

БПОУ ВО ВБМК

ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ

ПМ 04 “Проведение лабораторных микробиологических
и иммунологических исследований”

Для специальности 31.02.03 “Лабораторная диагностика”

Преподавать: Куприянова.С.И

2017 г.

МИКОЗЫ – ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА.

Резолюция Всемирной медицинской ассоциации «О диагностике и лечении микозов»,
принята на Генеральной Ассамблее 16-19 октября 2013 года в Бразилии.

- По оценкам Всемирной Организации Здравоохранения, микозы составляют значительную проблему здравоохранения во всем мире.
- Микозы включают:
- Инфекции кожи около 1млрд. случаев
- Инвазивные и хронические инфекции. Ежегодная глобальная летальность 1350 000 человек сравнима с летальностью от малярии и туберкулеза 2 050 000 человек.
- Инвазивные микозы не имеют специфических клинических признаков и часто не диагностируются.

В последние десятилетия отмечается значительный рост грибковых заболеваний.

Факторы, предрасполагающие к развитию микозов (независимо от их вида и локализации)

1. Ухудшение экологической ситуации, усиливающее грибковую контаминацию внешней и внутренней среды.
2. Иммунодепрессии (применение цитостатиков, онкологические и гематологические заболевания. Состояние после трансплантации органов, лучевой терапии, при СПИДе и др.)
3. Сахарный диабет и другие эндокринопатии.
4. Нерациональное применение гормональных препаратов в особенности глюкокортикоидов, оральных контрацептивов.
5. Нерациональная антибиотикотерапия.
6. Беременность.
7. Пожилой и старческий возраст.
8. Курение и алкоголизм.
9. Широкое использование съёмных протезов, линз.
10. Формирование госпитальных штаммов грибов в стационарах различного профиля.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЦАРСТВА ГРИБОВ.

1. Хитридиомицеты (патогенных грибов не обнаружено).
2. Зигомицеты (низшие грибы). Возбудители микозов человека грибы р. *Mucor* spp, *Rhizopus* spp, *Absidia* spp.
3. Аскомицеты. Возбудители большинства микозов человека: р. *Candida* spp, *Trichophyton* spp, *Microsporum* spp, *Fusarium* spp, *Aspergillus* spp, *Sporothrix schenckii*, *Penicillium marneffe*i, возбудитель пневмоцитоза.
4. Базидиомицеты. Наиболее значимые: возбудитель криптококкоза *Cryptococcus neoformans*, возбудитель разноцветного лишая *Malassezia* spp, возбудители редких микозов *Trichosporon* spp, *Rhodotorula* spp.

Дрожжи — что это?

- **Одноклеточные грибы, размножающиеся почкованием или делением**
- **Весь таллом может состоять из одной единственной клетки**



Saccharomyces cerevisiae

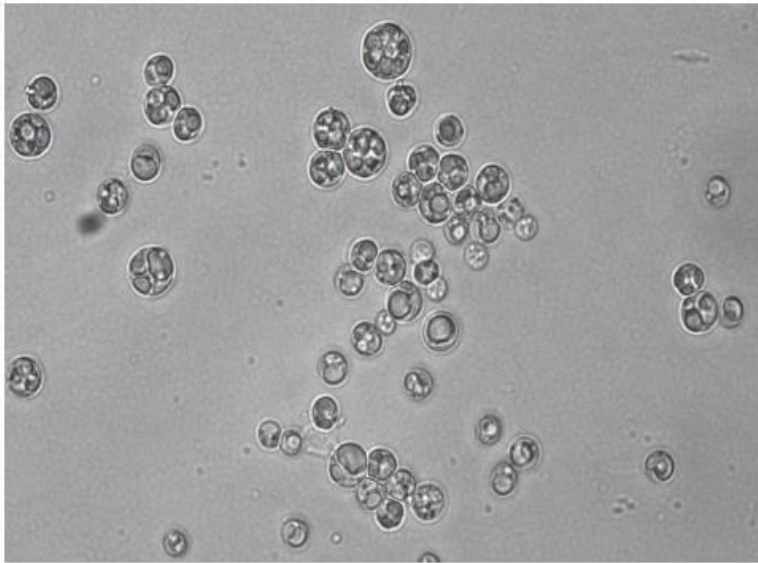
Дрожжи — что это?



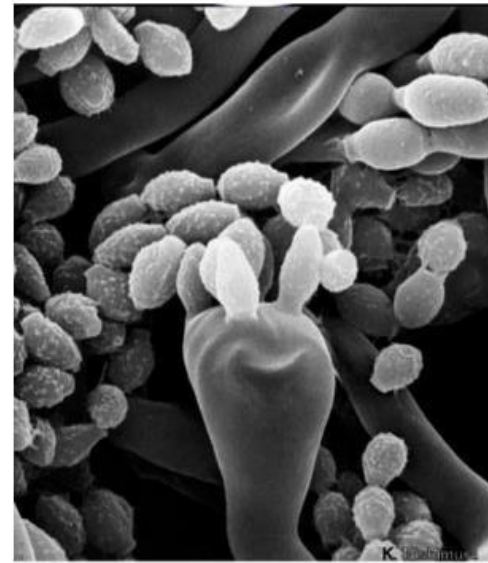
***Дрожжи могут иметь в жизненном цикле
мицелиальную стадию
(истинные гифы или псевдомицелий)***

1 500 ВИДОВ *

Ascomycetes



Basidiomycetes



Fungi imperfecti, Дейтеромицеты, несовершенные грибы:
половой процесс пока не обнаружен

Дрожжи

- **грибы, которые способны вегетативно размножаться в одноклеточной форме, независимо от того имеют ли они мицелиальную фазу в жизненном цикле или нет, и родственны аскомицетовым или базидиомицетовым отделам грибов.**

Медицински значимые рода дрожжей

Candida spp.

Geotrichum spp.

Saccharomyces cerevisiae

Ascomycetes

Cryptococcus spp.

Trichosporon spp.

Malassezia spp.

Rhodotorula spp.

Basidiomycetes

Candida и кандидоз

- **Часто**

C. albicans
C. glabrata
C. parapsilosis
C. tropicalis

- **Нечасто
встречаются**

C. krusei
C. guilliermondii
C. lusitaniae
C. rugosa

- **Редко**

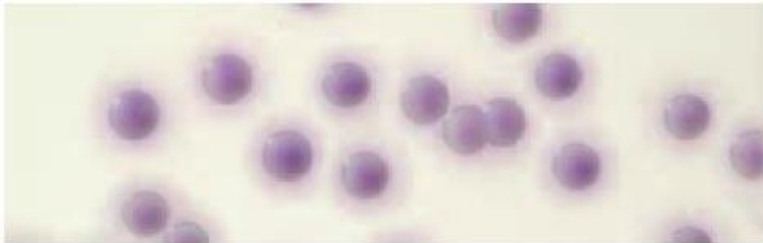
C. famata
C. inconspicua
C. kefyr
C. lipolytica
C. norvegensis
C. sake
C. zeylanoides

ФАКТОРЫ РИСКА

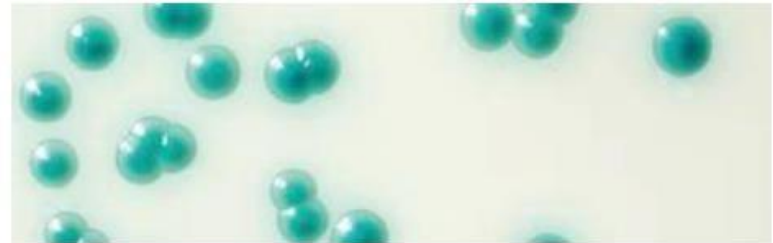
- Применение антибиотиков широкого спектра действия
- Иммуносупрессия
- Снижение количества и нарушение функции нейтрофильных лейкоцитов и Т-лимфоцитов по различным причинам (СПИД)
- Ожоги, травмы, хирургические вмешательства
- Парентеральное питание
- Гемодиализ
- Индекс по системе APACHE II > 20 баллов
- Использование катетеров (венозных, мочевых, перитонеальных), искусственная вентиляция легких.
- Эндокринные заболевания (диабет)
- Злокачественные новообразования
- Недоношенность (вес менее 1,5 кг)
- Трансплантация органов и тканей
- Длительное нахождение в ОРИТ (> 7 дней).

