

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ КОЖИ И ЕЕ ПРИДАТКОВ У ПАЦИЕНТОВ НА ФОНЕ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ЭНДОКРИННОЙ ПАТОЛОГИИ И ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПО ДАННЫМ ГУЗ АЛТАЙСКОЙ КРАЕВОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ

¹Иванова Ю.А. (ассистент кафедры)*,
²Емельянова И.В. (врач-микробиолог)

¹кафедра дерматовенерологии Алтайского государственного медицинского университета;

²Алтайская краевая клиническая больница, г. Барнаул, Россия

© Иванова Ю.А., Емельянова И.В., 2011

В статье описаны основные методы диагностики микозов кожи и ее придатков, а также проанализированы данные лабораторных исследований, полученные в Алтайской краевой клинической больнице г. Барнаул.

Ключевые слова: дерматомицеты, диагностика, культуральное исследование, микозы кожи, микроскопия, этиология

LABORATORY DIAGNOSIS OF MYCOSES OF SKIN AND ITS APPENDAGES AMONG PATIENTS WITH MERCHANDISE ENDOCRINE PATHOLOGY AND DISEASES OF CONNECTIVE TISSUE BASED ON THE DATA OF ALTAJ REGIONAL CLINICAL HOSPITAL

¹Ivanova Ju. A. (assistant lecturer),
²Yemelyanova I.V. (microbiologist)

¹Chair of Dermatology and Venereology, Altay State Medical University; ²Altay Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia

© Ivanova Ju. A., Yemelyanova I.V., 2011

The basic methods of diagnose of fungal infections of skin and its appendages and analysis of the research data obtained in the Altay regional clinical hospital of Barnaul have been described in the article.

Key words: cultural research, dermatomycetes, diagnosis, etiology, microscopy, skin mycosis

* Контактное лицо: Иванова Юлия Александровна
Тел.: (3852) 62-40-11

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания человека, вызываемые грибами, носят общее название микозы. Этиология, патогенез и клиническая картина микозов чрезвычайно разнообразны, при этом, достаточно часто, в патологический процесс вовлекается кожа. Микроскопические грибы (микромицеты), вызывающие микозы, являются представителями отдельного царства живых существ и значительно отличаются от других возбудителей инфекций, поэтому необходимы особые подходы в диагностике и лечении микозов. Отметим, что диагностика грибковых инфекций нередко является сложной проблемой. Клинические признаки микозов часто неспецифичны, особенно – у иммунокомпрометированных пациентов, поэтому обязательным условием правильной диагностики является выявление возбудителя в биосубстратах с помощью микологических исследований или серологических тестов [1-3].

Целью всякого микробиологического исследования является установление природы микроорганизма – возбудителя заболевания, полученного из клинического и другого материала. Конечной целью микологического исследования является установление рода и вида гриба – возбудителя.

Лабораторную диагностику микозов начинают с обнаружения возбудителя в организме человека: микроскопии взятого образца патологического материала, его посев на питательную (-ые) среду (-ы) для получения гриба-патогена в чистой культуре. Микроскопия первичной культуры нередко является основным методом определения рода (а иногда – и вида) возбудителя. Лучше проводить микроскопию несколько раз, по мере роста культуры, начиная со дня появления первых колоний, затем через 3-4 дня повторяя исследование.

Приступая к микроскопическому изучению культуры, исследователь, как правило, уже знает, является ли грибок дрожжевым или плесневым, судя об этом по внешнему виду колоний и скорости роста. Дрожжевые грибы, выросшие на стандартной среде в обычных условиях, обычно не различимы под микроскопом. Для их дальнейшей идентификации нужны специальные морфологические среды, биохимические и другие тесты. Морфологические характеристики на стандартных средах важны для определения плесневых грибов. По данным различных исследователей, возбудителя поверхностных микозов удастся верифицировать только в 50% случаев [4].

Новое направление в изучении дерматомицетов было создано японскими учеными (Kambe T. и соавт.) в 2003 году, предложившими использовать в идентификации видов *Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidemophyton* ген ДНК – топоизомеразы [5]. Развитие этого метода другими исследователями позволило использовать ПЦР – RFLP уже в лабораторной диагностике дерматомикозов, применяя различные наборы праймеров [6,7].

В 2007 г. во Франции была протестирована первая серийная зарубежная система для ПЦР-диагностики онихомикоза на основе ПЦР и иммуноферментного анализа (Onychodiag). Обследовано 438 пациентов и 108 здоровых лиц. У пациентов с выделенными из ногтей культурами дерматомицетов частота положительных результатов ПЦР составила 83,6%, у здоровых лиц положительных результатов ПЦР не выявляли [8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе бактериологической лаборатории ГУЗ Алтайской краевой клинической больницы во второй половине 2010 года было выполнено 185 микологических исследований (чешуйки с кожи и ногтей на стопах и кистях, с кожи туловища, конечностей и волосистой части головы). Патологический материал забирали от пациентов, обратившихся к дерматологу в поликлинике, и от больных ревматологического и эндокринологического отделений.

