІДі – у 25 % хворих.

Діагноз і диференційний діагноз. З огляду на те, що клінічні прояви пневмоцистозної пневмонії малоспецифічні, а розгорнута клініко-рентгенологічна картина з'являється значно пізніше від початку захворювання (особливо при СНІДі), рання етіологічна діагностика набуває величезного значення, оскільки дозволяє своєчасно розпочати відповідне лікування.

У хворих на СНІД діагноз ПП поставити легше на підставі наступних ознак:

- 1) ШОЕ близько 50 мм/год,
- 2) ЛДГ вище 220 МЕ;
- 3) рентгенологічно-дифузні інтерстиціальні зміни від коренів до периферії.

Пневмоцисти в мокротинні хворих виявляють вкрай рідко, а способів культивування пневмоцист людини поки ще не розроблено. Серологічні методи визнані досить ненадійними. З цих причин основною можливістю ідентифікації збудника є гістологічне дослідження рідини бронхоальвеолярного лаважу і трансbronхіальних біоптатів, здійснюване за допомогою фібробронхоскопії.

Проводиться пряма мікроскопія забарвлених мазків мокротиння або бронхоальвеолярного змиву за Романовським–Гімзою, а також іншими, більш ефективними методами – при імпрегнації сріблом за Гоморі (рис. 26), толуїдиновим синім та ін.

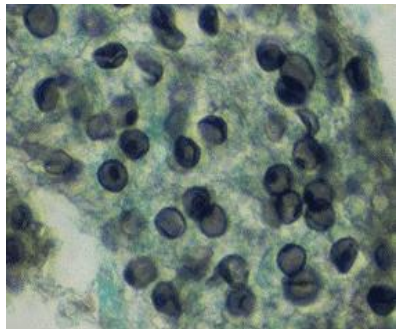


Рис. 26. Цисти *P. jirovecii* (забарвлення метиламіном срібла за методом Гоморі)

Помірний ступінь інвазивності і відносна простота фібробронхоскопії дозволяють вважати даний метод обов'язковим дослідженням при обстеженні хворих з різними порушеннями імунної системи і при інтерстиціальних пневмоніях неясного генезу.

Для діагностики пневмоцистозу застосовується також реакція імунофлюоресценції, заснована на визначенні титру сироваткових протипневмоцистних IgG і IgM, проте серологічна діагностика має скоріше орієнтовний характер і менш достовірна, ніж мікроскопічна.

Високу діагностичну точність можна отримати за допомогою ДНК-полімерази, а також за допомогою моноклональних антитіл. Крім того, для ПП характерно також інтенсивне поглинання галію-67 навіть при нормальній рентгенологічній картині легенів.

Лікування. Основними препаратами для лікування пневмоцистної пневмонії є триметоприм-сульфаметоксазол (бактрим, бісептол) і пентамідин ізотіонат. Бактрим є інгібітором системи фолієвої кислоти, а пентамідин пошкоджує системи репродукції пневмоцист.

Відзначено, що поєднання бактриму і пентамідину не збільшує ефективності терапії і підсилює токсичність пентамідину. Заміну одного препарату іншим проводять, якщо один з них не викликає суттєвої позитивної динаміки клінічних проявів протягом 5–7 днів.

Для лікування пневмоцистозу у хворих на СНІД останнім часом все ширше застосовується альфа-дифформетилорнітин (ДФМО). Препарат добре переноситься, малотоксичний. Крім дії на пневмоцисти ДФМО блокує реплікацію ретровірусів і цитомегаловірусів, чинить також імуномодуючу дію (відновлює функції Т-супресорів і підвищує імунорегуляторний індекс ОКТ4/ОКТ8).

При сприятливому перебігу захворювання стан починає поліпшуватися в середньому через 4 дні після початку терапії. Поступово нормалізується температура тіла, покращуються об'єктивні показники ФЗД, рентгенологічна картина. Через 3–4 тиж у 20–25 % хворих пневмоцисти не виявляються.

Без специфічного лікування від ПП вмирають 50 % дітей раннього віку, 40 % старших дітей, 70 % хворих на СНІД, 5 % хворих із лімфопроліферативними захворюваннями.

Прогноз. У даний час вважається, що пневмоцисти викликають безсимптомну інфекцію у здорового господаря, але у хворого з ослабленим імунітетом при відсутності лікування вони є причиною пневмонії з майже незмінно летальним результатом.

Серед недоношених дітей смертність від пневмоцистної пневмонії становить 50 %, але рецидивів практично не спостерігається. При пневмоцистній пневмонії у дорослих, які не страждають на СНІД, прогноз більш сприятливий і визначається більшою важкістю фонового захворювання, вмістом лейкоцитів, характером супутньої опортуністичної інфекції.

У хворих на СНІД при відсутності лікування пневмоцистна пневмонія завжди призводить до летального результату. При пізній діагностиці летальність при первинному захворюванні близько 40 %, своєчасно розпочате лікування дозволяє знизити летальність до 25 %. Однак навіть через кілька місяців можливі рецидиви пневмоцистної пневмонії від 10 до 30 %.

Профілактика і заходи у вогнищах. Застосування бактриму попереджає розвиток пневмоцистної пневмонії серед груп із високим ризиком зараження. Препарат добре переноситься при тривалому застосуванні у всіх пацієнтів, за винятком хворих на СНІД, оскільки бактрим не викликає безпосередньої загибелі пневмоцист, профілактичний ефект проявляється лише в період його застосування.

Можлива контагіозність пневмоцистозу вимагає ізоляції хворих. Після виписки хворих необхідна заключна дезінфекція палат: вологе прибирання, ультрафіолетове опромінення і обробка предметів 5 % розчином хлораміну.

ЗИГОМІКОЗ

Зигомікоз – захворювання, що не надто часто зустрічається порівняно з іншими опортуністичними мікозами, такими як кандидоз та аспергільоз. Перший випадок зигомікозу описаний Paultauf у 1885 р. Його опис є досить повним для припущення про те, що збудником захворювання є *Absidia corymbifera*. Спочатку більшість збудників зигомікозу відносили до грибів роду *Mucor*, однак пізніше їх повторно класифікували в різні роди і сімейства порядку *Mucorales*.

Незабаром стало очевидним, що серед збудників зигомікозу переважають *Rhizopus* spp., а не *Mucor* spp. У міру накопичення інформації про дану патологію, став очевидний зв'язок зигомікозу з онкологічними захворюваннями, цукровим діабетом, тривалим застосуванням антибіотиків, кортикостероїдів, дефероксаміну, імуносупресорів.

У міру вдосконалення діагностики розширився спектр збудників. Поряд з представниками родів *Rhizopus*, *Mucor* і *Absidia* стали ідентифікувати види родів *Rhizomucor*, *Apophysomyces*, *Saksenaea*, *Cunninghamella*, *Sokeromyces*, і *Syncephalastrum* spp. Відповідно й опис клінічної картини захворювання також став більш різноманітним. Якщо раніше виділяли переважно риноцеребральні, легеневі і дисеміновані форми зигомікозу, то до теперішнього часу стали також відомі гастроінтестинальна, шкірна і підшкірна форми, алергічна реакція і безсимптомна колонізація.

Із вдосконаленням клініко-лабораторних методів стало можливим встановити діагноз на більш ранніх стадіях захворювання, а завдяки розробкам нових хірургічних методів лікування і успіхам антимікотичної терапії в даний час вдається уникнути 100 % летальності, яка супроводжувала зигомікоз у недалекому минулому.

Етіологія. Збудники зигомікозу – нижчі гриби, які в царстві грибів є представниками самостійного відділу Zygomycota. Цей відділ розділений на два класи: Trichomycetes, які не є патогенними для людини, і Zygomycetes, який містить патогенні види. Клас Zygomycetes поділений на три порядки: Mucorales, Mortierellales і Entomophthorales. Порядок Mucorales розділений на п'ять родин: Mucoraceae, Cunninghamellaceae, Saksenaaceae, Thamniaceae, Synccephalastraceae. До родини Mucoraceae відносять представників родів Rhizopus, Mucor, Absidia, Rhizomucor і Aporhysomyces – найбільш частих збудників зигомікозу.