Хромогенные среды. BioRAD

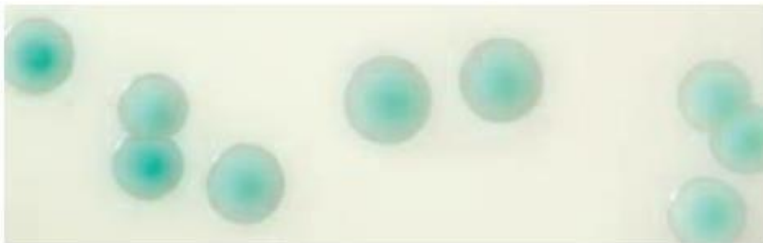
Candida albicans



Candida tropicalis



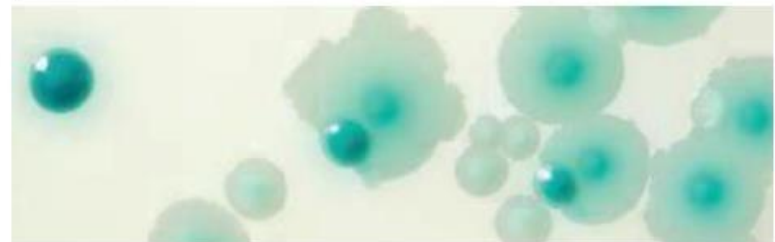
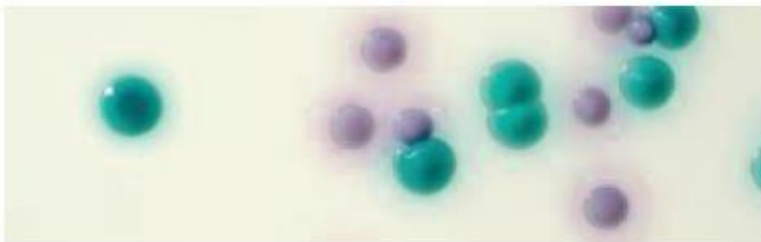
Candida glabrata



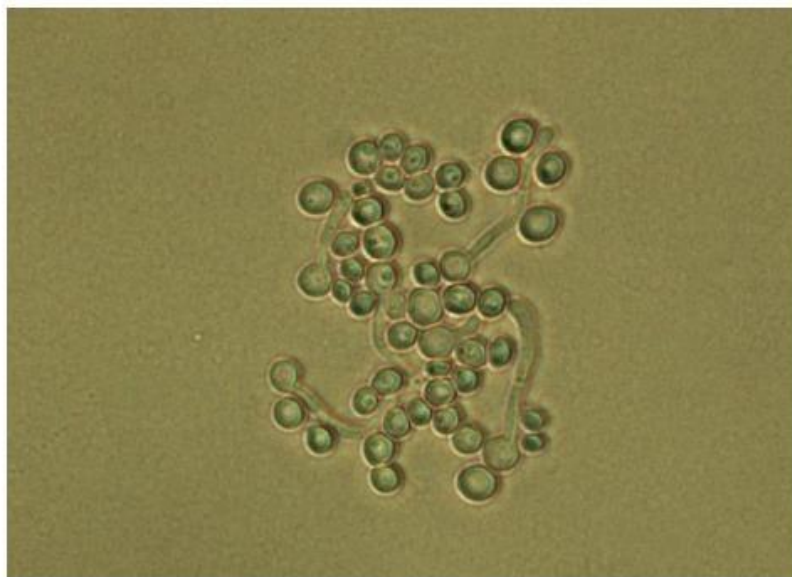
Candida krusei



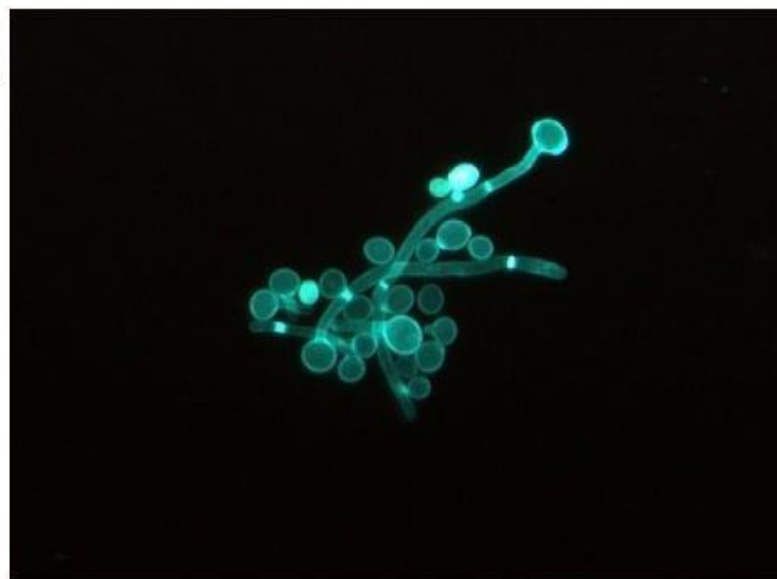
Смешанные инфекции



Candida albicans

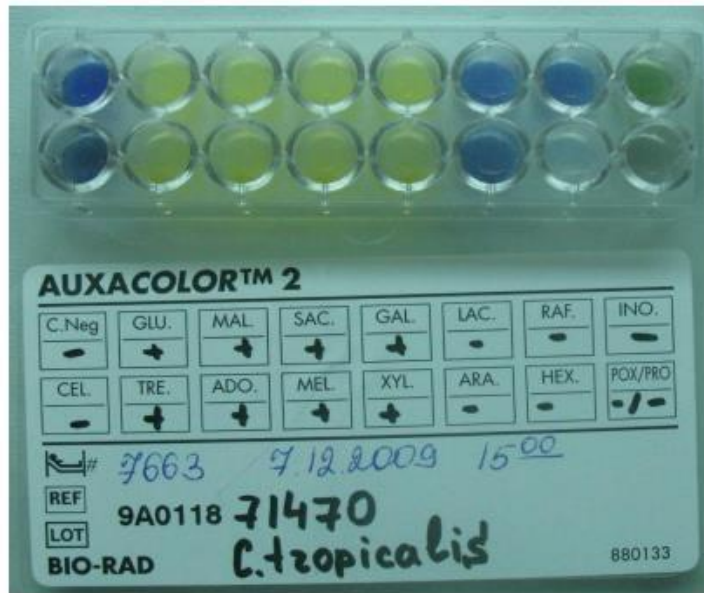


3 часа в сыворотке крови
(0.5 мл КРС и культура гриба на
кончике петли, легкая взвесь!)

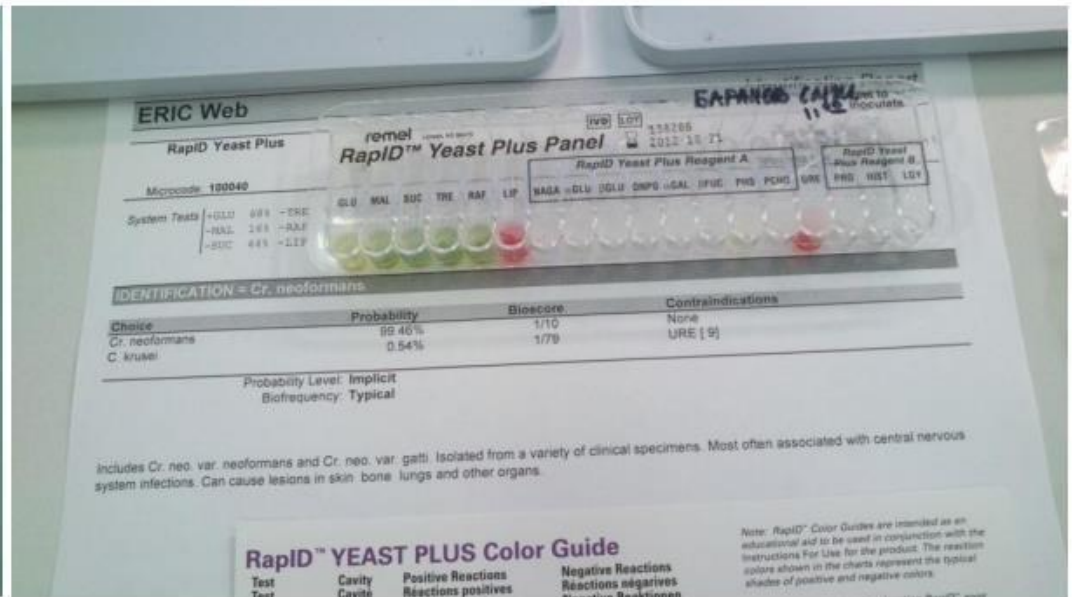


Тест-системы для идентификации дрожжей

AUXACOLOR™ 2 (BioRad)