Для микроскопии использовали препараты, приготовленные с помощью «просветляющего» раствора, состоящего из ДМСО, КОН и метиленового синего. Микроскопию считали положительной, если в препарате обнаруживали фрагменты мицелия или псевдомицелия, и/или конидии грибов, или дрожжевые клетки.

Патологический материал культивировали на картофельном агаре при 28 °С. Появление роста дерматомицетов отмечали с 4-го по 12-й день инкубации, дрожжевых грибов – со 2-го по 5-й день. При отсутствии роста в течение 30 дней результаты культивирования считались отрицательными. Идентификацию полученных культур проводили с учетом роста колоний и по микроморфологическим признакам. В работе использовали «Определитель патогенных и условно-патогенных грибов» (пер. с англ.: Саттон Д., Фоторгилл А., Ринальди М., 2001 г.). Для определения вида возбудителя кандидоза применяли тест на ростковые трубки и хромогенный агар (Plate of HiCrom Candida Differential Agar – M1297A производства компании HiMedia).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результат микроскопии был положительным у 56 пациентов, что составило 30%, отрицательным – у 129 больных – 70% (табл. 1).

Таблица 1

Результаты микологического исследования чешуек с кожи и ее придатков

Количество проб (n)	Результат микроскопии	Результат посева
42 (23%)	+	+
14 (7%)	+	-
53 (29%)	-	+
76 (41%)	-	-

При культуральном исследовании рост грибов получен в 95 случаях (52%), не получен – в 90 (48%). Анализируя эффективность проведенных микроскопического и культурального исследований, отметим,

что наличие грибов одновременно при том и другом исследованиях было подтверждено у 42 больных (23%); грибы обнаружили либо при микроскопии, либо в культуре в 109 случаях, то есть эффективность сочетанного микроскопического и культурального методов составила 59%. Таким образом, при культуральном исследовании получена более высокая чувствительность, чем при микроскопическом: 52% и 30% соответственно. Возможно, при проведении микроскопии большое значение имеет опыт врача-лаборанта, а также субъективная оценка полученных результатов. Однако для более точных выводов необходим анализ результатов микологического обследования в подобных когортах пациентов в других лечебных учреждениях. В то же время, несомненно значимость проведения культурального исследования даже при отрицательных результатах микроскопии.

Изображения микромицетов, полученные при микроскопии первичной культуры

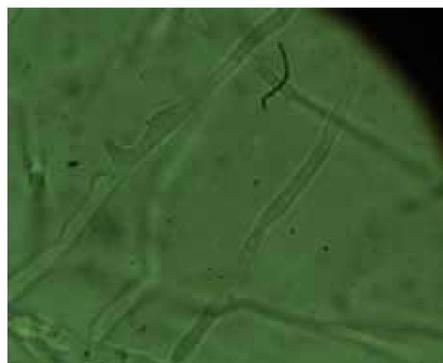


Рис. 1. *M. audouinii*, гифы септированные, отсутствуют микро- и макроконидии, гребенчатые гифы. Увеличение 1000

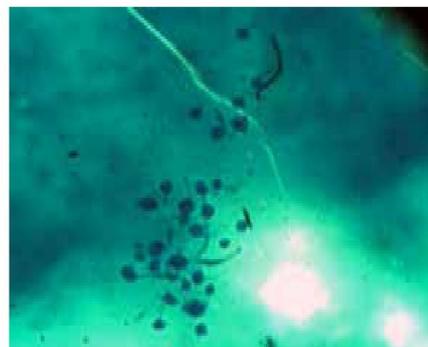


Рис. 2. *S. albicans*, ростовые трубки присутствуют в большом количестве. Увеличение 1000

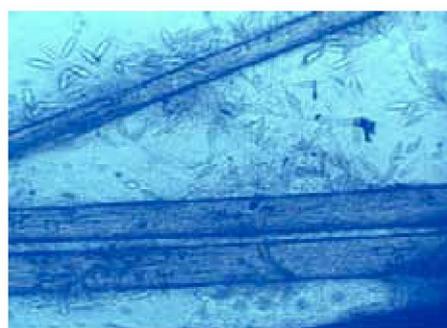


Рис. 3. *M. canis*, септированные гифы, отсутствуют микро- и макроконидии, присутствуют макроконидии в большом количестве. Увеличение 1000