Зигомікоз у людей переважно викликають мікроміцети роду Rhizopus, головним чином, Rhizopus oryzae і Rhizopus microsporus. Рідше збудниками захворювання є Mucor spp. (M. indicus, M. circinelloides та ін.). У сімействі Cunninghamellaceae тільки Cunninghamella bertholletiae є патогенним для людини.

Морфологія. Більшість зигоміцетів характеризується широким міцелієм (до 10 мкм), частіше з рідкісними септами, або ж з повною відсутністю перегородок. Спори зазвичай одноклітинні, розміром від 4 до 8 мкм і не несуть особливих міток на їх гладкій, колючій або сітчастій поверхні. Безстатеве розмноження відбувається за допомогою нерухомих спорангіоспор; статеве розмноження – зигоспора. Гриби роду ризопус (Rhizopus) утворюють нерозгалужені, пофарбовані в темно-бурий колір спорангіеносці, що ростуть пучками (кущиками). Біля основи останніх є коренеподібні утворення – ризоїди (рис. 27, а), за допомогою яких гриб прикріплюється до субстрату. Спорангії великі з темнозбарвленими спорами мають вигляд чорних «головок» на спорангіеносцях, за що ризопус отримав назву «головчаста цвіль». Ризопус поширюється по субстрату дуже швидко за допомогою довгих сланких гіф (столонів), що нагадують вуса суниці.

Мукорові гриби характеризуються різноманітністю будови органів безстатевих спороношення. Гриби роду мукор (Mucor) мають великі спорангії, що утворюються на одиночних, простих або розгалужених спорангіеносцях (рис. 27, б). Види цього роду відрізняються один від іншого за формою і забарвленням спорангіоспор, за формою хламідоспор та ін.

Поширеність. Гриби класу Zygomycetes поширені повсюдно. Вони мешкають у ґрунті, часто зустрічаються в гниючих відходах і харчових продуктах, особливо – у хлібі і зерні. Дрібний розмір спор (в середньому

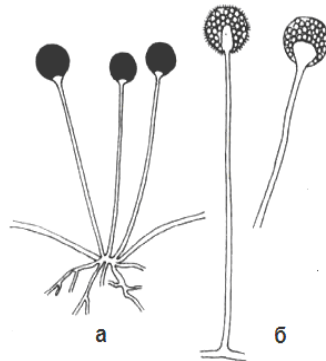


Рис. 27. Спорангіеносці зигоміцетів:
а – Rhizopus; б – Mucor

6,6 мкм) сприяє поширенню по повітрю, навіть за допомогою незначних коливань повітряних потоків, на великі відстані.

Представники сімейства Mucorales можуть бути виявлені в лабораторії як контаміанти або забруднювачі досліджуваного матеріалу або середовища.

Шляхи інфікування. Головний шлях проникнення зигоміцетів в організм хворого – інгаляційний. Наприклад, неодноразово відзначали спалах риноцеребральної або легеневої форм зигомікозу у робочих, які брали участь в розкопках, будівництві або контактували з забрудненими фільтрами кондиціонерів.

Другим за частотою є черезшкірний шлях проникнення зигоміцетів (місця ін'єкцій, особливо у наркоманів, при нанесенні татуювань, укусах комах, опіках, маceraції).

Можливо проникнення зигоміцетів у шлунково-кишковий тракт разом з продуктами харчування (з ферментованим молоком, з висушеними хлібними виробами, з алкогольними напоями, отриманими із зерна), а також при прийомі забруднених спорами фіто- або гомеопатичних засобів.

Відзначали також проникнення в організм спор через забруднений інструментарій, який використовується при різних маніпуляціях (ін'єкції, введення зондів, взяття зскрібів та ін.), що особливо актуально в онкологічних хворих.

Епідеміологія. Інвазивний зигомікоз розвивається рідше, ніж інвазивний кандидоз і аспергільоз. Однак у пацієнтів з більш високим ризиком розвитку опортуністичних інфекцій, наприклад, у реципієнтів трансплантатів стовбурових кровотворних клітин (ТСКК), поширеність зигомікозу висока – від 2 до 3 %.

Найчастіше зустрічаються наступні клінічні форми захворювання: синусит (39 %), ураження легенів (24 %), шкіри (19 %) і дисемінований процес (23%). Летальність залежить від клінічної форми і фонового захворювання і становить, за даними різних дослідників, від 36 % до 85 %.

Фактори ризику. Зигомікоз, як і багато інших інвазивних мікозів, розвивається переважно в імунокомпроментованих пацієнтів. Головними факторами ризику у даній категорії хворих є: декомпенсований цукровий діабет, онко- та гематологічна патологія, нейтропенія (абсолютне число нейтрофілів менше $0,5 \times 10^9/\text{л}$ протягом 1 тиж або більше), СНІД, стан після трансплантації органів і ТСКК. Велике значення має також тривала імуносупресивна і цитостатична терапія, тривале вживання глюкокортикоїдів і дефероксаміну.

Патогенез. Найчастіше збудник осідає в легенях або в носових раковинах. Для збудника характерний швидкий інвазивний ріст. Адгезія і пошкодження ендотеліальних клітин зигоміцетами призводить до ангіоінвазії гриба, судинного тромбозу, подальшого некрозу тканин і поширенню грибкової інфекції.

Пошкодження і проникнення мікроорганізму через ендотеліальні клітини, що вистилають стінки кровоносних судин, ймовірно, є одним з основних моментів у патогенезі захворювання. Конідії *R. oryzae*, що знаходяться у спокої, можуть проникати в субендотелій за допомогою матричних білків. Виявлено, що конідії прикріплюються до субендотеліальних матричних білків значно краще, ніж гіфи мікроміцетів.

На місці проникнення збудника в легеневу тканину формується муророма, розвивається запальна інфільтрація, некроз і абсцедування. Характерний тромбоз судин через проростання міцелію гриба через стінку судини з наступною ішемією й інфікуванням.

Механізми резистентності. Зигоміцети, потрапляючи в організм здорової людини, гинуть в результаті дії мононуклеарних і поліморфноядерних фагоцитів, а також завдяки впливу окислювально-відновних систем сироватки крові. При клінічних спостереженнях виявлено, що фагоцитам належить основна роль у запобіганні розвитку інфекції. Доведено, що пацієнти з нейтропенією знаходяться в групі підвищеного ризику виникнення зигомікозу. Крім того, порушення функціональної здатності фагоцитів також є фактором ризику розвитку зигомікозу. Відомо, що гіперглікемія й ацидоз викликають порушення кілерної активності фагоцитів, інших механізмів ушкодження. Тривала терапія кортикостероїдами також порушує функціональні можливості бронхоальвеолярних макрофагів, у результаті чого вони не можуть запобігти проростанню спор після інфікування.

Таким чином, основними механізмами захисту проти зигоміцетів є: фагоцитоз патогенів нейтрофілами, тканинними макрофагами і ендотеліальними клітинами, які регулюють також тонус і проникність судинної стінки, зв'язування вільного заліза сироватки крові спеціалізованими білками. Діючи узгоджено, ці механізми запобігають проникненню інфекції в тканини і подальшому ендovasкулярному пошкодженню.

У людей із факторами ризику виявляють порушення механізмів захисту. Наприклад, при діабетичному кетоацидозі низький рН сироватки крові є причиною вивільнення заліза транспортних білків, що створює сприятливі умови для зростання зигоміцетів. Дефекти в механізмах фагоцитарного захисту (дефіцит кількості нейтрофілів або порушення їх функції), викликані кортикостероїдами або гіперглікемією з ацидозом, діабетичним кетоацидозом, сприяють проліферації зигоміцетів.