RapID™ Yeast Plus System (Remel)



Автоматический анализатор Vitek 2 (BioMerieux)



Candida albicans
Candida boidinii
Candida catenulata
Candida colliculosa
Candida dubliniensis
Candida famata
Candida freyschussii
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida haemulonii
Candida inconspicua
Candida intermedia
Candida kefyr
Candida krusei
Candida lambica
Candida lipolytica
Candida lusitaniae
Candida magnoliae
Candida norvegensis
Candida parapsilosis
Candida pelliculosa
Candida pulcherrima
Candida rugosa
Candida sake
Candida sphaerica
Candida tropicalis
Candida utilis

Candida zeylanoides
Cryptococcus albidus
Cryptococcus laurentii
Cryptococcus neoformans
Cryptococcus terreus
Cryptococcus uniguttulatus
Geotrichum capitatum
Geotrichum klebahnii
Kloeckera spp
Malassezia furfur
Malassezia pachydermatis
Pichia farinosa
Kodamaea ohmeri
Prototheca wickerhamii
Prototheca zopfii
Rhodotorula glutinis
Rhodotorula minuta
Rhodotorula mucilaginosa
Saccharomyces cerevisiae
Sporobolomyces salmonicolor
Stephanoascus ciferrii
Trichosporon asahii
Trichosporon inkin
Trichosporon mucoides
Zygosaccharomyces bailii

Geotrichum spp.



G. candidum
G. capitatum
G. clavatum



- **Бронхо-легочные инфекции**
- **Колонизация ЖКТ**
- **Сепсис (посевы часто положительны на**

Cryptococcus spp. Криптококкоз

C. neoformans
(95%)

Очень редко:

C. albidus

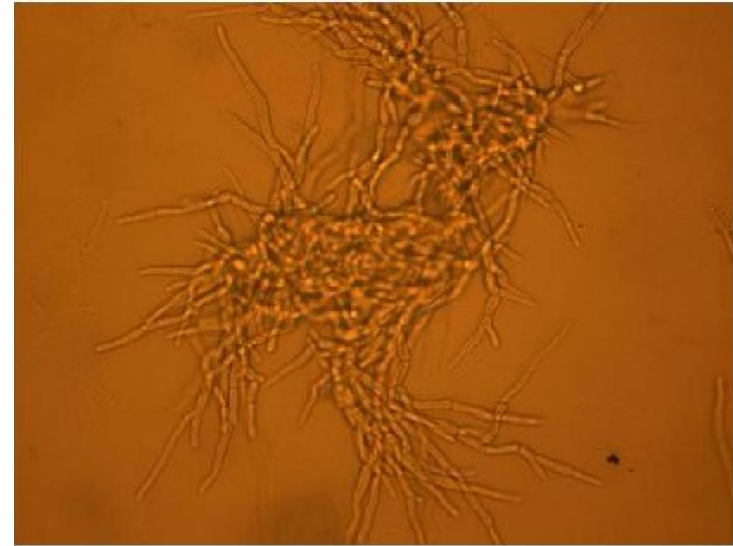
C. laurentii



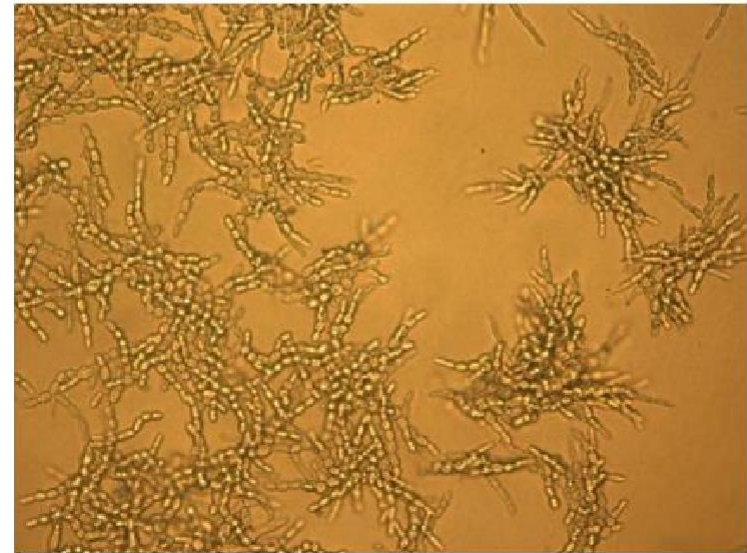
- СПИД
Без проведения ВААРТ 4-30%
- Длительное применение высоких доз глюкокортикостероидов
- Трансплантация органов и тканей
- Гемобластозы
- Декомпенсированный сахарный диабет

У 10-15% больных указанные факторы риска не выявляются!!!

Trichosporon spp

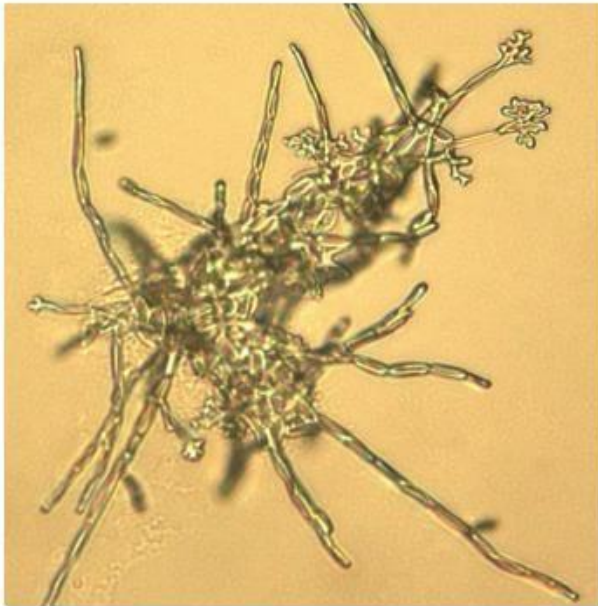


T. asahii



T. inkin

Trichosporon spp



Всего 30 видов, патогенных 6:

T. asahii

T. ovoides

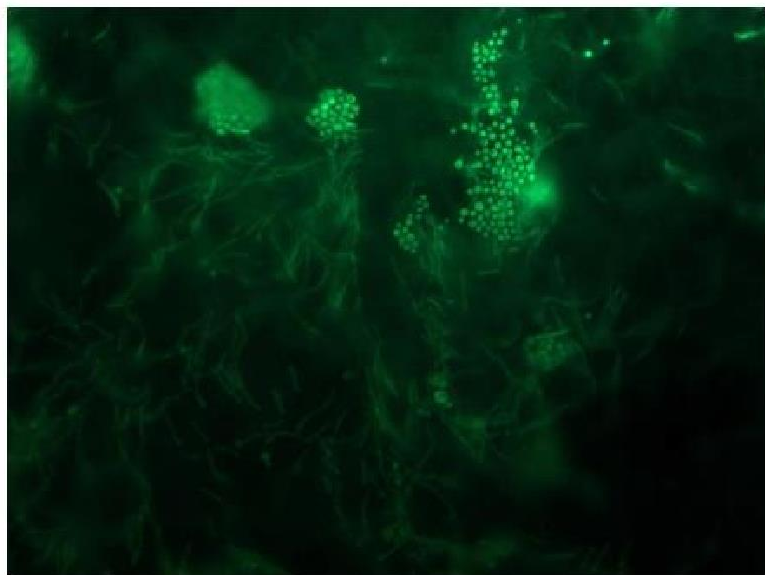
T. cutaneum (= *T. beigeli*)

T. inkin

T. asteroides

- Вызывает белую пьедру (узелковое поражение волоса)
- у пушных зверей и человека
- Онихомикозы
- Диссеминированные инфекции
- Эндокардиты
- Перитониты

Malassezia spp.