Рис. 4. *M.canis*, макроконидии веретеновидные, толстостенные, разделенные на 10 клеток, верхняя часть слегка изогнута. Увеличение 1000

Микромицеты, выделенные при культуральном исследовании, представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Спектр микромицетов, выделенных из клинического материала

Вид микромицетов	Количество положительных результатов культивирования (n)
<i>Trichophyton rubrum</i>	43
<i>Trichophyton tonsurans</i>	9
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3
<i>Microsporium audouinii</i>	3
<i>Microsporium canis</i>	4
<i>Candida albicans</i>	5
не- <i>albicans</i> виды <i>Candida</i> , в том числе <i>Candida glabrata</i> и <i>Candida krusei</i>	28
	5
	2

При изучении видового состава *Candida* spp. выявили, что с поверхности кожи и ее придатков *C. albicans* высевали у 5 больных, не-*albicans* виды *Candida*, в том числе *Candida glabrata* и *Candida krusei* – у 28. Данный клинический материал в большинстве случаев был получен от пациентов, имевших сопутствующие эндокринные заболевания и воспалительные заболевания соединительной ткани. Среди всех «дрожжевых дерматомикозов» *albicans*-кандидоз составил всего 15,2%, не-*albicans* – 84,8%. Из дерматомицетов высевали преимущественно *Trichophyton rubrum* (69,3%), реже – *Trichophyton tonsurans* (14,5%) и *Trichophyton mentagrophytes* (4,8%). Среди микозов волосистой части головы и гладкой кожи, вызванных *Microsporium* spp., в 3 слу-

чаях был получен *Microsporium audouinii*, в 4 случаях – *Microsporium canis*.

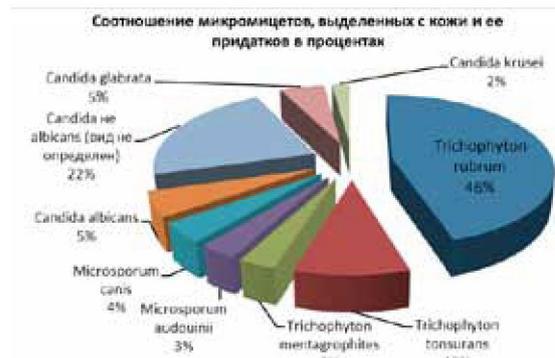


Рис. 5. Соотношение микромицетов, выделенных с кожи и ее придатков (%)

ВЫВОДЫ

Таким образом, спектр возбудителей микозов кожи и ее придатков у больных, имеющих сопутствующие эндокринные заболевания и воспалительные заболевания соединительной ткани, по данным бактериологической лаборатории ГУЗ АККБ, достаточно широк. Для правильной верификации диагноза и выбора адекватной терапии необходимо проведение как микроскопического, так и культурального исследований с микроскопией первичной культуры. В проведенном исследовании чувствительность культурального метода оказалась выше, чем микроскопического, что зависело от опыта врача, выполнявшего микроскопию, и субъективной оценки полученных результатов. Обращает на себя внимание большое количество случаев микозов кожи и ногтей пластинки, вызванных не-*albicans* видами *Candida* (22%), а также малое количество случаев грибкового поражения кожи и ее придатков, вызванных *T. rubrum* (46% среди всех дерматомикозов и 69,3% – среди микозов, вызванных дерматомицетами). Необходимы разработка и внедрение новых современных методов диагностики, в частности микологической ПЦР-диагностики микозов в целях совершенствования терапии грибковых инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. – М., 2008. – С. 3-19.
2. Кэрл А.К., Джеральда Л.М. Атлас грибковых заболеваний. Перевод с англ. под ред. Сергеева Ю.В. – М., 2010. – С. 7-8.
3. Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. – СПб.: Изд.дом СПбМАПО, 2004. – С. 63-71.
4. Мельниченко Н.Е. Результаты лабораторной диагностики дерматомицетов по данным Амурского ОКВД // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – №1. – С. 163.
5. Kambe T. Gauge principle for flows of an ideal fluid // Fluid Dynamics Research № 32.- 2003.- С.193–199.
6. Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi 2nd ed. – 2000.
7. Garg J., et al. Evaluation of pan-dermatophyte nested PCR in diagnosis of onychomycosis // J.Clin. Microbiol. – 2007. – Vol.45, №10. – P.3443-5.
8. Savin C., Huck S., Rolland C., et al. Multicenter evaluation of a commercial PCR-enzyme-linked immunosorbent assay diagnostic kit (Onychodiag) for diagnosis of dermatophyticonychomycosis // J.Clin.Microbiol. – 2007. – Vol.45, №4. – P. 1205-10.

Поступила в редакцию журнала 15.03.11

Рецензент: Ю.В. Борзова