Клінічна картина. Виділяють 5 основних клінічних варіантів захворювання. Як правило, вони пов'язані з локалізацією первинного вогнища і вхідними воротами інфекції. Розрізняють зигомікоз риноцеребральний ($\approx 50\%$ всіх випадків), легеневий (24%), шкірний (19%), гастроінтестинальний ($\approx 10\%$) і дисемінований, а також інші, більш рідкісні форми захворювання.

Як правило, різні варіанти розвиваються у пацієнтів у зв'язку з певними факторами ризику. Наприклад, у пацієнтів з діабетичним кетоацидозом типовий розвиток риноцеребрального варіанту захворювання і наба-

гато рідше легеневого або дисемінованого. Чому при кетоацидозі частіше розвивається саме риноцеребральна форма зигомікозу залишається неясним. Можливо, у пацієнтів з кетоацидозом або ацидозом іншого походження має значення збільшення кількості вільного заліза в сироватці крові в результаті порушення зв'язування його транспортними білками.

У пацієнтів з нейтропенією частіше розвивається легеневий, а не риноцеребральний варіант зигомікозу.

Набагато більш очевидний зв'язок чинників ризику для шкірно/підшкірного варіанту зигомікозу, тому що розвиток захворювання пов'язаний із пошкодженням шкірного бар'єра під впливом будь-якого фактора, що травмує, і подальшим потраплянням збудника з ґрунту, через мацерації, через безпосередній доступ (внутрішньовенний катетер) або місця ін'єкцій.

Риноцеребральний зигомікоз залишається найбільш частою формою хвороби, оскільки становить від 30 до 50 % усіх випадків цієї інфекції. Приблизно 70 % епізодів даного варіанту зигомікозу діагностують у хворих із діабетичним кетоацидозом, рідше – у пацієнтів, які перенесли трансплантацію кісткового мозку або з тривалою нейтропенією. Клініка неспецифічна і схожа на ранніх стадіях захворювання з симптоматикою бактеріального синуситу або запалення параорбітальної клітковини. Хворих турбують болі в очах або лицьової частини черепа, порушення чутливості шкіри, гіперемія кон'юнктиви, зниження гостроти зору і набряк м'яких тканин. Лихоманка відсутня у 50 % пацієнтів, лейкоцитоз відзначають у тих випадках, коли у хворих збережена функція кісткового мозку. Якщо інфекція не діагностується, процес зазвичай поширюється від гратчастого лабіринту до орбіти, що призводить до порушення функції параорбітальних м'язів і птозу.

При поширенні інфекції формується некроз твердого піднебіння, прогресують порушення зору, що врешті-решт завершуються сліпотою і/або інфарктом сітківки, тромбозом синуса в результаті залучення в процес п. oculus або ураження артеріол.

Залучення до процесу V і VII черепно-мозкових нервів може призводити до втрати сенсорної чутливості особи, птозу. Інфекція може також поширюватися через задню стінку орбіти або основної пазухи в ЦНС. Першою ознакою проникнення інфекції через тверду мозкову оболонку в головний мозок може бути носова кровотеча. При залученні до процесу ЦНС як результат ангіоінвазивного характеру інфекції виникає тромбоз кавернозного синуса, облітерація і тромбоз внутрішньої сонної артерії, що завершуються інфарктом головного мозку. Подібне ураження може призвести до гематогенного поширення інфекції з формуванням (або без) мікотичної аневризми.

Ураження легень найчастіше виявляють у пацієнтів з лейкозом, що одержують хіміотерапію, або у реципієнтів ТСКК. У пацієнтів з діабетичним кетоацидозом також може розвиватися легеневий зигомікоз, хоча ця форма інфекції у них зустрічається рідше і протікає часто підгостро.

Легеневий варіант розвивається в результаті інгаляції спор зигоміцетів або поширення інфекції гематогенним і/або лімфогенним шляхом. Клінічна картина також неспецифічна. Хворі скаржаться на задишку, кашель, болі в грудній клітці, лихоманку. Ангіоінвазивний процес, як правило, завершується некрозом паренхіми легенів, який, у свою чергу, може призвести до масивної кровотечі і летального результату, при залученні в процес великої кровоносної судини.

Якщо легеневий зигомікоз не діагностується вчасно, процес гематогенно поширюється до інших органів. Летальність при даному варіанті зигомікозу від 50–70 % до 95 %, якщо легеневий зигомікоз виявляється частиною дисемінованого процесу.

Як уже було згадано, ризик розвитку шкірного зигомікозу підвищений у пацієнтів з пошкодженням шкірних покривів. Зазвичай збудник проникає в організм під час травми, коли відбувається потрапляння в рану ґрунту, фрагментів рослин (шипи) та ін. У хворих, які страждають на діабет, й інших імунокомпроментованих пацієнтів ураження шкіри може розвиватися в місцях ін'єкцій або фіксування катетерів. Можливо проникнення мікроміцетів через дренажі, забруднений хірургічний інструментарій або через ділянки фіксування ендотрахеальної трубки у пацієнтів, які перебувають на штучній вентиляції легень (ШВЛ).

Шкірний зигомікоз протікає локально, але дуже агресивно. Процес може поширюватися в підшкірну клітковину, жирову тканину, м'язи, фасції і навіть кістки. Вторинна судинна інвазія може призводити до гематогенного поширення процесу й ураження внутрішніх органів. Шкірний і підшкірний зигомікоз призводять до швидкої некротизації тканин і смерті пацієнтів приблизно в 50 % випадків. У разі своєчасно виконаного хірургічного втручання (видалення уражених ділянок) і адекватної антифунгальної терапії локалізований шкірний зигомікоз може протікати сприятливо.

Зигомікоз органів шлунково-кишкового тракту – порівняно рідкісне захворювання. Воно розвивається, головним чином, у новонароджених і дітей 1-го року життя при потрапленні зигоміцетів в організм з їжею. Найчастіше гастроінтестинальний зигомікоз розвивається в ранньому неонатальному періоді як прояв дисемінованого процесу.

Некротичний ентероколіт, викликаний зигоміцетами, був уперше описаний у новонароджених у ранньому неонатальному періоді. Випадки захворювання дорослих пацієнтів із нейтропенією поодинокі. Гастроінтестинальний варіант зигомікозу був описаний також у пацієнтів з іншими імунодефіцитами, такими як СНІД і системний червоний вовчак, а також у реципієнтів ТСКК. Найчастіше уражаються шлунок, товста і тонка кишки. Випадки ураження печінки були пов'язані з прийомом забруднених спорами лікарських трав. Оскільки процес виникає гостро і розвивається стрімко, діагноз встановлюють, як правило, посмертно. Симптоматика

в даному випадку різноманітна і неспецифічна. Найчастіше хворих турбують болі в черевній порожнині, здуття живота, нудота, блювання, лихоманка і наявність незміненої крові в калі. Можливий розвиток внутрішньочеревного абсцесу. Діагноз може бути встановлений за допомогою біопсії під час оперативного втручання або ендоскопії.

Були описані випадки ятрогенного гастроінтестинального зигомікозу, що виникли в результаті введення пацієнтам через назогастральний зонд поживних сумішей, у процесі приготування яких використовували забруднені зигоміцетами дерев'яні аплікатори. У цих пацієнтів захворювання супроводжувалося шлунково-кишковою кровотечею. Діагноз був встановлений на підставі отримання культури з аспіратів шлункового вмісту.

Дисемінований процес виникає в результаті гематогенного поширення збудника, яке можливо з будь-якого вогнища первинного інфікування. Легеневий варіант зигомікозу у пацієнтів з нейтропенією протікає з високою частотою дисемінації. Рідше процес може поширюватися гематогенним і/або лімфогенним шляхом у пацієнтів з первинним ураженням додаткових пазух носа, шлунково-кишкового тракту або шкіри (частіше – в опікових хворих).