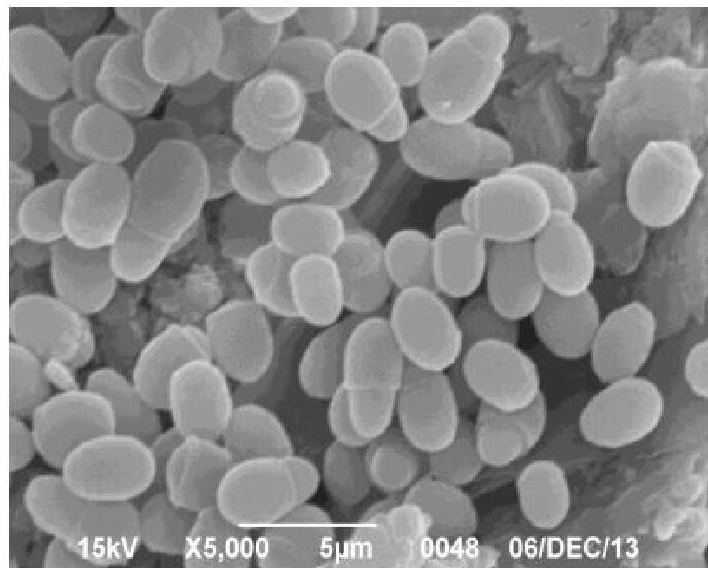
M. dermatis
M. furfur
M. globosa
M. japonica
M. nana
M. obtusa
M. pachydermatis
M. restricta
M. slooffiae
M. sympodialis
M. yamatoensis

Малассезия фолликулит

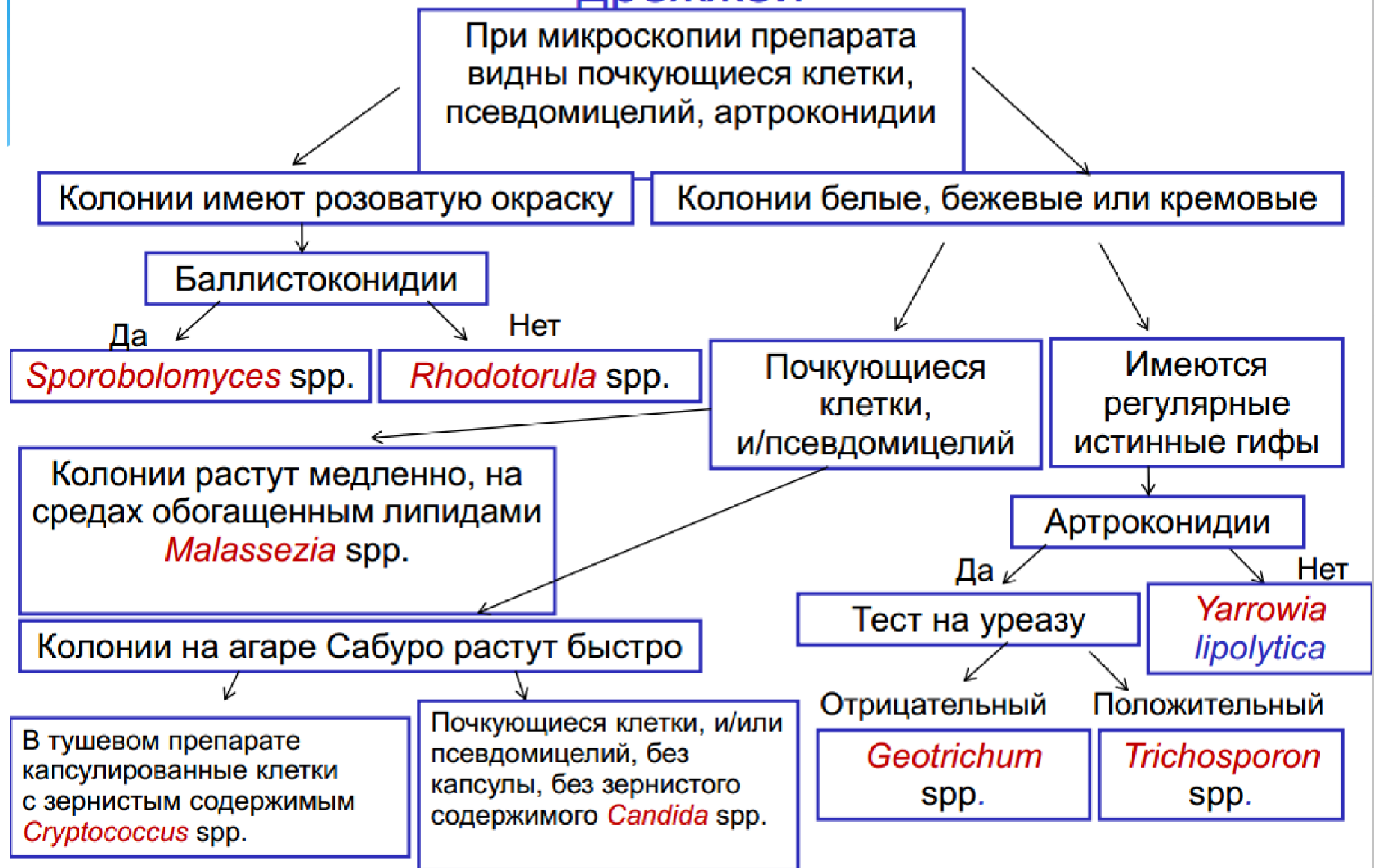
Неонатальный пустулез

Пустулезный папилломатоз

Системные инфекции
(фунгемии), катетер-
ассоциированные инфекции
кровотока.



Определение клинически значимых родов дрожжей

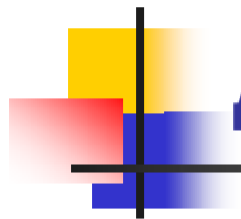


дерматомицеты

Историческая справка

- Открытие того, что грибы могут являться этиологическими агентами и поражать здоровую кожу, вероятно, было сделано немецким физиологом **Робертом Ремарком** (Robert Remark, 1815 – 1865), который наблюдал необычные микроскопические структуры в соскобах кожи больных фавусом.
- Парижский врач **Дэвид Груби** (Devid Gruby) на основании наблюдений с 1841 по 1844 гг. описал клиническую и микроскопическую картину фавуса и установил инфекционную природу заболевания.
- 1890-дерматолог **Раймонд Сабуро** описал множество грибов, в том числе стригущий лишай, объединив микологические и клинические аспекты. Разделил дерматомицеты на четыре рода: *Achorion*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, и *Trichophyton*.
- **Эммонс** (1934 г.) модернизировал таксономическую схему и отказался от рода *Achorion*, закрепив за дерматомицетами три анаморфных рода.





Дерматомицеты

- это нитчатые высшие грибы, вызывающие поражение кератиносодержащих тканей в организме человека и животных

Первичные патогены – поражают здоровую кожу!

ДЕРМАТОМИЦЕТЫ

	<i>p. Trichophyton</i>	<i>p. Microsporum</i>	<i>p. Epidermophyton</i>
Антропофильный	<i>T.concentricum,</i> <i>T.interdigitale,</i> <i>T.mentagrophytes</i> <i>T.rubrum,</i> <i>T.schoenleinii,</i> <i>T.soudanense,</i> <i>T.tonsurans</i> <i>T.violaceum,</i> <i>T.yaoundei</i>	<i>M. audouinii</i> <i>M. ferrugineum</i>	<i>E. floccosum</i>
Зоофильный	<i>T.equinum,</i> <i>T.erinacei,</i> <i>T.mentagrophytes</i> <i>T.simii</i> <i>T.verrucosum</i>	<i>M. canis</i> <i>M. gallinae</i> <i>M. persicolor</i> <i>M. nanum</i>	
Геофильный	<i>T.ajelloi</i> <i>T.flavescens</i> <i>T.gloriae</i> <i>T.phaseoliforme</i> <i>T.terrestre</i> <i>T.vanbreuseghemii</i>	<i>M. cookei</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. nanum</i>	



Методы исследования патологического материала

- Прямая микроскопия ногтевых пластинок/кожных чешуек с добавлением КОН и калькофлюора белого
- Культуральные методы исследования (посев на селективные среды для выделения и идентификации возбудителей)
- Молекулярно-генетические методы (ПЦР)

Правила забора патологического материала при дистально-латеральном и тотальном типах онихомикоза

- Очищение ногтевой пластин 70% спиртом
- Забор материала с вентральной части и ногтевого ложа
- Инструменты для забора – скальпель, кюретка



Правила забора патологического материала при белом поверхностном типе онихомикоза

- Очищение ногтевой пластинки 70% спиртом
- Забор материала из крошащихся лейконихий
- Срезание одноразовым скальпелем, поскабливание кюреткой тыльной стороны ногтя



Правила забора патологического материала при проксимальном подногтевом онихомикозе

- Очищение ногтевой пластинки 70% спиртом
- Забор материала из промежуточного слоя ногтевой пластинки
- Инструмент для доступа – одноразовый перфоратор, электрический бор



Правила забора патологического материала



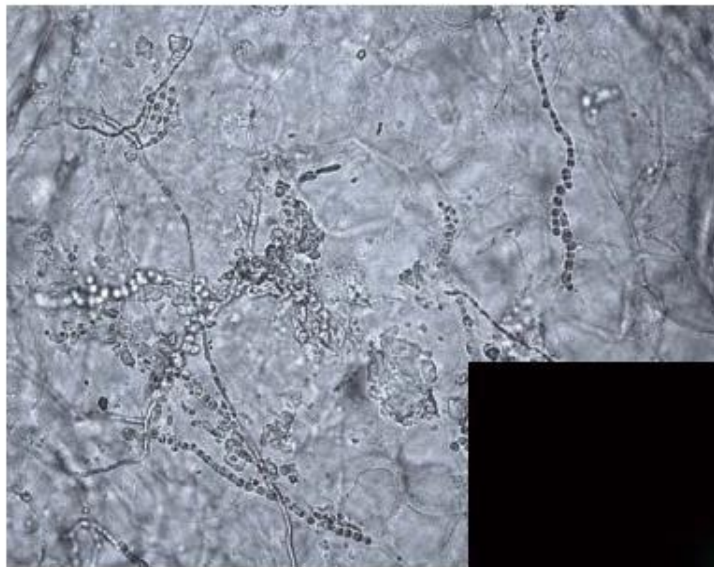
правильно собранный
материал



неправильно собранный
материал

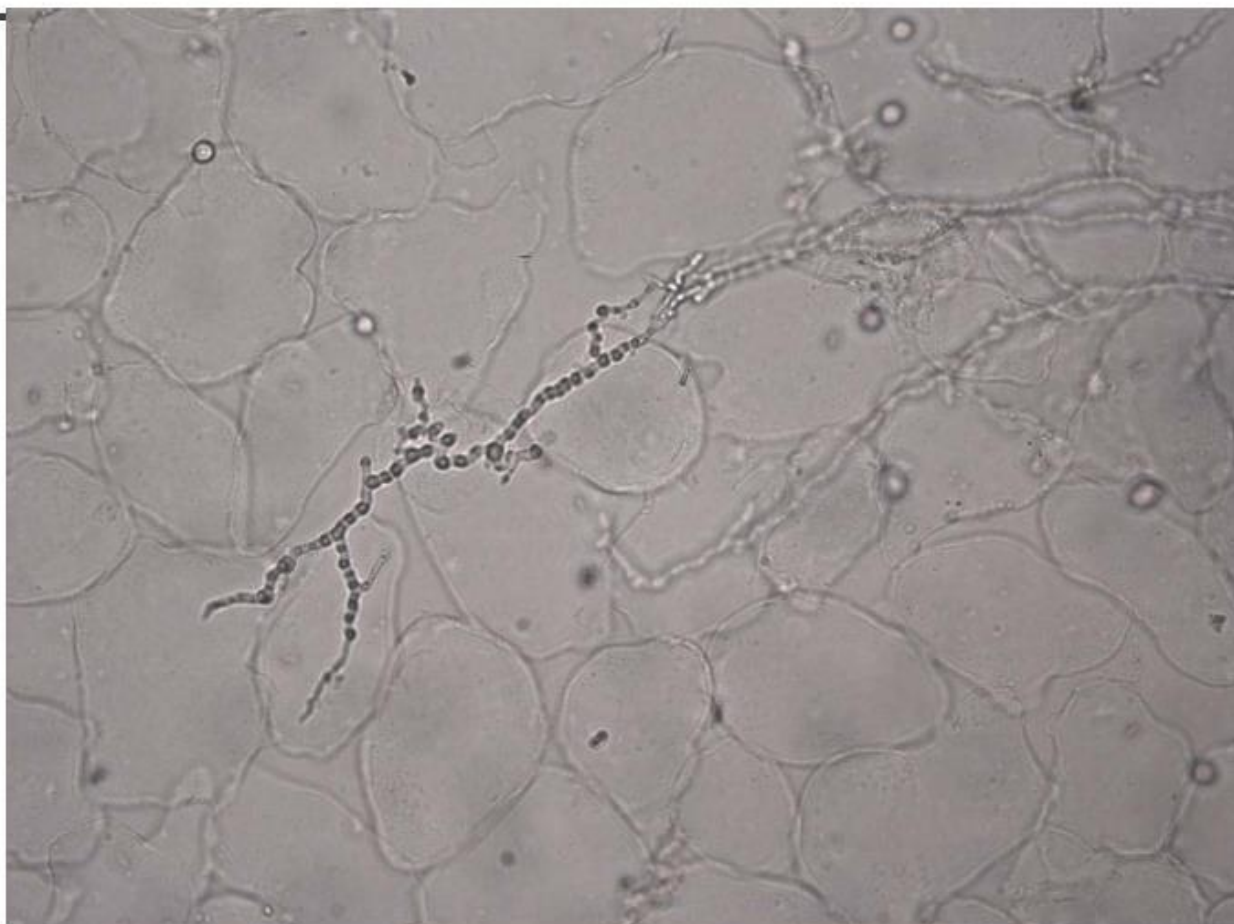
Микроскопия патологического материала

- КОН (30%)
- Нагревание
- Использование
калькофлюора
белого



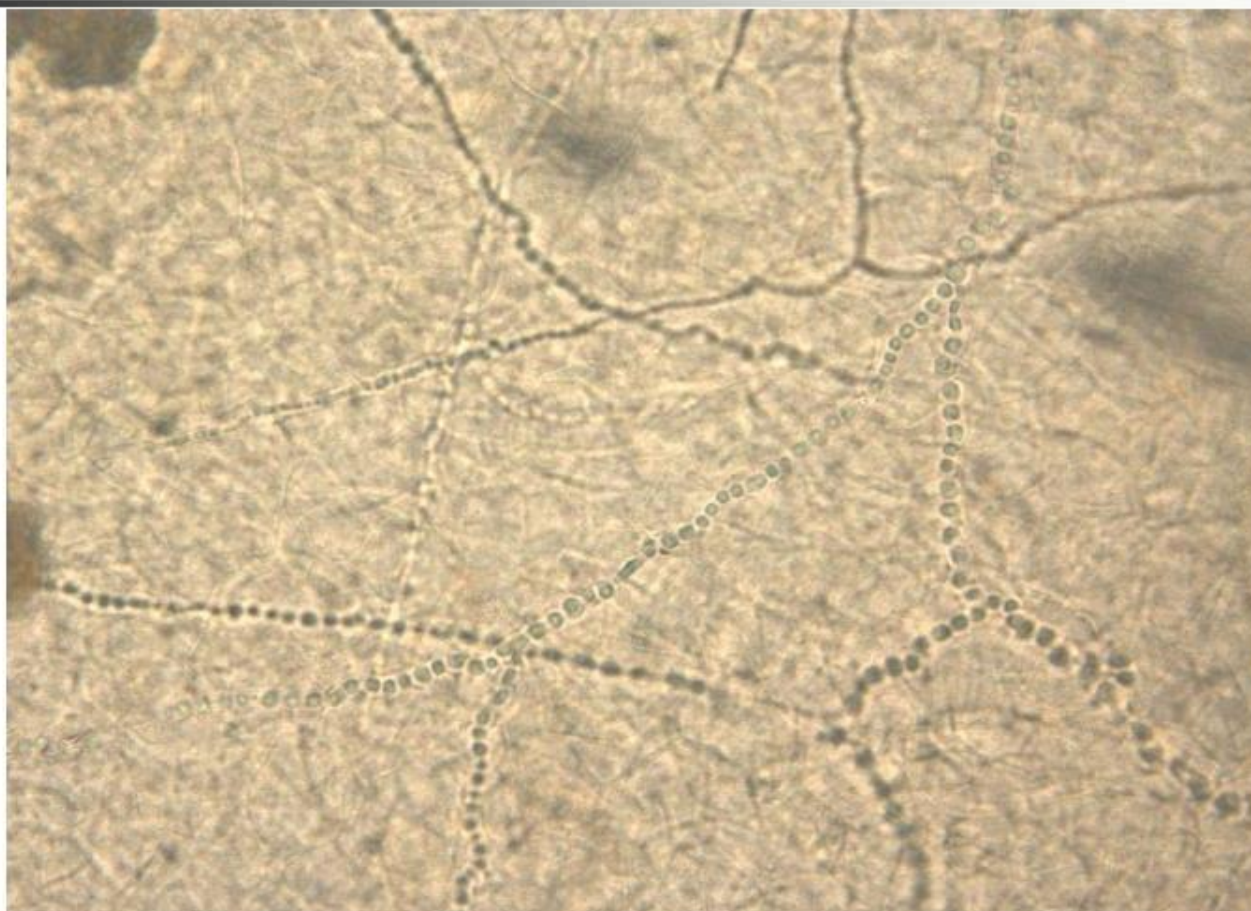
Прямая микроскопия.