Вогнища при дисемінованому зигомікозі частіше локалізуються в головному мозку і легеневій тканині, значно рідше – в селезінці, серці, шкірі та інших органах. Ураження головного мозку в результаті гематогенного і/або лімфогенного поширення інфекції відрізняється від церебрального зигомікозу, що виникає в результаті риноцеребрального процесу. У пацієнтів із дисемінованою формою при проникненні зигоміцетів у ЦНС починає наростати центральна неврологічна симптоматика і/або розвивається кома центрального генезу. Летальність у таких випадках досягає 100 %. Навіть без ураження ЦНС при дисемінованому зигомікозі летальність становить 90 %. При зигомікозі у реципієнтів ТКСК загальна летальність протягом 1-го року становить 95 %.

Мають місце й інші, більш рідкісні клінічні форми зигомікозу. Збудники зигомікозу можуть викликати інфекційний процес фактично в будь-якому органі. Наприклад, можливо ізольоване ураження головного мозку, ендокорду, нирок; ці варіанти зигомікозу зустрічаються, головним чином, у наркоманів. Деякі автори описували випадки ураження зигоміцетами кісток, органів середостіння, трахеї, нирок, очеревини (при діалізі). У цей же розділ включають обумовлені зигоміцетами синдром верхньої порожнистої вени і отит зовнішнього вуха. Зигомікоз зазвичай не характерний для хворих на СНІД, але періодично повідомляють про виникнення цієї інфекції у даної групи пацієнтів.

Діагностика. Зигомікоз характеризується дуже високою летальністю, тому діагностика повинна бути негайною, однак цьому перешкоджає неспецифічність клінічних і рентгенографічних ознак і дуже швидкий розвиток захворювання.

Методи діагностики:

- КТ або рентгенографія легенів;
- МРТ або КТ, рентгенографія придаткових пазух носа, при неврологічній симптоматиці – МРТ або КТ головного мозку;
- отримання матеріалу з осередків ураження;
- мікроскопія і посів матеріалу з осередків ураження, виділень з придаткових пазух, мокротиння, БАЛ, біопсійного матеріалу;
- гістологічне дослідження біопсійного матеріалу.

Діагностика заснована на виявленні збудника в матеріалі з осередків ураження. На даний момент розробляються методики ПЛР діагностики зигомікозу.

Найчастіше зигоміцети визначають при мікроскопії досліджуваних субстратів, рідше – при посіві. Збудник дуже рідко виділяють у посівах крові навіть при дисемінованому зигомікозі. Тому саме мікроскопія матеріалу з осередків ураження з забарвленням калькофлуором білим або специфічними методами є основним методом ранньої діагностики зигомікозу. При цьому виявляють характерний широкий (10–50 мкм) несептований або рідкосептований міцелій, розгалужений під прямим кутом (рис. 27). Однак у зв'язку з низькою діагностичною значимістю мікроскопії та посіву аспірату з носа, мокротиння і БАЛ, нерідко необхідно повторне дослідження. Слід зазначити, що зберігання матеріалу в холодильнику, гомогенізація його перед посівом та ін. також можуть зменшувати ймовірність виділення зигоміцетів у культурі.

Крім мікологічних методів, важливими компонентами успішної діагностики є комп'ютерна томографія (КТ) та магнітно-резонансна томографія (МРТ), які допомагають не тільки виявити вогнища ураження, а й визначити обсяг хірургічного втручання – основного лікування інвазивного зигомікозу.

Критерії діагностики: клінічні або рентгенологічні (КТ, МРТ та ін.). Ознаки локальної інфекції в поєднанні з виявленням зигоміцетів при мікроскопії, гістологічному дослідженні і/або посіві матеріалу з вогнища ураження.

Лікування. У тактиці лікування зигомікозу необхідно враховувати чотири фактори: швидкість постановки діагнозу, лікування основного захворювання (якщо можливо – повне виключення факторів ризику), хірургічне видалення уражених тканин і відповідну протигрибкову терапію.

Результати терапії істотно залежать від успішного лікування основного захворювання. Так, у пацієнтів із цукровим діабетом повинен бути нормалізований рівень цукру і рН сироватки крові. По можливості після постановки діагнозу «зигомікоз» необхідно припинити терапію або зменшити дози дефероксаміну, імуносупресорів, кортикостероїдів.

Крім того, необхідно пам'ятати, що дані обстеження на початкових етапах розвитку захворювання найчастіше негативні або мають незначні зміни.

Рентгенологічна картина відстає від клінічних проявів у даній категорії хворих, але негативні результати не націлюють на припинення діагностичного пошуку, особливо, якщо є характерна симптоматика. Поява характерних змін у тканинах також може запізнюватися. Слизова оболонка в початковій стадії грибкового ураження може виглядати здоровою і життєздатною при ендоскопічному обстеженні. Тому, якщо підозра щодо зигомікозу досить серйозна, то для уточнення діагнозу необхідно робити сліпі біопсії слизової оболонки пазух і/або потовщених параорбітальних м'язів.

Зигомікоз – швидко прогресуюча інфекція, і однієї протигрибкової терапії часто недостатньо, щоб її контролювати.

Збудники зигомікозу можуть бути стійкими до амфотерицину В, і, навіть якщо збудник чутливий до протигрибкового препарату *in vitro*, він може бути неефективний *in vivo*.

Крім того, ангіоінвазія, тромбоз, некроз тканин можуть бути як на місцях проникнення зигоміцетів у макроорганізм, так і на ділянках, віддалених від вхідних воріт інфекції. У даних випадках необхідно якомога раніше взяти біоптати з усіх підозрілих місць із подальшою мікроскопією і культуральним дослідженням.

Хірургічне втручання необхідне при наявності масивного некрозу тканини, що зустрічається при зигомікозі, який не може бути попереджений тільки антимікотиками. При риноцеребральному зигомікозі рання хірургічна обробка інфікованої пазухи і відповідних параорбітальних ділянок, можливо, дозволить запобігти поширенню інфекції. Для підтвердження ефективності проведеної раніше маніпуляції може бути необхідне повторне дослідження пазух і орбіти.

У пацієнтів із легеневим зигомікозом поєднання хірургічного лікування з антимікотичними препаратами також покращує показники виживання порівняно з використанням тільки протигрибкового лікування.

До недавнього часу в схеми протигрибкової терапії зигомікозу включали тільки полієни, які, на жаль, високотоксичні: амфотерицин В (АМВ) і його ліпідний комплекс, які досить ефективні в рекомендованих дозах від 1 до 1,5 мг/кг/доб.

Існують неоднозначні спостереження щодо ефективності інших антимікотиків при зигомікозі. Наприклад, ітраконазол – препарат, який *in vitro* ефективний проти грибів з порядку *Mucorales*. Опубліковано повідомлення про успішну монотерапію зигомікозу ітраконазолом. Є також дані, що профілактичне лікування цим препаратом може бути фактором ризику виникнення даного захворювання. Використання ітраконазолу можна розглядати як альтернативну терапію в ситуаціях, коли збудники чутливі до цього препарату.

Відносно недавно запропонований вориконазол, що володіє широким спектром дії, але неефективний *in vitro* проти мікроміцетів із порядку *Mucorales*.

Позаконазол і равуконазол проявляють ефективність щодо збудників зигомікозу. В експериментах на тваринах з дисемінованим зигомікозом позаконазол був більш ефективним, ніж ітраконазол, але менше, ніж АМВ. Зростає кількість повідомлень про вдале лікування позаконазолом у комбінації з АМВ у пацієнтів із риноцеребральним зигомікозом, збудники якого раніше були резистентні до терапії.

Поява іншого препарату з групи ехінокандинів – мікафунгіну обнадіює фахівців у перспективах лікування. Мікафунгін проходить клінічні випробування в багатьох країнах, і є повідомлення про позитивний досвід його застосування. Ехінокандини можуть відігравати роль препаратів резерву для лікування зигомікозу, особливо в комбінації з полієнами.