Ногтевые пластины, x400



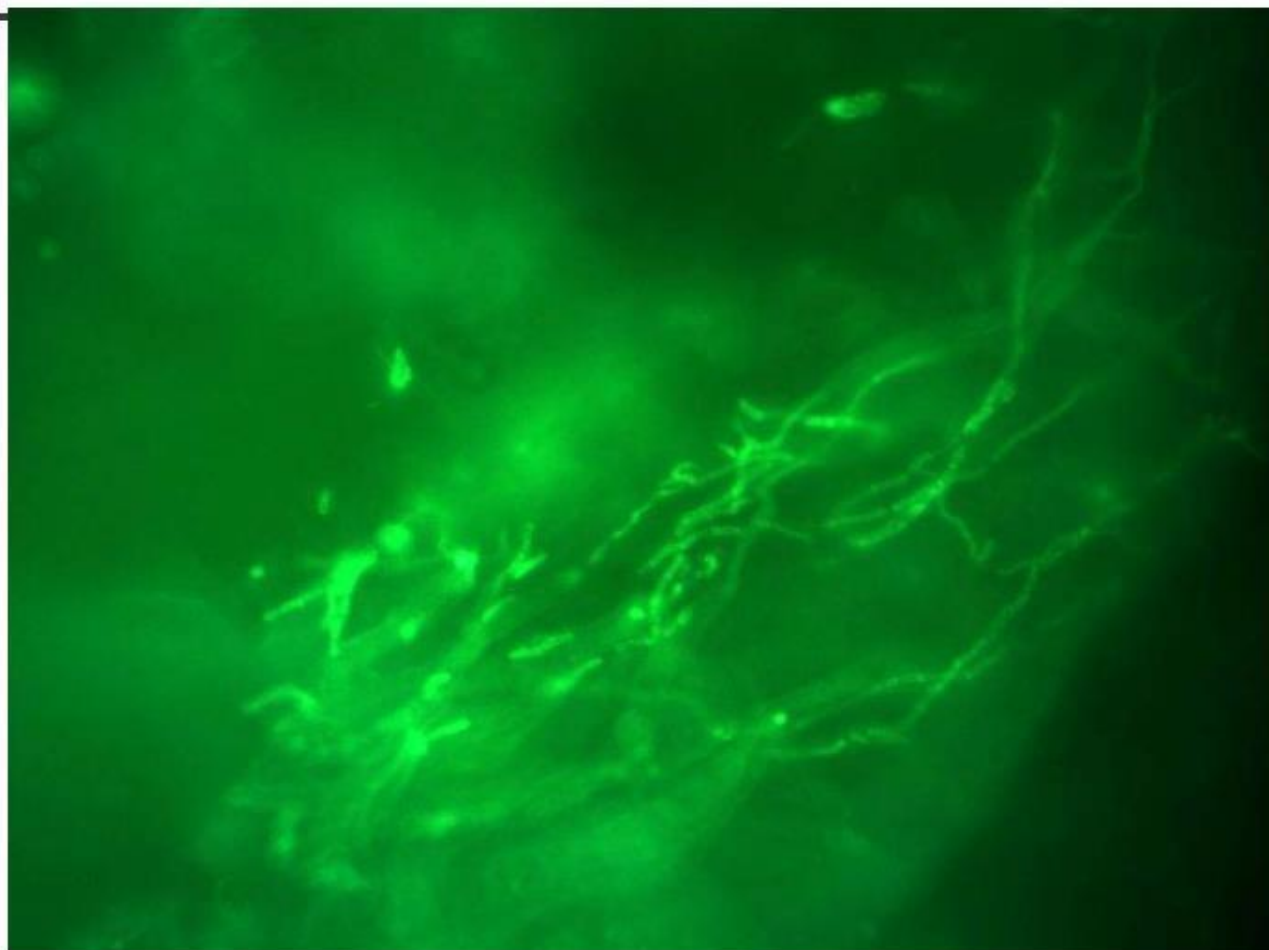
Прямая микроскопия.

Ногтевые пластины, x400



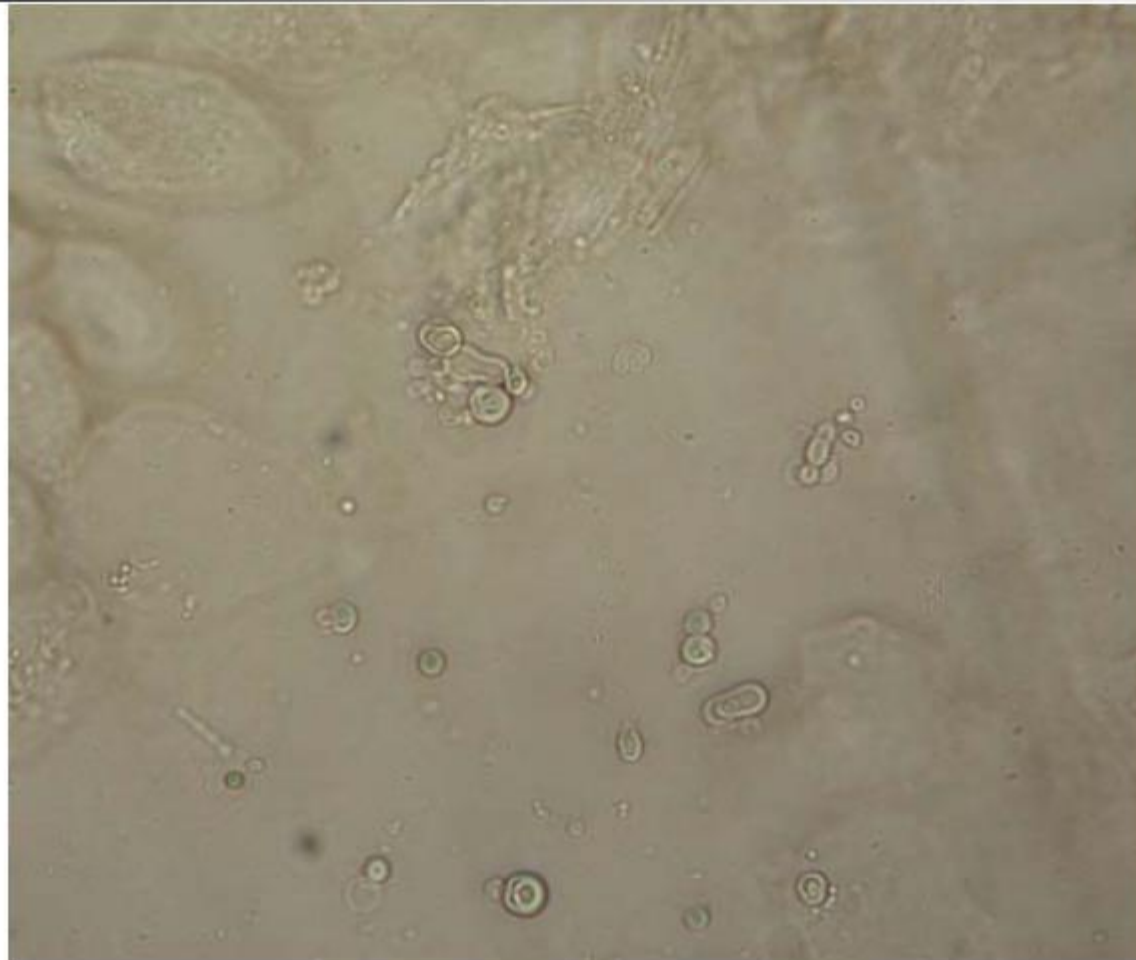
Прямая микроскопия с калькофлюором белым.

Ногтевые пластины, x400



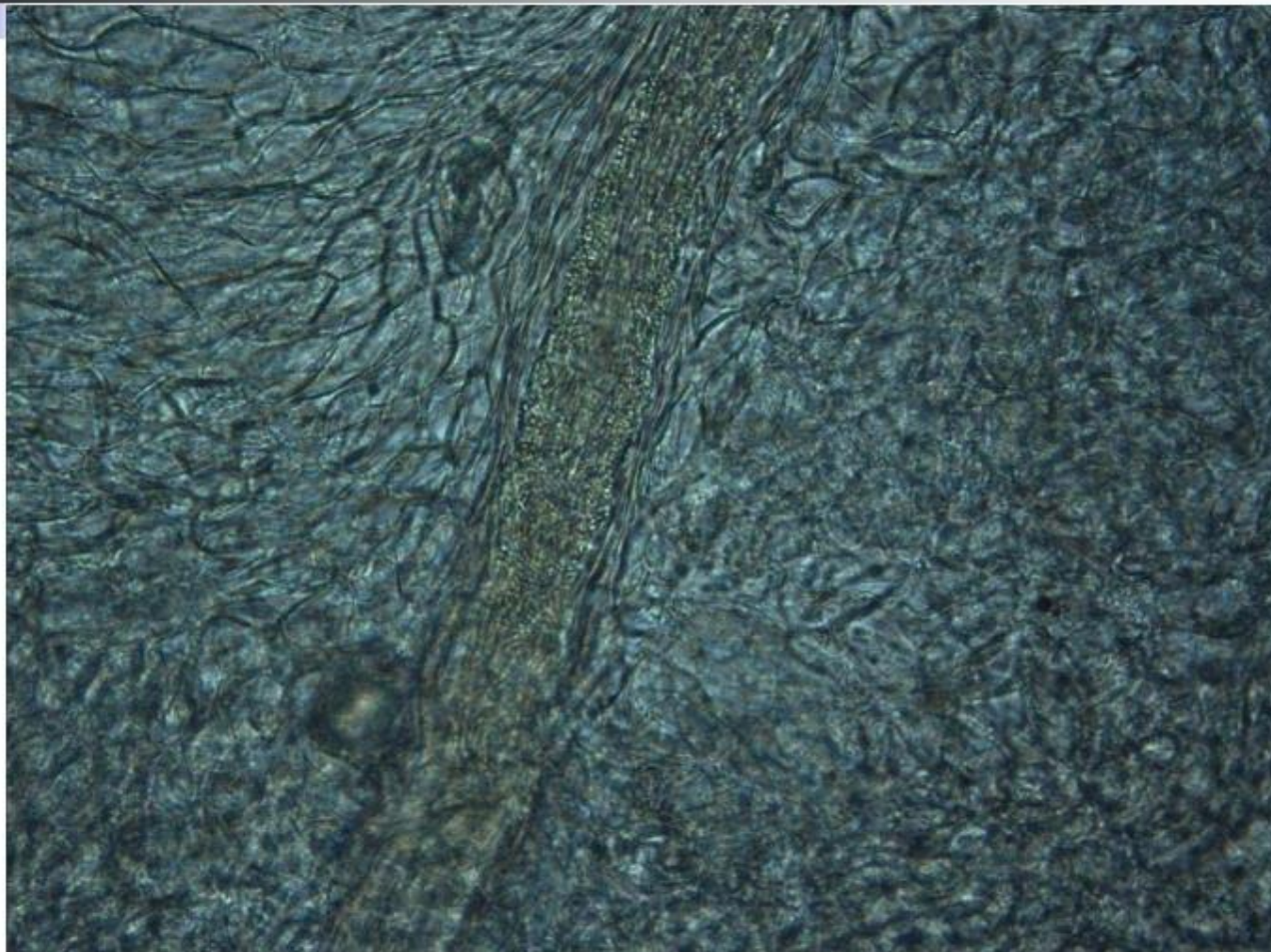
Прямая микроскопия.

Ногтевые пластины, x400



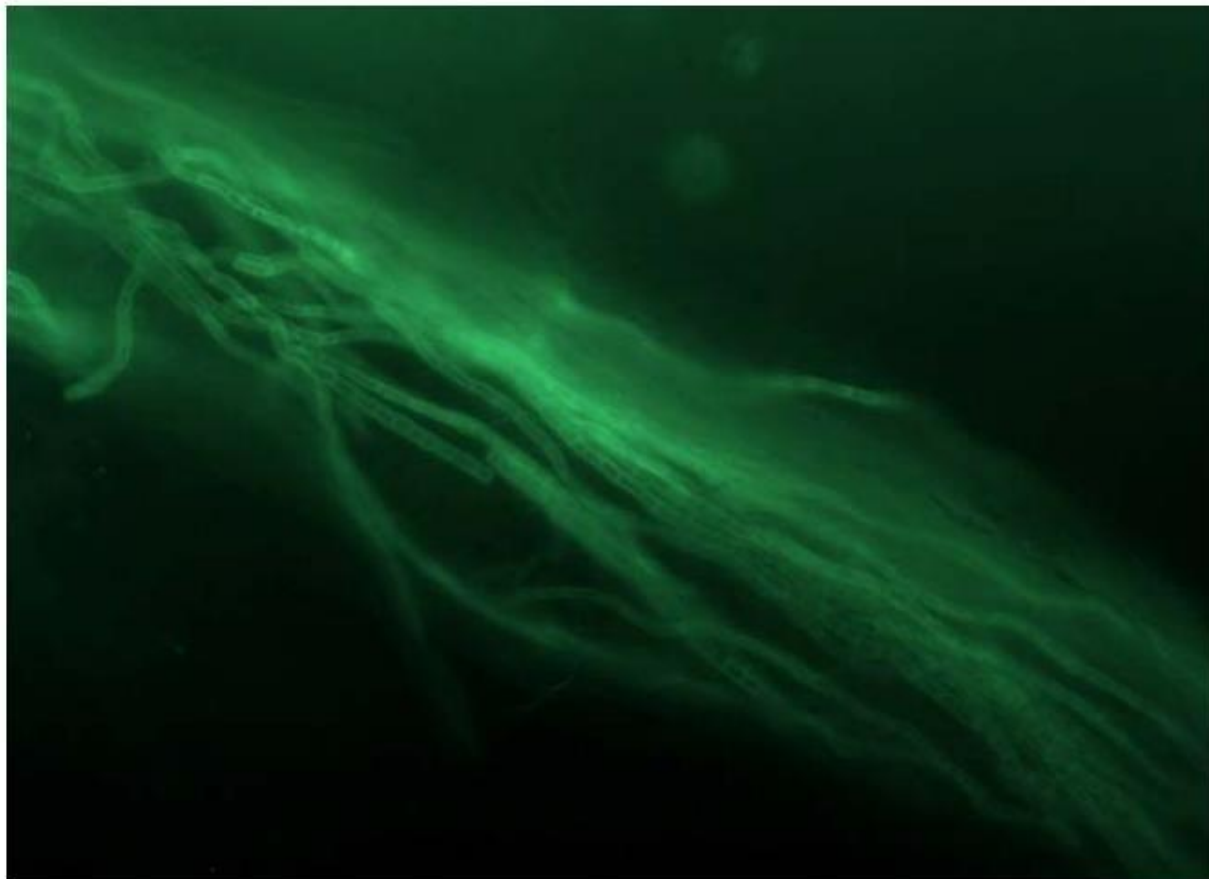
Прямая микроскопия.

Волос, x400



Прямая микроскопия с калькофлюором белым.