Важлива роль метаболізму заліза в патогенезі зигомікозу служить передумовою до можливості використання залізо зв'язуючих препаратів в унісон з протигрибковою терапією. Описані експериментальні дані впливу подібних лікарських засобів *in vitro* на *R. oryzae*. На відміну від дефероксаміну, вони запобігають використанню заліза мікроорганізмом для свого зростання. Більше того, у той час як дефероксамін значно погіршував перебіг дисемінованого зигомікозу, викликаного *R. oryzae*, один із згаданих препаратів, більш ніж у два рази збільшував показник виживання.

Деякі автори вважають за необхідне включити в стандарт терапії зигомікозу цитокини, обґрунтовуючи це тим, що вони збільшують кілерну здатність фагоцитів щодо зигоміцетів *in vitro*. У недавній публікації описаний ефект лікування риноцеребральної форми зигомікозу у дитини з лейкемією після приєднання до стандартної терапії γ -інтерферону і колонієстимулюючого фактора.

Прогноз. Раніше діагноз «зигомікоз» завжди означав летальний результат для пацієнта. Хоча летальність при даній патології залишається високою, на даному етапі можливе повне одужання при ранній діагностиці захворювання і призначення відповідної антимікотичної терапії в сукупності з хірургічним втручанням. Загальне виживання при різних формах зигомікозу становить приблизно 50 %, хоча ця цифра може зростати до 85 % залежно від клінічного варіанту, швидкості діагностики і адекватності терапії. Відомо, що риноцеребральний зигомікоз має більш високі показники виживання, ніж легеневий і дисемінований, тому що його, як правило, діагностують раніше. При легеновому зигомікозі летальність становить 65 %, оскільки даний варіант важче діагностувати, і розвивається він частіше у пацієнтів з серйозною нейтропенією. Летальність серед пацієнтів з дисемінованим зигомікозом наближається до 100 %.

ФУЗАРІОЗ

Фузаріоз викликається септованими пліснявими грибами роду *Fusarium*.

Морфологія і фізіологія фузарій. Гриби роду *Fusarium* утворюють добре розвинений міцелій білого, рожевого або червоного кольору. Є мікроконідії, макроконідії, рідко хламідоспори. Макроконідії багатоклітинні, веретеноподібно-серповидні (рис. 28). Мікроконідії овальні грушоподібні. На поживних середовищах ростуть пухнасті або ватоподібні колонії білого кольору, які в міру старіння набувають бузково-синього, рожево-червоного, жовтого або зеленого кольору (рис. 29). Для культивування використовується середовище Чапека.

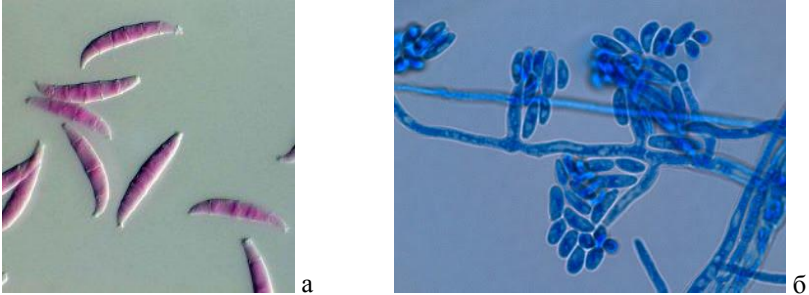


Рис. 28. Макроконідії (а) і мікроконідії (б) фузарій

Патогенез і симптоми. Гриби широко розповсюджені, особливо на рослинах. В осіб з імунodefіцитом гриби можуть уражати шкіру, нігті, рогівку та інші тканини (*F. moniliforme*, *F. sporotrichiella*, *F. anthracinum*, *F. chlamydosporum*). Розвивається лихоманка, з'являються висипання. Вогнища ураження локалізуються в основному на кінцівках.

При знижених температурах на злаках розвивається гриб *F. sporotrichiella*, який продукує мікотоксин. Викликає мікотоксикози вживання в їжу таких злаків, що перезимували під снігом. Мікотоксикози викликаються також при вживанні виробів із зерна. Відбувається ураження ЦНС із порушенням координації рухів.

Мікробіологічна діагностика. Досліджують нігті, шкіру, підшкірну клітковину, рогівку, кров, кінчик постійного катетера, блювотні маси, кал, біоптати тканин. Виділяють гриби і визначають їх токсини. Застосовують РІФ і ПЛР.

Лікування. Амфотерицин В, нові тріазоли (вориконазол або позаконазол).



Рис. 12. Колонії фузарій

ПЕНІЦИЛІОЗ

Пеніциліоз (пеніциліоз *Marneffeii*) обумовлений диморфними мікроміцетами *Penicillium marneffeii*. Це ендемічне захворювання, поширене в Південно-Східній Азії і на Далекому Сході, викликає шкірні та підшкірні ураження у людей, особливо на пізніх стадіях ВІЛ-інфекції, а також у домашніх тварин, бамбукових щурів, мишей. Інші види *Penicillium*, які відносяться до цвілевих мікроміцетів, можуть бути причиною опортуністичної інфекції в осіб з порушеннями імунітету.

Гриби роду *Penicillium* рясно присутні в зовнішньому середовищі, внутрішніх приміщеннях і є одним з найбільш частих лабораторних контамінантів, тому діагноз пеніциліозу у хворих може бути підтверджений тільки шляхом дослідження тканини на наявність грибів.

Гриби цього роду часто асоціюються з алергічними захворюваннями і можуть викликати клінічну симптоматику в сенсibiliзованих осіб. Відомі гіперсенситивні пневмоніти, викликані вдиханням органічного пилу і, зокрема, часток грибів, хвороба легенів при використанні зволожувачів і кондиціонерів, хвороба сироварів, сабероз, пов'язаний зі вдиханням кіркового пилу, частинок цвілого дуба, що містять пеніцили тощо. Споживання сирів «Камамбер», «Рокфор» та інших, що містять синьо-зелені включення з різновидами *Penicillium*, також іноді може викликати певну клінічну симптоматику.

Морфологія. *Penicillium marneffeii* – диморфний гриб, що дає міцеліальні і дріжджові колонії при різних умовах розвитку. При мікроскопії виявляються округлі й овальні (еліптичні) дріжджові клітини близько 3 мкм у діаметрі, приєднані всередині геліоцитів або розкидані навколо тканини; витягнуті клітини – до 8 мкм завдовжки, з перегородкою, часто вигнуті, як сосиска (*рис. 30*). Конідіальні спороніси організовані у вигляді «пензликів», що складаються з групи субтермінальних відгалужень конідієносія – метул. Метули, що сильно розходяться, короткі (рівної довжини з фіалідами), розміщені по 4–6. На метулах розташовуються пляшкоподібні фіаліди з ланцюжками округлих гладкостінних конідій (*рис. 31*).

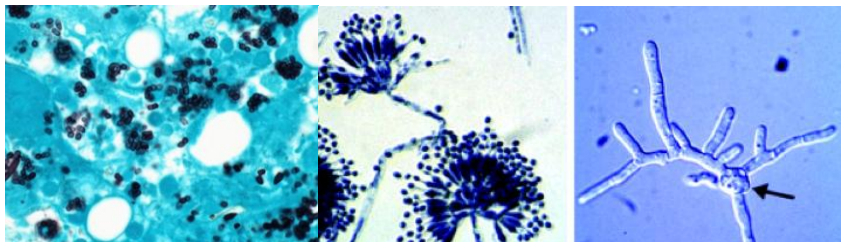


Рис. 30. Клітини *Penicillium marneffeii*

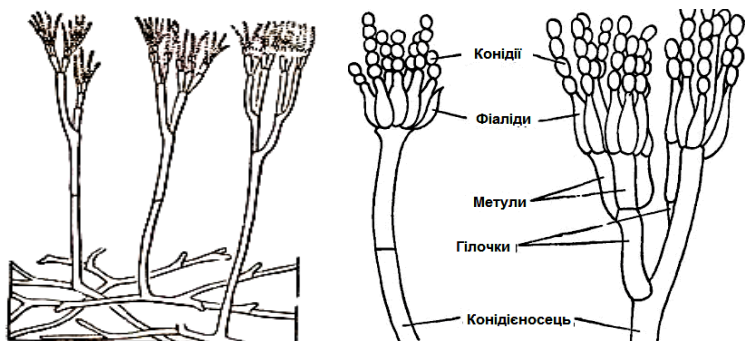


Рис. 31. Будова конідіеносців *Penicillium marneffeii*

Культуральні властивості. Колонії пухнасті, рожеві, в центрі світло-коричневі, на периферії димчасто-зеленуваті, радіально складчасті (рис. 32).

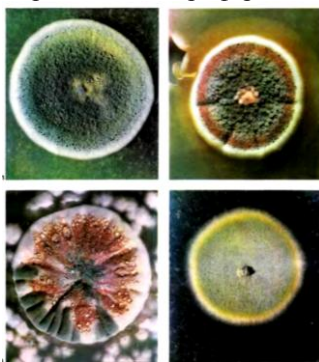


Рис. 32. Колонії пеніцилів

Етіологія. Крім *P. marneffeii*, патологія людини може бути обумовлена *P. crustareum*, *P. glaucum*, *P. bertai*, *P. bicolor*, *P. spinulosum*, *P. citrinum*, *P. notatum*, *P. citrinum* та іншими видами. Ідентифікація окремих видів пеніцилів досить трудомістка, домінування різновидів пеніцилів може залежати від конкретного місця і обстановки.

Патогенез. Зараження відбувається при вдиханні спор. Ураження тканини характеризується профузним зростанням, судинною інвазією, тромбозом та інфарктами.

Фактори ризику: ВІЛ-інфікованість, імуносупресія у зв'язку з цитостатичною і кортикостероїдною терапією з приводу колагенозів, гематологічних порушень, при трансплантації нирок, при мієлогранулематозі, гострому лейкозі, ендокардиті на клапані, що був протезований, посттравматичному ендoftальміті та ін.

Сенсибілізація до *Penicillium* у хворих на бронхіальну астму наближається до 25 %.

Клінічна картина. В імунокомпетентних осіб (частіше фермерів) ендемічних районів можливі випадки шкірних і підшкірних уражень з залученням регіонарних лімфатичних вузлів, аж до розвитку дисемінованого пеніциліозу. Для лімфаденіту характерні множинність ураження з виразкою, нагноєнням і формуванням свищів; для шкірних уражень також характерні множинність, еритематозні, іноді глибокі підшкірні абсцеси.

Важкі опортуністичні мікози з розвитком генералізованих форм більш характерні для імунокомпроментованих хворих. Клінічними проявами пеніциліозу є лихоманка, втрата маси тіла, анемія, фунгемія, що за відсут-

ності терапії може призводити до смерті. У процес найчастіше залучаються шкіра (у 80 % ураження шкіри нагадують контагіозний моллюск), лімфатичні вузли, легені, печінка, селезінка. При гепатоспленомегалії жовтяниця не характерна. Можливо також ураження кісток і кісткового мозку, кишечника, перикарда, нирок, мозку, мікотичний кератит. Osteomielіtичні ураження (поодинокі, множинні, що включають різні кістки) визначаються у вигляді холодних абсцесів. При залученні кишечника в процес можливий перфоративний перитоніт.

При ураженні легенів може виникати одинична або множинна інфільтрація. На рентгенограмах легенів вони мають вигляд неоднорідних інфільтратів різних розмірів, іноді з ателектазами, інфарктами, абсцедуванням і ураженням плеври.

Діагностика. Для постановки достовірного діагнозу мікотичної пневмонії необхідно мікроскопічне дослідження гістопатологічного матеріалу з виявленням дріжджоподібних клітин із поздовжньою перегородкою (*Penicillium marneffeі*) в тканинах і цвілевих форм у культурі. Культура схожа на *Histoplasma*, проте, на відміну від останньої, при зростанні на агарі під колоніями визначається червоний пігмент. Однак навіть при повторному отриманні *Penicillium* з мокротиння хворих із легеневою патологією діагноз викликає сумнів.

Лабораторні дослідження:

- Мікроскопія забарвлених за Райтом, GSM або PAS-методом мазків гною, мокротиння, бронхоальвеолярного змиву, сечі, кісткового мозку, матеріалу з осередків ураження шкіри, біоптатів лімфатичних вузлів (клітини *Penicillium marneffeі* не забарвлюють гематоксилін-еозином).

- Посів гною, вмісту легеневих абсцесів, мокротиння, бронхоальвеолярного змиву, крові, кісткового мозку, біопсії шкіри, кісток або печінки на середовище Сабуро з антибактеріальними антибіотиками при 25 і 37°C з демонстрацією теплового диморфізму для виявлення *Penicillium marneffeі*.

- Визначення антитіл до *Penicillium marneffeі* у сироватці крові методом ІФА.

- Гістологічне дослідження біопсійного матеріалу з осередків ураження.

Інструментальні та інші методи діагностики:

- Рентгенографічне дослідження і комп'ютерна рентгенографія органів грудної клітки з метою встановлення наявності ураження легенів.

- Із метою отримання матеріалу для мікроскопії та посіву – бронхоскопія з отриманням бронхоальвеолярного змиву.

Лікування важких форм починається з амфотерицину В протягом 2 тиж до поліпшення стану, з подальшим призначенням ітраконазолу, потім – з переходом на підтримуючу терапію ітраконазолом. При ВІЛ-інфікуванні на тлі активної антиретровірусної терапії можливе припинення

підтримуючої терапії. При резистентності до описаної терапії можливе застосування вориконазолу.

Практичні навички з теми.

1. Проведення мікроскопії мазків-препаратів з грибами.
2. Визначення морфотинкторіальних властивостей умовно-патогенних грибів.
3. Визначення культуральних властивостей умовно-патогенних грибів за допомогою атласу.
4. Проведення обліку результатів серологічного дослідження.

Алгоритми лабораторної роботи

Алгоритм: «Хід мікробіологічного дослідження при кандидозі».

Поліморфізм клінічних проявів захворювання на кандидоз обумовлює різноманітність патологічного матеріалу, що підлягає лабораторному дослідженню. Залежно від характеру і локалізації ураження для лабораторного аналізу беруть мокротиння, зскрібки зі шкіри або слизових оболонок, нігтьові лусочки, кров, ліквор, сечу, жовч, фекалії, пунктати з закритих порожнин, виділення свищів, біопсійний і секційний матеріал.

Спочатку проводять дослідження нативного матеріалу (за винятком крові); при цьому ліквор, сечу і жовч попередньо центрифугують (1500–2000 об/хв, 10–15 хв). Препарати готують у 10–20 % розчині луґу при слабкому нагріванні.

Виявлення нитчастої фази збудника (міцелія або псевдоміцелія) є важливим свідченням наявності кандидозу. Кількість дріжджових клітин у кожному полі зору служить орієнтиром при підготовці серійних розведень для кількісного посіву на щільні поживні середовища: поодинокі клітини в полі зору при великому збільшенні мікроскопа ($\times 400$) свідчать про їх вміст в кількості десятків тисяч в 1 мл досліджуваного матеріалу.

Розведення патологічного матеріалу, що містить нормальну мікрофлору (мокротиння, фекалії, сеча, жовч та ін.), готують у рідкому поживному середовищі (зазвичай рідке сусло або рідке середовище Сабуро) і висівають певну кількість (0,1–0,2 мл) на аналогічні щільні середовища. Для пригнічення росту контамінуючих бактерій у середовище додають антибактеріальні антибіотики (найчастіше пеніцилін і стрептоміцин по 50–100 од/мл середовища або 0,05 % хлорамфеніколу).

Якщо замість зскрібків використані змиви, то тампони попередньо струшують протягом кількох хвилин у 5–7 мл рідкого живильного середовища, а потім проводять посів на щільні середовища певного обсягу відповідного розведення вихідної суспензії.

Зскрібки зі шкіри і нігтьових пластинок поміщають на скошені поживні середовища. Посів крові й ліквора проводять у 10-кратному розведенні рідкого середовища Сабуро або МПБ з 2 % глюкози без додавання антибіотиків, тому що кандидозна фунгеція іноді поєднується з бактери-

альним сепсисом. Більш високу ефективність виділення грибів із крові вдалося забезпечити при використанні комбінованого серцево-мозкового середовища. Посів крові проводять 3–4-кратно з різних вен з інтервалом у декілька днів при відсутності парентерального харчування або краплинного введення лікарських речовин. При наявності у хворого фунгемії зростання грибів з'являється через 24–48 год, максимальна інкубація – до 30 діб при періодичних пересівах на щільне живильне середовище.

Біопсійний і секційний матеріал використовують для приготування гістологічних препаратів (забарвлення PAS-методом), а залишки матеріалу висівають методом відбитків або після попереднього подрібнення на щільні й в рідкі середовища. Інкубацію краще проводити при 25–30 °С, хоча патогенні для людини види грибів добре ростуть і при 37°С. Через 48 год культивування формуються колонії достатніх розмірів, хоча точкові зростання можна виявити вже на наступний день після первинного посіву. При відсутності росту на агарових середовищах роблять висів з рідких поживних середовищ на сектори для отримання ізольованих колоній.

При дослідженні сечі поряд із культуральним методом рекомендується додаткове дослідження з метою виявлення імуноглобулінів людини на поверхні бластоспор. Для цього близько 5 мл другої порції сечі центрифугують протягом 5–10 хв при 1 500 об/хв і з осаду готують нативні препарати і мазки, пофарбовані за Грамом, а також препарати для імунолюмінесцентного дослідження (рис. 33). В останньому випадку фіксацію здійснюють метанолом, а після висушування мазка наносять антисироватку проти глобулінів людини, мічену ізотіоціанатом флюоресцеїну.

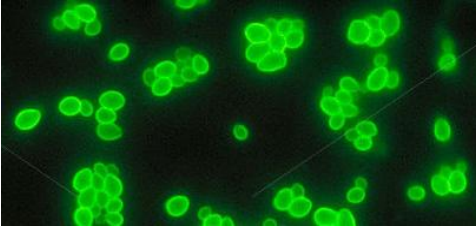


Рис. 33. Імунолюмінесцентне дослідження грибів роду *Candida*

Виявлення дріжджових клітин, що світяться при паралельному виявленні дріжджів у нативному і пофарбованому за Грамом препаратах, свідчить про те, що вони несуть на своїй поверхні специфічні глобуліни, тобто про наявність у хворих тканинних уражень. Позитивний антиглобуліновий тест свідчить про кандидозне ураження сечовивідних шляхів. Контролем для виключення аутофлюоресценції дріжджових клітин є дослідження незабарвленого препарату.

Видове визначення виділених культур є важливим критерієм діагностики і має комплексний характер, включає вивчення зовнішнього вигляду колоній, ферментативної активності та асиміляційну здатність штаму,

типу філаментатії, а також характеру росту в рідкому поживному середовищі (наявність поверхневої плівки, кільця, яке піднімається по стінці пробірки над поверхнею середовища та ін.).

Більшість патогенних для людини видів грибів роду *Candida* може бути ідентифікована без постановки асиміляційного тесту.

Через різке переважання *C. albicans* у хворих і міконосіїв у культури перш за все виявляють наявність характерної морфологічної ознаки цього виду – хламідоспори. З цією метою проводять переривчастий штриховий посів на рисовий агар і частину посіву покривають фламбірованим покривним склом. Посіви інкубують при 37 або 22°C. Переважна більшість штамів *C. albicans* утворюють хламідоспори через 12–24 год, рідше – через 48 год. Виявлення хламідоспор дозволяє ідентифікувати культуру як *C. albicans* і не проводити подальших досліджень. Культури, у яких хламідоспори виявити не вдалося, досліджують за комплексом ознак. Ферментативну активність визначають на звичайних середовищах «строкатого ряду» або в дріжджовому автолізаті, у яких концентрація вуглеводів повинна складати 2 %. Інкубацію проводять при 25–28°C. Деякі штами можуть викликати ферментацію в пізні терміни (10–20 днів), тому для прискорення процесу рекомендують використовувати щільні середовища (0,1–0,15 % агар-агар); при цьому термін спостереження скорочується до 2 днів.

Серологічна діагностика

Високу діагностичну значимість має реакція непрямой імунолюмінесценції. У більшості здорових осіб її інтенсивність складає 1 : 10–1 : 20, діагностичним вважається титр 1:80 і більше.

Для реакції аглютинації частинок латексу, сенсibilізованих соматичними антигенами, діагностичним вважають титр 1 : 8; у хворих з вираженою імуносупресією діагностичне значення має 4-кратне збільшення титру в процесі захворювання. Для пошуку антигенів гриба використовують частки латексу, сенсibilізовані антитілами, але щоб уникнути хибнопозитивних результатів у сироватці повинен бути відсутнім ревматоїдний фактор.

При використанні зустрічного імуноелектрофорезу виявлення двох і більше дуг преципітації має діагностичну цінність. У здорових осіб, а також у хворих на поверхневий кандидоз дуги преципітації, як правило, відсутні. При перехресному імуноелектрофорезі у хворих на вісцеральний кандидоз виявляється в середньому 10 дуг преципітації (межі коливань – 5–20), при кандидозному ендокардиті – близько 8 (1–11), а в контрольній групі – 2 (0–5). Специфічність методу збільшується при використанні проміжного гелю з конкаваліном А, який пов'язує манан, що міститься у вигляді домішки в препаратах соматичних антигенів.

Більшу цінність, ніж титрування антитіл, має визначення в сироватці циркулюючих антигенів гриба, особливо цитоплазматичних. Визначення антигенів ускладнюється формуванням у сироватці імунних комплексів.

Полісахаридні антигени вивільняються з цих комплексів шляхом кип'ятіння, для білкових антигенів методи виділення не розроблені.

При дисемінованому кандидозі манан виявляють у 50–70 % хворих при його відсутності у здорових осіб, що має діагностичну значимість.

Методом газорідинної хроматографії в сироватці визначають метаболіти гриба – манозу і арабінітол. Визначення сироваткового вмісту арабінітолу ґрунтується на здатності деяких видів (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*) синтезувати цю речовину.

Алгоритм: «Асиміляційний тест».

Для визначення асиміляційної здатності використовують відмитий агар, позбавлений поживних компонентів. Автоклавуванням розчиняють 20 г агару в 500 мл демінералізованої води. Після застигання агар розрізають на дрібні блоки і заливають 1 л демінералізованої води, відмивання агару проводять у холодильнику, змінюючи воду щодня протягом 7 днів, після чого блоки висушують. Основу середовища готують за прописом: однозаміщений фосфат натрію – 0,1 %, сірчанокисла магnezія (гептагідрат) – 0,05 %, сульфат амонію – 0,5 %. При визначенні асиміляції азотистих речовин замість сульфату амонію вносять 2 % глюкози. Середовище стерилізують при 110 °С протягом 15 хв. Як джерело вітамінів для росту грибів використовують дріжджовий автолізат, 1 краплю якого додають до 20 мл середовища. Для приготування дріжджового автолізату змішують рівні вагові кількості комерційних дріжджів і води, інкубують при 50–55 °С протягом 3 днів при періодичному струшуванні, кип'ятять кілька хвилин, охолоджують, доводять рН до 6,0. Автолізат стерилізують ультрафільтрацією з використанням фільтра (№ 6–7).

При постановці асиміляційного тесту в стерильну чашку Петрі вносять 1–2 мл суспензії культури, яку заливають 18–20 мл базового середовища з додаванням дріжджового автолізату, охолодженого до 43–45 °С. Після застигання агару його підсушують і на поверхню наносять стерильні диски фільтрувального паперу, просоченого 20 % або насиченим розчином джерела живлення. Можна також на поверхню агару наносити невеликі кількості нерозчиненого джерела живлення. Чашки інкубують у перевернутому вигляді при 25–28 °С; у позитивних випадках протягом 2–4 днів навколо джерела живлення виявляється зростання культури гриба. Для виявлення типів росту посів здійснюється на картопляний агар з 1 % глюкози методом "врізання": мікологічну лопатку з біомасою культури занурюють на 1/3 товщини агару, причому посів роблять у вигляді двох променів, що сходяться, але не перетинаються. Чашки інкубують протягом доби при 37 °С, а потім при 25 °С. Нитчаста форма утворюється в товщі агару по периферії посіву протягом 3–7 днів.

При затримці філаментації культуру засівають на середовище Гордкова, посіви інкубують при 22 °С протягом 10–15 днів, періодично

досліджуючи для виявлення аскоспор. Поряд із мікроскопічним дослідженням нативних препаратів, мазки фарбують за Цілем–Нільсеном; при цьому кислотостійкі спори набувають рубіново-червоного забарвлення. Ефективне фарбування спор справжніх дріжджів досягається при використанні 2 % водного розчину фуксину.

В останнє десятиліття розроблений ряд автоматизованих систем для видової ідентифікації грибів роду *Candida*, в основу яких покладено визначення асиміляційної здатності досліджуваних культур. Кожна лунка містить певне джерело живлення, посіви інкубують при 30 °С протягом 24 год. Помутніння середовища свідчить про асиміляцію даного джерела живлення, реєстрація результатів проводиться фотометрично. За допомогою комп'ютера за нумераційно-кодовим принципом здійснюють видове визначення штаму.

Термінологія. *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Geotrichum candidum*, *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Pneumocystis carinii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Bistoplasma capsulatum*, *ParaCoccidioides brasiliensis*, *Penicillium marneffeii*, *Sporothrix schenckii*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Exophiala werneckii*, *Pedraria hortae*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton Omentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton violaceum*, *Absidia corymbifera*, *Basidiobolus ranarum*, *Conidiobolus coronatus*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Mucor* spp., *Rhizomucor* spp., *Rhizopus* spp., *Saksenaea vasiformis*, *Acremonium* spp., *Curvularia* spp., *Madurella grisea*, *Pseudallescheria boydii*, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Scopulariopsis* spp., *Alternaria* spp., *Vipolaris* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fonsecaea* spp., *Phialophora* spp., *Phoma* spp., *Exophiala dermatitidis*.

Питання для контролю знань.

1. Загальна характеристика умовно-патогенних грибів. Класифікація умовно-патогенних грибів, їх значення в патології людини.
2. Гриби роду *Candida*. Біологічні властивості. Патогенність для людини. Фактори, що сприяють виникненню кандидозу. Лабораторна діагностика. Антифунгальні препарати.
3. Збудники аспергільозу і пеніциліозу. Біологічні властивості. Патогенність для людини.
4. Пневмоцисти (*Pneumocystis jiroveci*). Біологічні властивості. Пневмоцистна пневмонія у хворих на СНІД.

Тестові завдання:

1. Після тривалого вживання антибіотиків у хворого на слизовій ротовій порожнині з'явилися округлі білі плями, на язика білий наліт. Який мікроорганізм ймовірно спричинив дані симптоми?

A. *Ентерокок.*

D. *Лактобацили.*

B. *Стрептокок.*

E. *Кишкова паличка.*

C. *Гриби роду Candida.*

2. При мікроскопії мікропрепарату з виділень хворої на хронічний кольповагініт лікар виявив клітини округлої форми та еліпсоподібні, які брунькуються, розміром 3–6 мкм. Про збудника якої грибкової хвороби може йти мова в даному випадку?

A. *Епідермофітія.*

C. *Криптококкоз.*

E. *Кандидоз.*

B. *Мікроспорія.*

D. *Кокцидіоз.*

3. У жінки, що тривало приймала антибіотики з приводу кишкової інфекції, розвинулось ускладнення з боку слизової порожнини рота у вигляді запального процесу і білого нальоту, у якому під час бактеріологічного дослідження були виявлені дріжджеподібні грибки *Candida albicans*. Який із перерахованих препаратів показаний для лікування цього ускладнення?

A. *Поліміксин.*

C. *Тетрациклін.*

E. *Флуконазол.*

B. *Бісептол.*

D. *Фуразолідон.*

4. У лабораторію направлено матеріал білуватого нашарування зі слизової оболонки ротової порожнини. Висів матеріалу зроблено на середовище Сабуро, відмічено ріст сметаноподібних колоній, бактеріоскопія виявила короткі бруньковані нитки. До збудників якої інфекції відносять ізольовані мікроорганізми?

A. *Мікоплазмоз.*

C. *Спірохетоз.*

E. *Хламідіоз.*

B. *Мікоз.*

D. *Рикетсіоз.*

5. У чоловіка 70 років розвинувся протезний стоматит. Крім того, спостерігається виражене ураження куточків рота. Під час мікроскопії виявлені великі овоїдні грампозитивні клітини. Які мікроорганізми найбільш ймовірно стали провідним етіологічним фактором такого ураження?

A. *Стрептококи.*

C. *Нейсерії.*

E. *Коринебактерії.*

B. *Стафілококи.*

D. *Гриби роду Candida.*

Література

Основна

1. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. – Москва : Медицина, 2001. – 721 с.

2. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология : рук-во для специалистов клинической лабораторной диагностики / Э. Г.-А. Донецкая. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.

3. Коротяев А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учебник для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2008, – 4-е изд., испр. и доп. – 767 с.

4. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология : учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. – Москва : Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.

5. Медицинская микология с основами микотоксикологии : учебник для высших учебных заведений / под ред. Д. В. Леонтьева, А. Г. Сербина. – Харьков : 2010. – 142 с.

6. Микробиология / И. Л. Дикий, И. Ю. Холупяк, Н. Е. Шевелева, М. Ю. Стегний. – Харьков : Прапор, изд. УкрФА, 1999. – 413 с.

7. П'яткін К. Д. Мікробіологія з вірусологією та імунологією / К. Д. П'яткін, Ю. С. Кривошеїн. – Київ : Вища шк., 1992. – 431 с.

8. Сергеев А. Ю. Грибковые инфекции : рук-во для врачей / А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев. – Москва : Бинном-Пресс, 2008. – 480 с.

9. Ситнік І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія / І. О. Ситнік, С. І. Климнюк, М. С. Творко. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Додаткова

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад / за ред. В. П. Ширококова – 2-е вид. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 952 с.

2. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2001. – 768 с.

3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» для студентов учреждений высш. проф. образования / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 480 с.

4. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / под ред. В. В. Теца. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2002. – 352 с.

5. Медицинская микробиология / под ред. А. М. Королюка и В. Б. Сбойчакова. – Санкт-Петербург, 2002. – 267 с.

6. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : учеб. пособие / под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. – Москва : ОАО «Издательство медицина», 2005. – 600 с.

7. Конспект лекцій.

Навчальне видання

Патогенні гриби

**Методичні вказівки з дисципліни
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»**

Упорядники Мінухін Валерій Володимирович
 Замазій Тетяна Миколаївна
 Коваленко Наталія Іллівна

Відповідальний за випуск

В. В. Мінухін

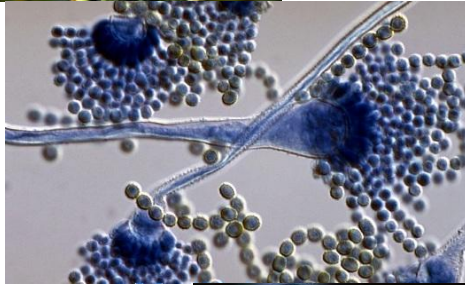


Редактор М. В. Тарасенко
Коректор Є. В. Рубцова
Комп'ютерний набір Т. М.Замазій

Формат А 5. Усл. печ. л. 4,8. Зак. №. 33326

**Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmu@mail.ua**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.



Патогенні гриби

*Методичні вказівки
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія
та імунологія з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»*