Волос, эндотрикс x400



Посев патологического материала





Питательные среды

- Агар Сабуро в модификации Эммонса, pH 7.0

Глюкоза – 20 г

Пептон – 10 г

Агар – 18 г

Хлорамфеникол – 0,05 г

Вода – довести до 1 литра

- Кукурузный агар (для стимуляции пигментообразования)

Кукурузная мука – 42 г

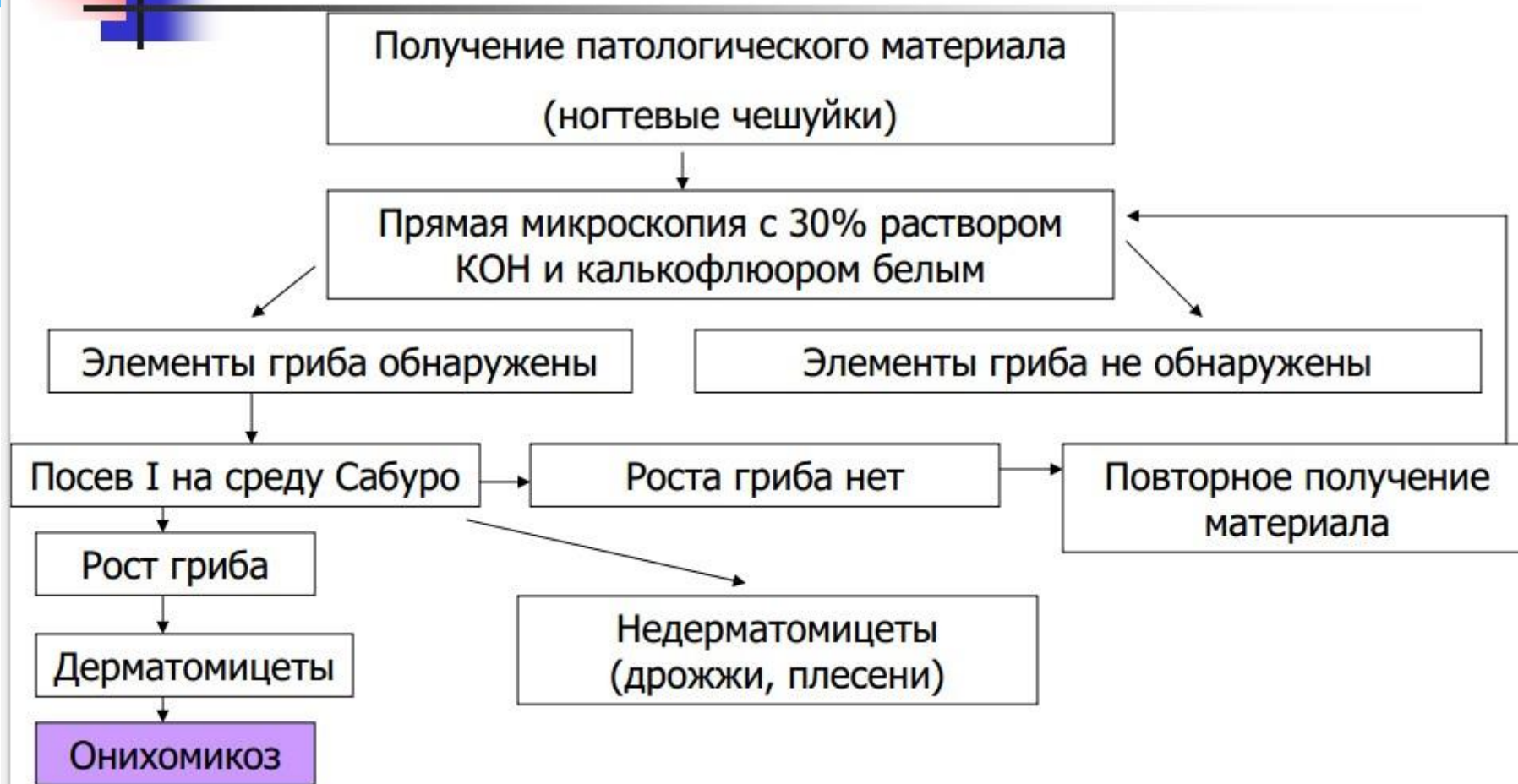
Глюкоза – 20 г

Агар – 15 г

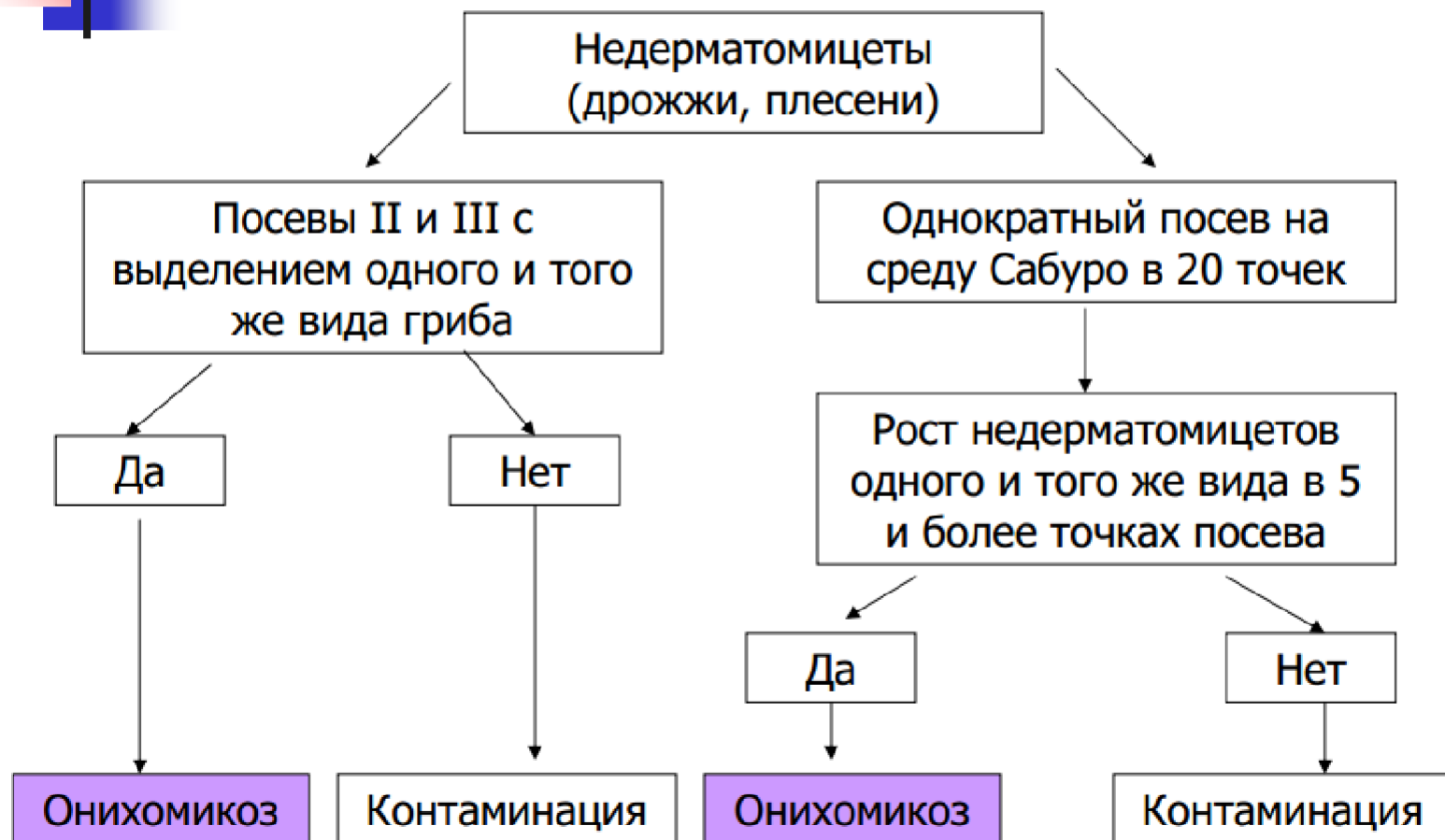
Вода – довести до 1 литра

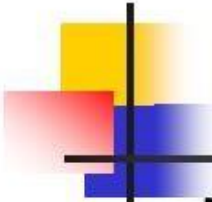
Смешанные компоненты стерилизуют при 110-112 градусах, 30 минут

Алгоритм лабораторной диагностики онихомикоза



Алгоритм лабораторной диагностики онихомикоза





Основные характеристики

	<i>Trichophyton</i>	<i>Microsporum</i>	<i>Epidermophyton</i>
Микроконидии	+++ преобладают	++	отсутствуют
Макроконидии	++ гладкие	+++ шероховатые преобладают	+++
Примечание	Рост через 2-4 недели	Быстро растет (обычно уже на 4 сутки)	■ Макроконидии собраны в пучки ■ Культуры оливкового цвета ■ Быстро растет при 28 градусах

E. floccosum



J. Ito & A. Sano



Род Microsporum



Род *Trichophyton*





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ.