

## **Занятие 1.**

**Общая характеристика, классификация, морфология и ультраструктура грибов, вызывающих заболевания у человека. Классификация микозов. Патогенез микозов.**

**Основные защитные реакции макроорганизма при инфекциях, вызываемых грибами. Диагностические методы грибковых инфекций: микроскопический, микологический, цито-гистологический, биологический, иммунологический, молекулярно-генетический (ПЦР)**

# Цель занятия

- **Цель занятия:** Ознакомить студентов с целью и задачами медицинской микологии, общей характеристикой и классификацией грибов, вызывающих заболевания у человека. Разъяснить классификацию, эпидемиологию и патогенез микозов. Объяснить студентам механизм развития защитных иммунных реакций организма при инфекциях, вызванных грибами. Дать информацию о методах, используемых при диагностике микозов (микроскопический, микологический, цито-гистологический, биологический, иммунологический, молекулярно-генетический).

## **План занятия:**

Общие свойства и классификация патогенных грибов

Классификация микозов: поверхностные (кератомикозы), кожные (дерматомикозы), подкожные (субкутанные), системные и оппортунистические микозы.

Эпидемиология и патогенез микозов.

Особенности, механизмы и реакции антифунгального иммунитета

Микробиологическая диагностика микозов:

а) микроскопический (обработка раствором КОН, препарат раздавленной капли, метод Грама, метод Гимзы, окраска лактофенолом)

б) микологический (получение чистой культуры грибов на среде Сабуро и других микологических средах)

с) цито-гистологический (окраска биоптатов тканей методами Шиффа и Гомори)

д) биологический (заражение патологическим материалом морских свинок, белых мышей и пр. )

е) иммунологический:

- обнаружение антител в сыворотке крови больных при помощи РА, РЛА, РП, ИФА, РСК

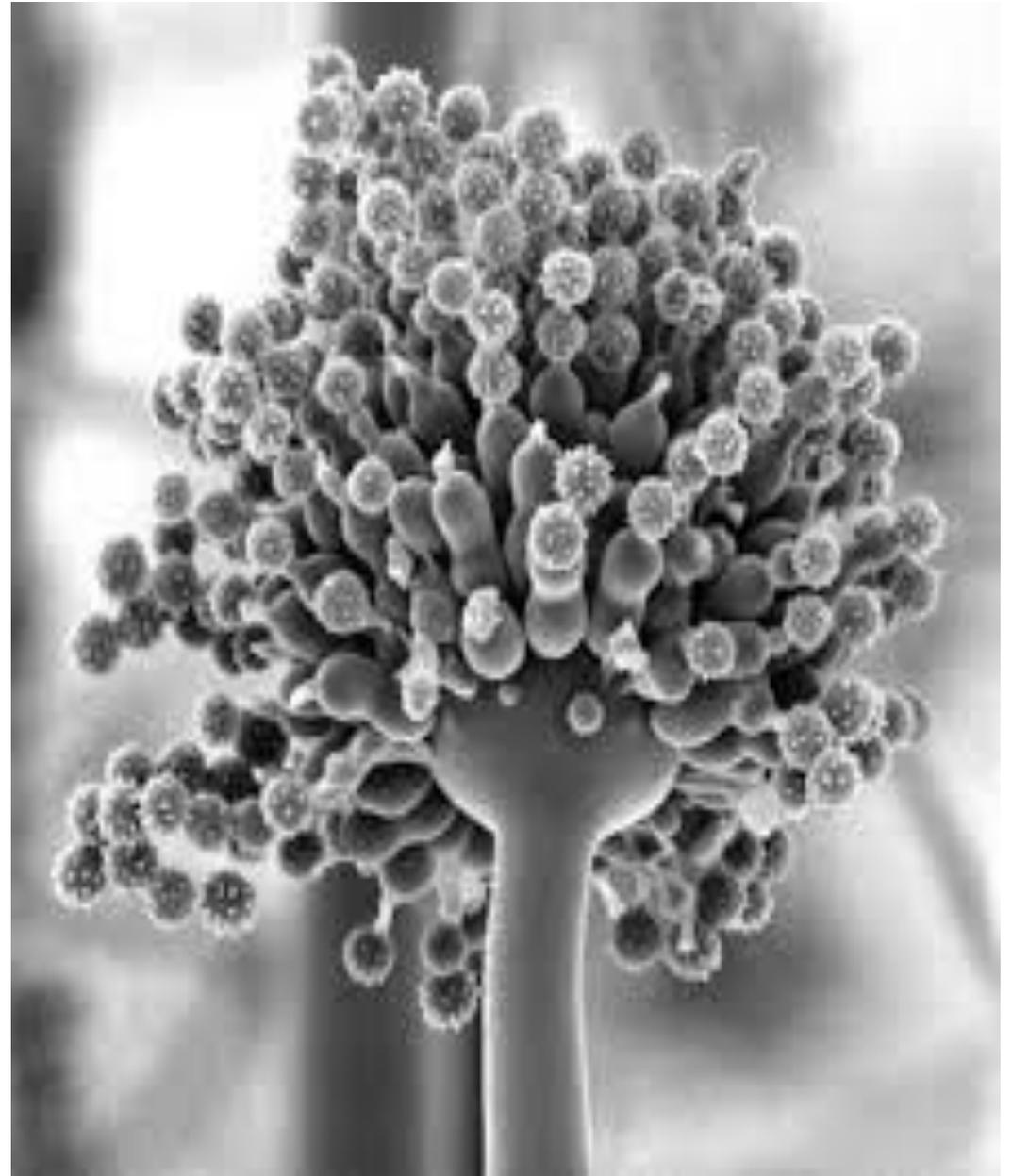
- проведение кожно-аллергических тестов с аллергенами грибов

ф) молекулярно-генетический (ПЦР) - определение ДНК грибов в патологическом материале, идентификация выделенных культур грибов

*Грибы ( Fungi, Mycetes, Mycota)-  
это одноклеточные или  
многоклеточные  
бесхлорофильные эукариоты  
растительного происхождения.*

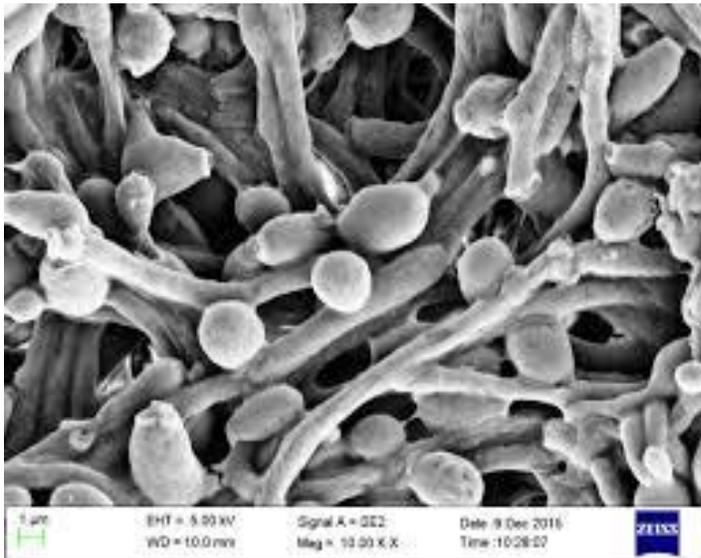
**Раздел микробиологии, который  
занимается изучением  
микроскопических грибов,  
называют микологией.**

**Среди грибов имеются  
патогенные и непатогенные  
представители**



# Морфология грибов

- ❖ Мицелиальные или гифальные грибы(2-100мкм)
- ❖ Дрожжевые и дрожжеподобные грибы(2-5мкм)



Грибы рода *Candida*  
(дрожжеподобные)



*Mucor* (мицелиальный)

## *Мицелиальные или гифальные грибы.*

*Они представлены в виде длинных тонких нитей(гифов) толщиной 2-50 мкм .*

*Ветвящиеся гифы образуют мицелий.*

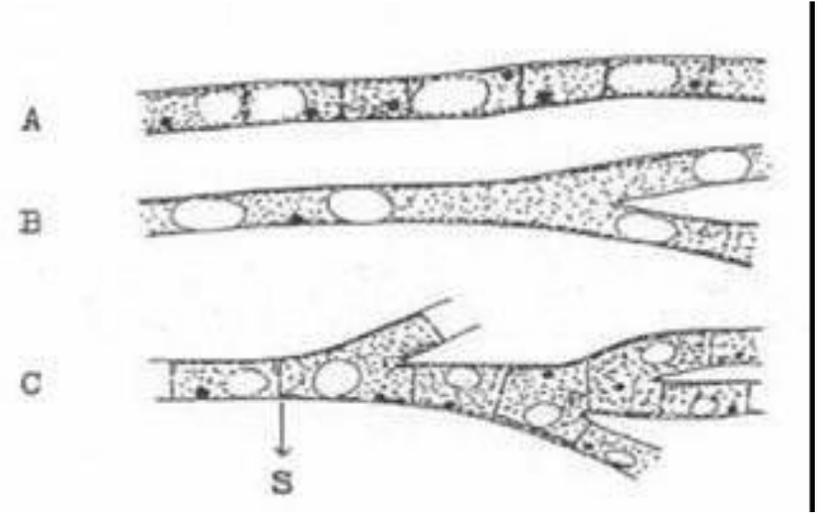
*Мицелии бывают с перегородкой и без перегородки.*

*Гифы низших грибов не имеют перегородок.*

*Гифы высших грибов разделены перегородками, или септами.*

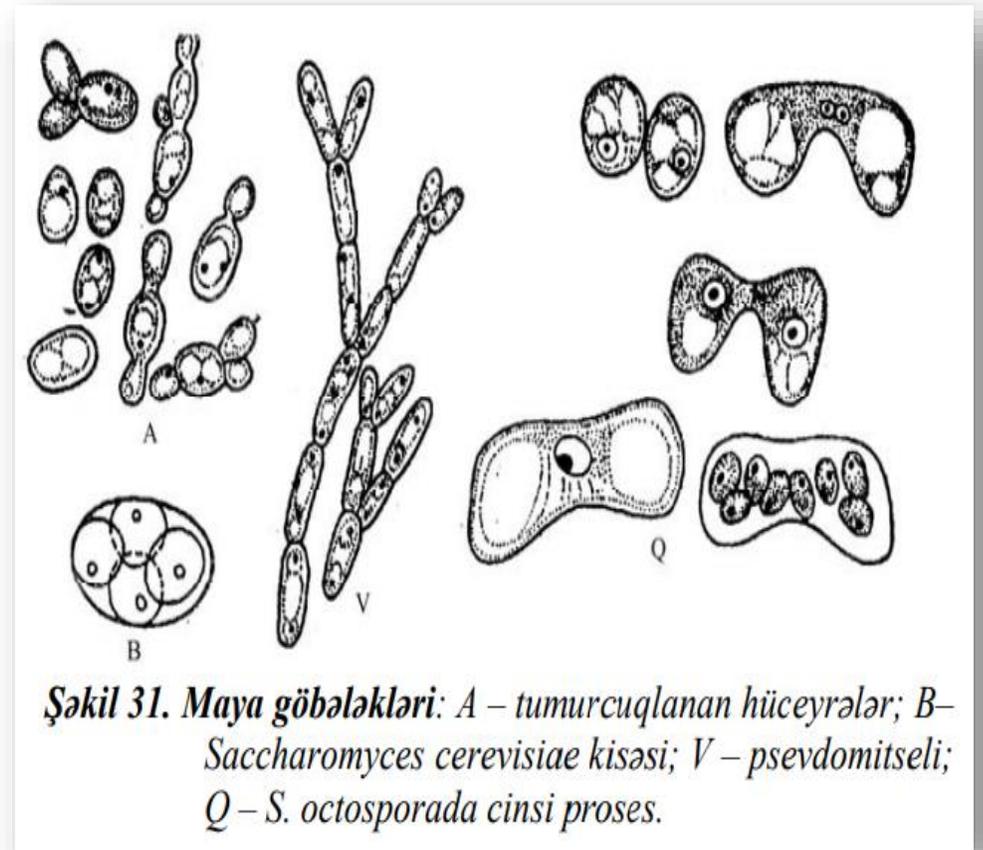
*Гифы, врастающие в питательный субстрат, называются вегетативными гифами.*

*Гифы, растущие над поверхностью субстрата , называются воздушными или репродуктивными гифами .*



# Дрожжевые грибы (Saccharomycetes)

- Дрожжевые грибы(дрожжи) представляют собой крупные одноклеточные клетки шаровидной , овальной и палочковидной формы диаметром 3-15 мкм . У них выделяют половой и бесполой типы размножения.
- Бесполое размножение дрожжевых грибов происходит почкованием.
- Дрожжевые грибы также размножаются с помощью аскоспор. У дрожжей внутри клеток в сумках (асках) образуются аскоспоры в количестве 2,4,8 и т.д.
- Дрожжевые грибы широко используют в хлебопечении, производстве



Şəkil 31. Maya göbələkləri: A – tumurcuqlanan hüceyrələr; B–  
*Saccharomyces cerevisiae* kisəsi; V – psevdomitseli;  
Q – *S. octosporada* cinsi proses.

# Дрожжеподобные грибы

- Дрожжи и дрожжеподобные грибы морфологически сходны между собой.
- Это одноклеточные грибы шаровидной или овальной формы, которые размножаются почкованием.
- Иногда почки не отделяясь от материнской клетки могут образовывать псевдомицелий или ложный мицелий, состоящий из цепочек удлиненных клеток. Например, грибы рода *Candida*.



*Грибы рода Candida*

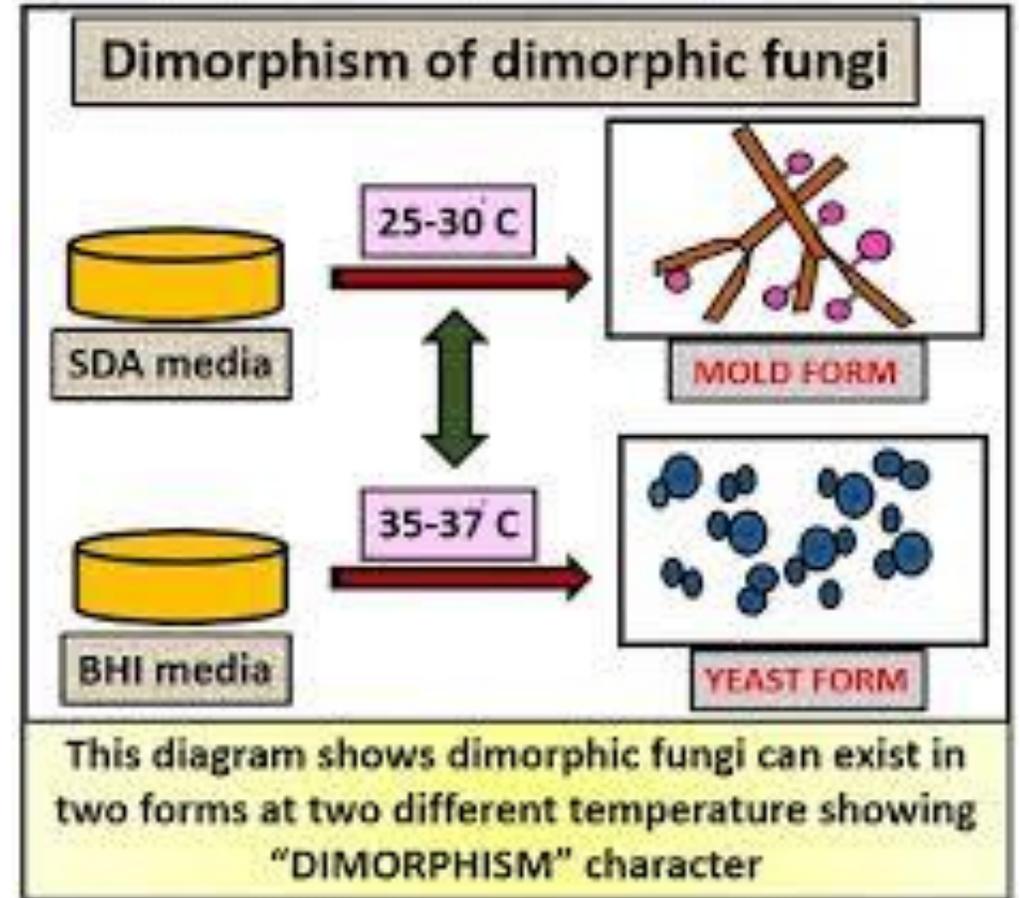
# Диморфизм грибов

**Диморфизм**-морфологический

полиморфизм

В зависимости от условий обитания в инфицированном организме растут в виде дрожжеподобных клеток , а на питательных средах образуют гифы и мицелий.

Диморфизм характерен для многих возбудителей подкожных и системных МИКОЗОВ.



# Особенности размножения грибов

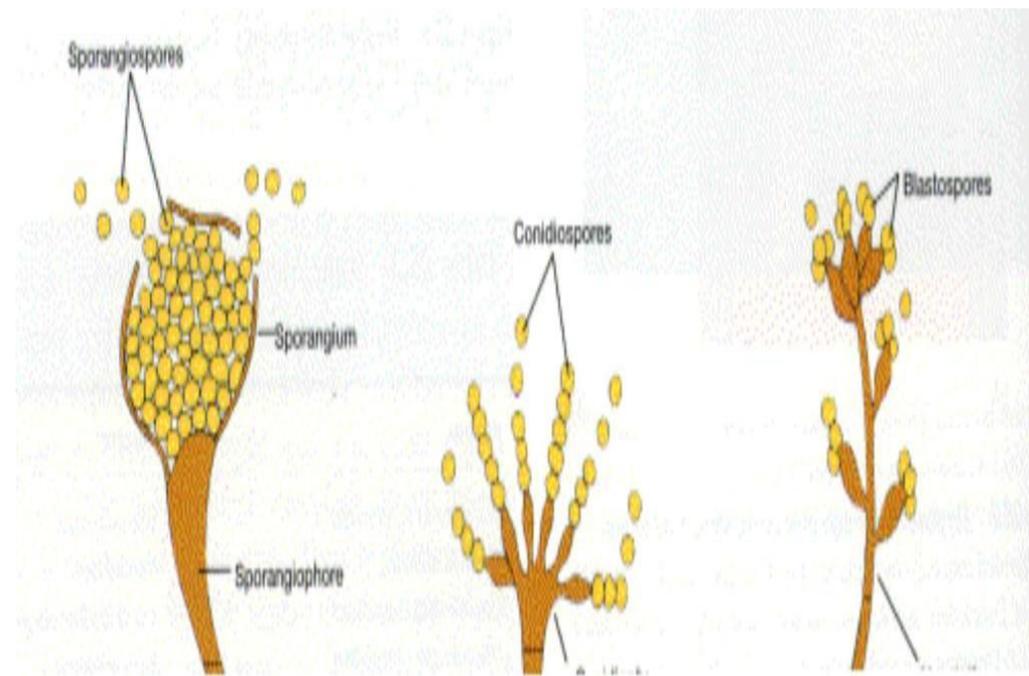
- ❖ Половое размножение грибов происходит с образованием половых гамет, половых спор (зигоспоры, аскоспоры, базидиоспоры).
- ❖ Бесполое размножение происходит почкованием, фрагментацией гиф и бесполоыми спорами (артроконидии, бластоконидии, хламидоконидии).
- ❖ По характеру размножения грибы делятся на 2 группы:
  - ❖ **Совершенные (размножаются бесполом, так и половым путем)**
  - ❖ **Несовершенные (бесполое размножение)**

Половые споры	Представители
Базидиоспоры ( <i>Basidiomycetes</i> )	<b>Cryptococcus</b>
Аскоспоры ( <i>Ascomycetes</i> ) септированный гиф	<b>Histoplasma, Blastomyces, Piedraia hortae, Coccidioides, Candida, Saccharomyces cerevisiae</b>
Зигоспоры ( <i>Zygomycetes</i> ) несептированный гиф	<b>Mucor Rhizopus, Apsidia Pilobolus</b>
Ооспоры	<b>Не вызывают заболеваний у человека</b>

Бесполовые споры	Представители
Бластоспоры	<b>Candida albicans</b>
Артроспоры	<b>Dermatofitler, Trichosporon beigellii, Coccidioides immitis, Geotrichum candidum</b>
Хламидоспоры	<b>Candida albicans</b>
Спорангиоспоры	<b>Mucor, Rhizopus, Prototheca</b>
Конидиоспоры	

# Споры как основной орган размножения грибов

- Эндоспоры созревают внутри округлой структуры – спорангия.
- Такой тип спорообразования характерен для представителей грибов рода *Mucor*.
- Экзоспоры (конидии) формируются на кончиках плодоносящих гиф, так называемых конидиеносцах.

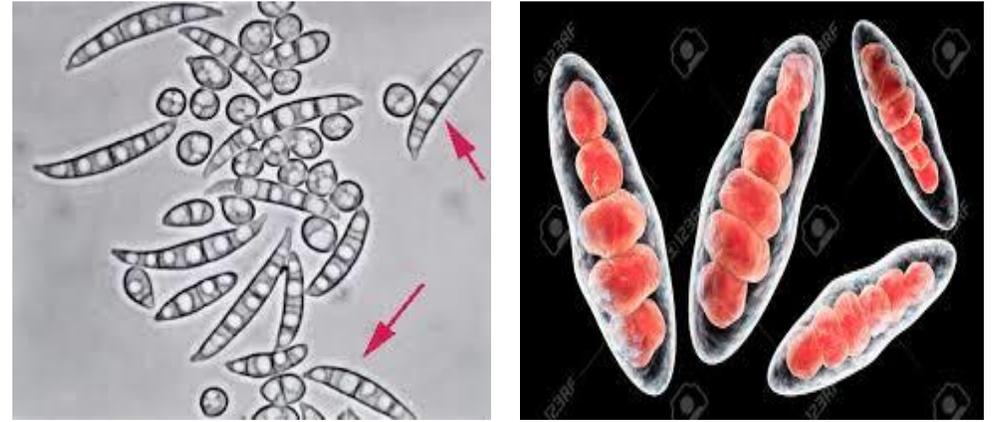


эндоспоры

экзоспоры

○ У представителей грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus* на концах плодоносящих гиф, конидиеносцах, имеются утолщения- стеригмы, на которых находятся цепочки конидий.

• Конидии могут быть одноклеточными (микроконидии) либо многоклеточными (макроконидии).



макроконидии

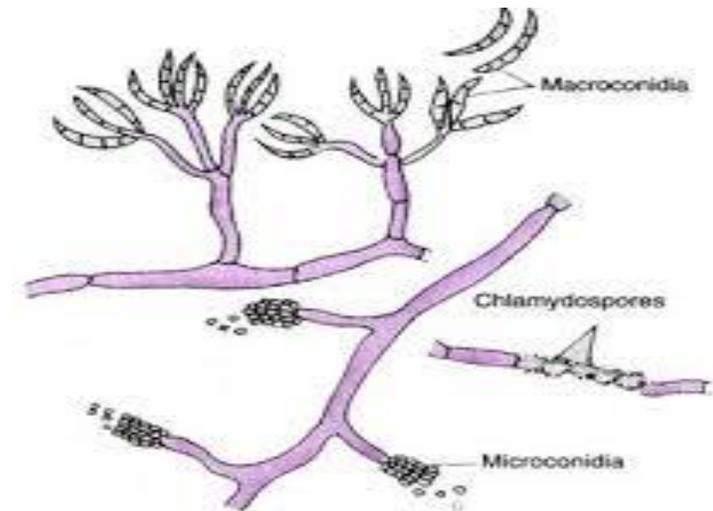
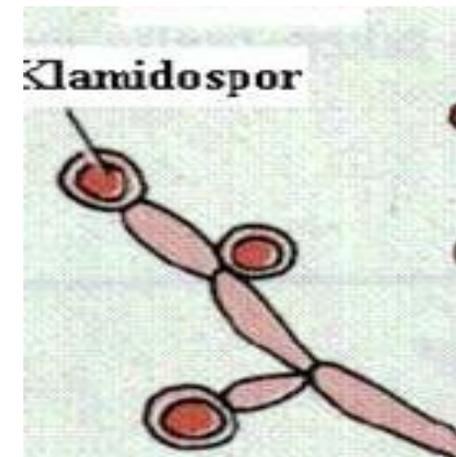
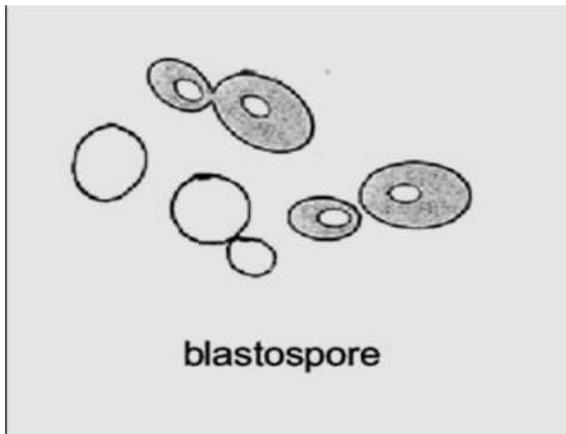


Fig. 16.7. *Aspergillus*. Macroconidia and clustered microconidia. Portion of a hypha bearing chlamydoconidia is also shown.

Микро- и макроконидии

# Таллоспоры

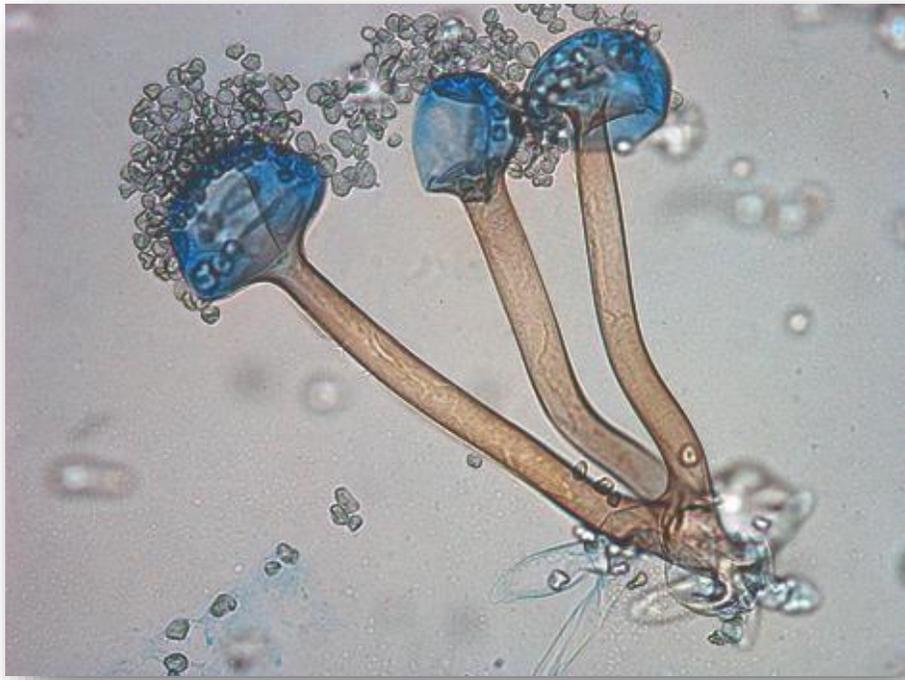
Бластоспоры	Артроспоры (arthros - сустав)	Хламидоспоры
Характерно для дрожжеподобных грибов. Бластоспоры формируются в результате отпочковывания от материнской клетки.	Образуются в результате фрагментации септированных гиф, распадающихся на отдельные клетки. Эти клетки, окруженные оболочкой, превращаются в споры (Geotrichium, Coccidioides c.).	Образуются внутри нитей мицелия или псевдомицелия в виде толстостенных клеток, превращающихся в споры (Candida cinsi).



# Классификация грибов

<b>тип Zygomycota</b>	<b>Rhizopus Absidia</b>	<b>Mucor cinsləri</b>
<b>тип Ascomycota</b>	<b>Blastomyces Histoplasma Candida cinsləri</b>	<b>Microsporium Trichophyton Coccidoides</b>
<b>тип Basidiomycota</b>	<b>Filobasidiella neoformans Cryptococcus neoformans</b>	<b>Paraqlı göbələklər</b>
<b>Deiteromycota(формальная группа)</b>	<b>Epidermophyton Paracoccidioides</b>	<b>Sporothrix Aspergillus</b>

- **Зигмицеты (тип Zygomycota)** – размножаются половым и бесполом путем. Половое размножение осуществляется путем образования зигоспор (zygos-birləşmə), бесполое размножение происходит с помощью спорангиоспор. Вегетативные гифы лишены перегородок. Патогенными для человека являются представители родов **Rhizopus, Absidia, Mucor** и др.



*Rhizopus*

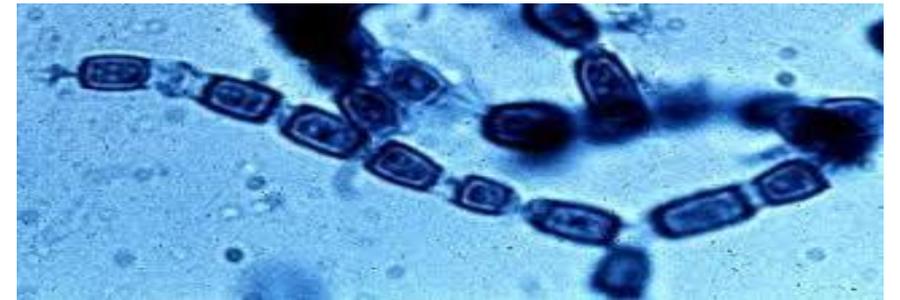


*Absidia*

*Аскомицеты (тип Ascomycota) включает большое количество патогенных грибов, имеющих медицинское значение. Половое размножение осуществляется с помощью аскоспор (споры развиваются в особых сумках-асках (ask-сумка)), бесполое размножение осуществляется конидиями. Вегетативные гифы септированы. К аскомицетам относятся отдельные представители родов Aspergillus и Penicillium, которые размножаются только бесполым путем. Патогенными для человека являются 85% представителей грибов *типа Ascomycota*: *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Candida spp*, *Trichophyton*, *Arthroderma*, *Saccharomyces* и др.*

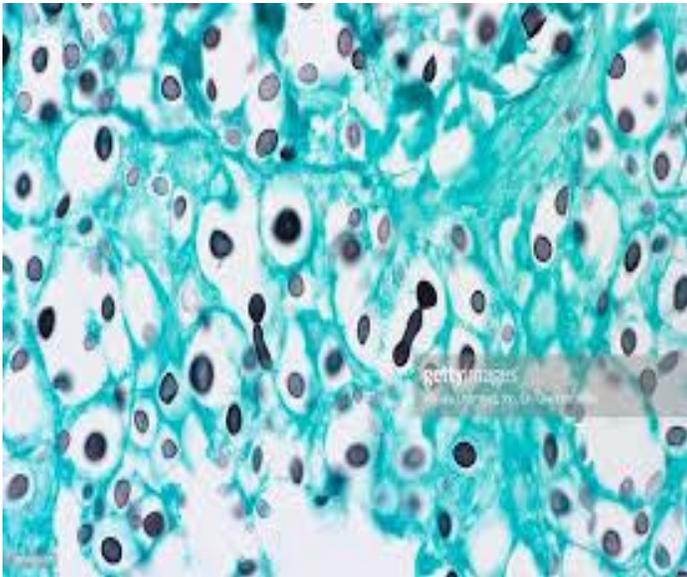


*Blastomyces*

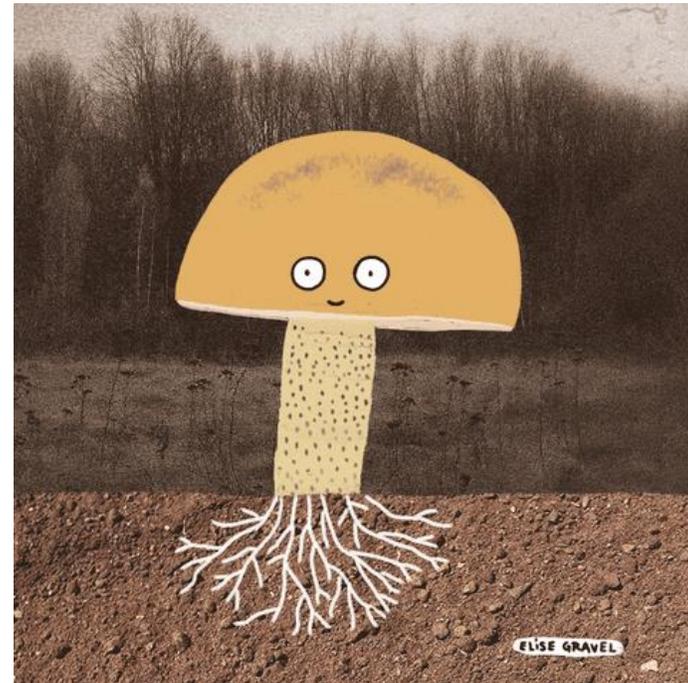


*Coccidioides*

- **Базидиомицеты (тип Basidiomycota)** – половое размножение осуществляется путем образования базидиоспор (*basidi-эsas*) . Мицелий представлен многочисленными перегородками.
- Патогенными для человека являются *Filobasidiella neoformans*, *Cryptococcus neoformans* и др.



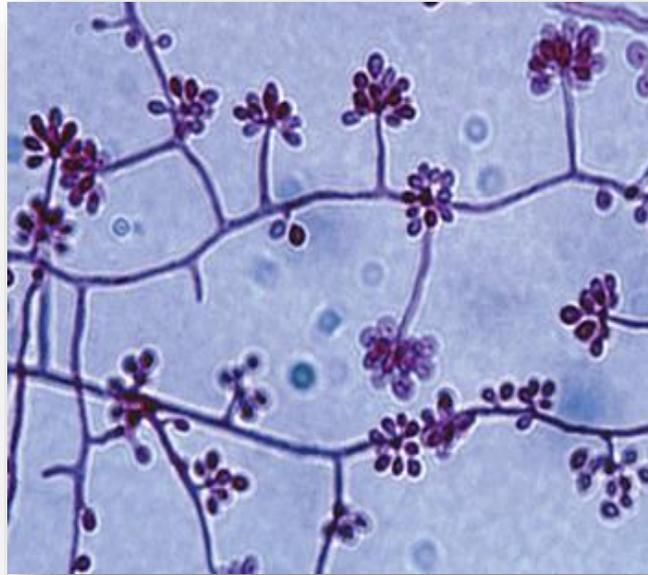
*Cryptococcus neoformans*



- Дейтеромицеты (несовершенные грибы – *Deiteromycota, Fungi imperfecti*) – это условный ,формальный таксон грибов.
- Патогенными для человека являются представители родов *Coccidioides* , *Sporothrix, Aspergillus, Epidermophyton, Paracoccidioides, Phialophora* и др.



*Phialophora*



*Sporothrix*



*Epidermophyton*

# Классификация микозов

В зависимости от свойств этиологического агента, локализации, формы и характера патологического процесса микозы подразделяют на:

- **Поверхностные микозы или кератомикозы** – поражения рогового слоя эпидермиса и поверхности волосяного стержня;
- **Дерматомикозы или эпидермомикозы** – поражения эпидермиса, кожи и волос;
- **Подкожные или субкутанные микозы** – внедряясь в местах микротравмы кожи возбудители вовлекают в процесс глубокие слои дермы, подкожные ткани, мышцы и фасции;
- **Системные или глубокие микозы** – поражаются внутренние органы и ткани;
- **Оппортунистические микозы** – вызывают условно-патогенные грибы;
- *К патологическим процессам, вызываемыми грибами, также относятся микогенная аллергия и микотоксикозы:*
- **Микогенная аллергии** – вызываются грибами или их аллергенами ;
- **Микотоксикозы** – пищевые отравления, вызываемые продуктами жизнедеятельности (микотоксинами) микроскопических грибов.

# Патогенез микозов

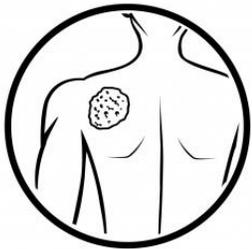
- Микозы инфекционные заболевания, вызываемые паразитическими грибами.
- Патогенные грибы широко распространены в окружающей среде (они присутствуют на растениях, одежде, предметах домашнего обихода, в почве).
- Прямой путь передачи инфекции имеет место при контакте с больным человеком, не прямой — при соприкосновении с различными вещами и предметами.
- В редких случаях источником заражения может стать уличное или домашнее животное, чаще всего кошка, иногда грызуны
- Споры грибов способны попасть на кожу и в подкожную клетчатку разными способами – через слизистую оболочку глаз или рта, верхних дыхательных путей, через различные микротравмы, раны, трещины, опрелости, язвочки.

По экспертным оценкам 15–30% всего населения земного шара страдают от грибковых заболеваний.

# Патогенез микозов

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ ГРИБКОВОЙ ИНФЕКЦИИ

(на поверхности тела)



Зоны с гладкой кожей



Кожа головы, волосы



Паховая область



Ногти



Стопы

Одним из факторов, провоцирующих развитие микоза, является иммунодефицит – снижение защитных сил организма. Микозы способны поражать различные участки кожи (стоп, ног, кистей, рук, головы, туловища) и ее придатки (волосы, ногти), наружные половые органы, слизистые оболочки, легкие, пищевод. Длительность инкубационного периода зависит от вида возбудителя, его вирулентности и локализации процесса. Заболевание может приобретать хроническое течение с периодами обострения.

# Причины, способствующие развитию микозов

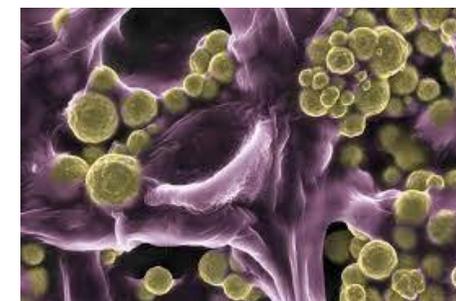
- иммунодефицит, например, вызванный ВИЧ, связанный с беременностью или пожилым возрастом пациента;
- бесконтрольный прием антибиотиков, кортикостероидов, иммунодепрессантов и цитостатиков;
- нарушения кровоснабжения верхних и нижних конечностей, например, варикоз, эндартериит;
- хронические заболевания обмена веществ: сахарный диабет, ожирение, гипотиреоз.
- лимфома, лейкемия, другие гематоонкологические заболевания;
- гипергидроз (повышенная потливость);
- ношение тесной резиновой или синтетической обуви/одежды;
- использование чужой обуви, туалетных принадлежностей, полотенец;
- выполнение маникюра/педикюра нестерильными инструментами.

## СИМПТОМЫ АСТМЫ



# Особенности противогрибкового иммунитета

- Грибы имеют многослойную, толстую клеточную стенку, состоящую из нескольких типов полисахаридов (маннано, глюканов, целлюлозы, хитина), а также белка и липидов. Антигены грибов содержатся в их спорах (конидии), клеточных стенках (полисахариды, гликопептиды) и цитоплазме. Выявлено более 80 различных антигенов.
- Эти структуры распознают клеточные рецепторы (TLR2, TLR4, дектин-1 и др.) врожденного иммунитета, в котором большое значение имеют также барьерные функции кожи, слизистых оболочек и их секреты (секреты сальных и потовых желез, антимикробные пептиды), нормальная микрофлора, вступающая в конкурентные взаимоотношения с грибами, и др.
- Споры непатогенных и условно-патогенных грибов имеются в воздухе в течение года, но особенно в весенне-осенний период, в большом количестве и являются причиной респираторной аллергии (риниты, бронхиальная астма). При этом выявляются IgE-антитела против аллергенов спор грибов.



# Особенности противогрибкового иммунитета

- Естественный врожденный иммунитет обеспечивается нейтрофилами и макрофагами за счет фагоцитоза и действия дефензинов и кислородзависимых механизмов цитолиза. Грибы могут запускать альтернативный путь активации комплемента. В тканях происходит фагоцитоз, развивается эпителиоидная гранулематозная реакция, иногда тромбоз кровеносных сосудов.
- Предрасположенность к грибковым инфекциям обусловлена недостаточностью факторов иммунитета, клеточные факторы которого (Th1) могут угнетаться преимущественной активацией антигенами Th2 и их цитокинами (ИЛ-4, ИЛ-10).
- Некоторые инфекции – кандидозы кожи и слизистых оболочек, развиваются только на фоне иммунодефицита.
- Механизмы, ответственные за защиту от грибковых инфекций, связаны с Т-клеточным иммунитетом. Антитела (IgM, IgG) при микозах имеют меньшее значение, чем клеточный иммунитет. Защитный эффект антител может проявляться в опсонизации клеток грибов, хотя некоторые из них могут быть чувствительны и к лизису комплементом. Антитела класса IgG к некоторым условно-патогенным грибам (*Candida albicans*), часто встречаются у здоровых лиц, однако увеличение титра IgM-антител указывает на инфекцию.
- IgE находят при аллергических реакциях, которые часто сопровождают грибковые инфекции. Также они могут возникать на аллергены непатогенных грибов. Выявление антител и антигенов (маннаны) в крови больных применяют для диагностики грибковых инфекций. У больных положительны немедленные и замедленные кожные пробы на аллергены грибов.

# Особенности противогрибкового иммунитета

Микозы, особенно оппортунистические, часто манифестируют после длительной антибактериальной терапии и при иммунодефицитах. Они сопровождаются ГЗТ.

Возможно развитие аллергических заболеваний после респираторной сенсибилизации фрагментами условно-патогенных грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* и др. У больных диагностируют ГЗТ и ГНТ с помощью кожных проб на аллергены.



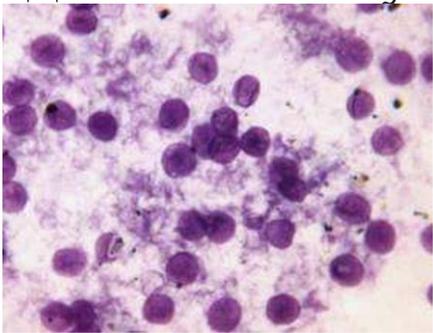
# Диагностические методы грибковых инфекций

В настоящее время список потенциальных возбудителей микозов включает уже более 500 видов грибов. Микроскопические грибы значительно отличаются от других возбудителей, что влечет за собой особые подходы к диагностике и лечению грибковых инфекций.

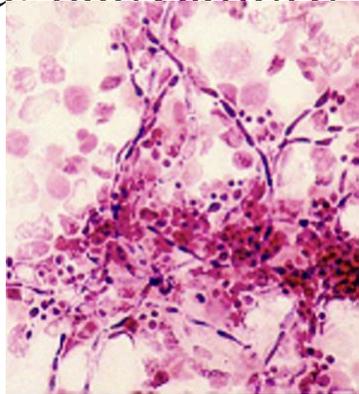
Для диагностики микозов используют данные клинической картины, микроскопического и культурального исследования (посева), гистологические, биологические, иммунологические и молекулярно-генетические методы.

# Микроскопический метод

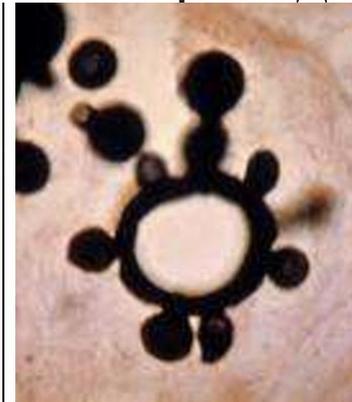
- Грибы микроскопируют как в нативном, так и в окрашенном состоянии. Препараты окрашивают по Граму, Цилю–Нильсену, Романовскому–Гимзе, лактофенолом, обрабатывают гидроокисью калия.
- Материал: мокрота, бронхоальвеолярное отделяемое, спинномозговая жидкость, биопсийный материал, кровь, моча, секрет простаты, пунктат из очагов поражения, волосы, кожные чешуйки и соскобы с пораженного ногтя, отделяемое пазух носа, наружного слухового прохода



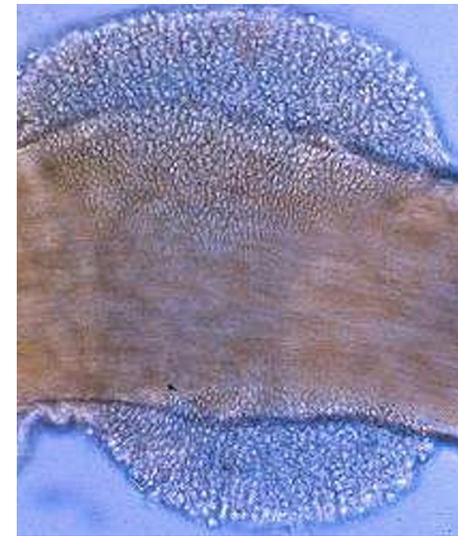
аски *Pneumocystis carinii* в пораженной ткани



псевдомицелий *Candida albicans* в пораженной ткани



дрожжевая форма *Paracoccidioides brasiliensis* (характерная структура «корабельного штурвала»)



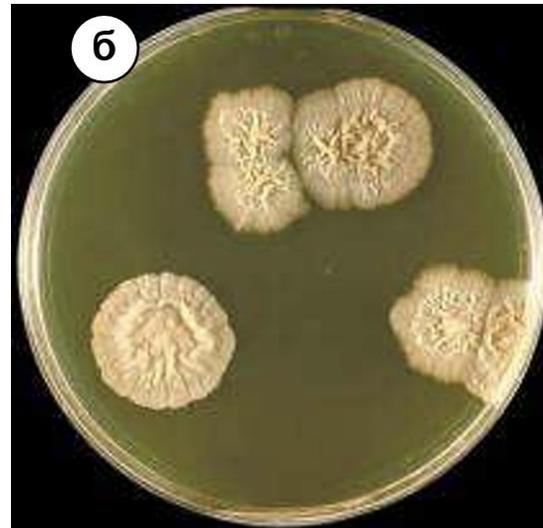
узелки волосах, пораженных «белой пьедрой»

# Микологический метод

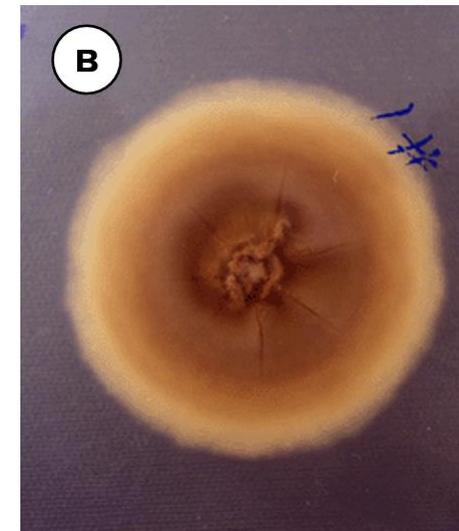
Микологический метод основной при диагностике микозов. Культуральная диагностика микозов основана на выделении возбудителя из исследуемого материала. Сроки культивирования различны для разных видов грибов (от 2-4 дней до 4 недель). Материал от больного (мокрота, отделяемое из носа, биопсийный материал, мокрота, отделяемое бронхов, моча) культивируют на специальных питательных средах (Сабуро, Чапека, сусло-агаре ) выделяют чистую культуру гриба и идентифицируют ее, с последующим определением чувствительности к противогрибковым препаратам.



культура *Microsporum gypseum*



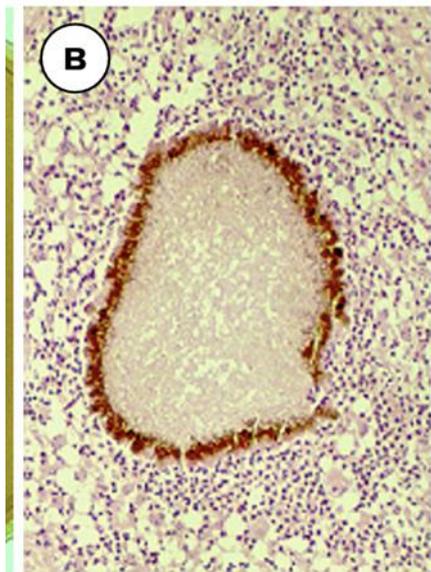
дрожжевая культура  
*Sporothrix schenckii*



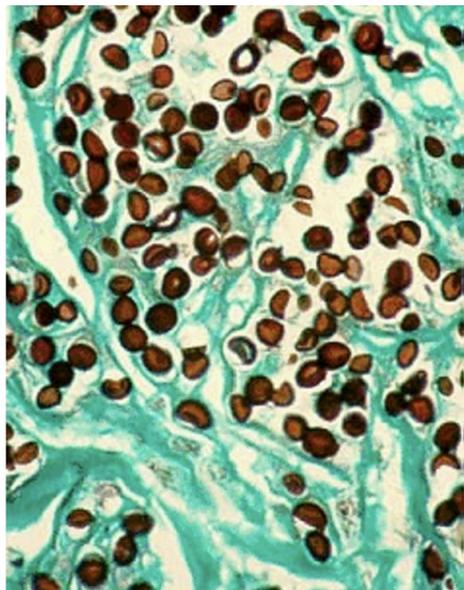
культура *Blastomyces dermatitidis*

# Гистологические исследования

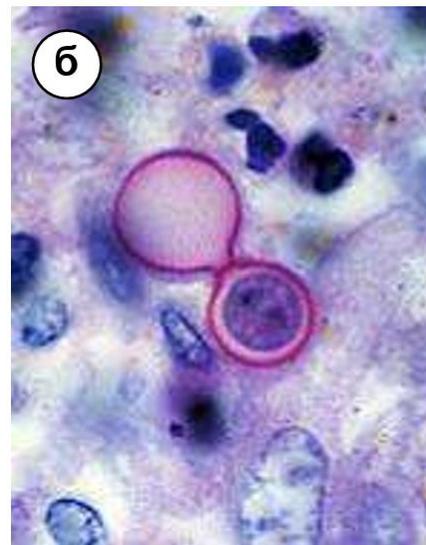
- Довольно часто при микозах (паракокцидиоидоз, кандидоз, лобомикоз) используют *гистологический метод*, заключающийся в обнаружении элементов гриба (гифы, споры и т.п.) в органах и тканях, пораженных грибами. Гистологические тонкие или ультратонкие срезы тканей, окрашивают специальными гистологическими и гистохимическими методами и исследуют с применением световой микроскопии. Препараты окрашивают гематоксилином и эозином, по Граму– Вейгерту, по Гомори–Грокотту, акридиновым оранжевым



гранула *Madurella mycetomii* в пораженной ткани



почкующиеся клетки *Loboa loboii* в пораженной ткани



дрожжевая форма *Blastomyces dermatitidis* в пораженной ткани

# Биологическая проба

- Интратестикулярное заражение белых мышей или хомяков мицелиальной (культуральной) взвесью (кокцидиоидоз)
- Внутривенное или интрацеребральное заражение лабораторных животных (криптококкоз)
- Подкожное или внутрибрюшинное заражение белых мышей мицелиальной (культуральной) взвесью для трансформации гриба в дрожжевую фазу (гистоплазмоз)
- Интратестикулярное введение морским свинкам взвеси выращенного мицелия и превращение в дрожжевую форму (споротрихоз)
- Заражение лабораторных животных (морские свинки, мыши и др.) в кожу, волосы и когти (дерматомикозы)



# Иммунологические исследования

- **Серологические тесты** позволяют определять антитела в РА, РСК, РИФ, РП РНГА, РИД, ИФА (при дерматомикозах, субкутанных микозах, бластомикозе, кокцидиоидозе, криптококкозе, кандидозе, аспергиллезе).
- **Кожно-аллергические пробы:**
  - с гистоплазмином, полученным из гифов гриба
  - с бластомицином — экстрактом из клеток гриба
  - с кокцидиоидным аллергеном, полученным из мицелиальной фазы, и с сферулином, полученным из тканевой фазы
  - с кандиды-аллергеном
  - при аспергиллезе
  - при дерматомикозах



# Молекулярно-генетический метод

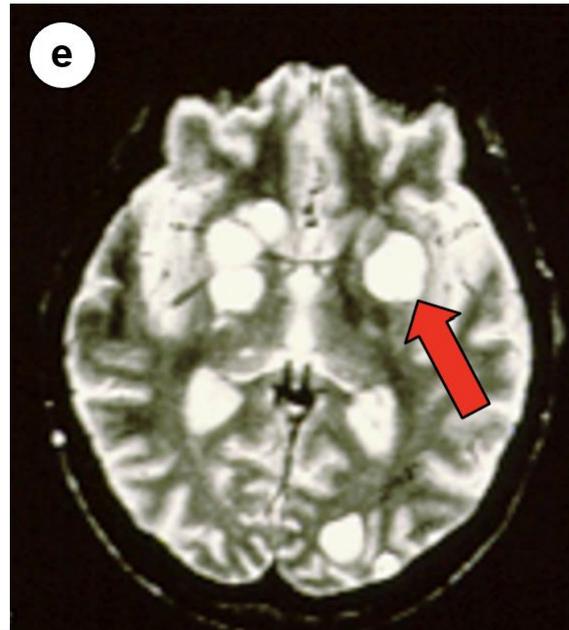
- Гибридизация ДНК ( криптококкоз)
- Полимеразная цепная реакция (фузариоз, мукоромикозы)
- ПЦР в режиме реального времени для выявления и типирования возбудителей рода *Candida*, *Malassezia*, *Saccharomyces*

# Инструментальные исследования

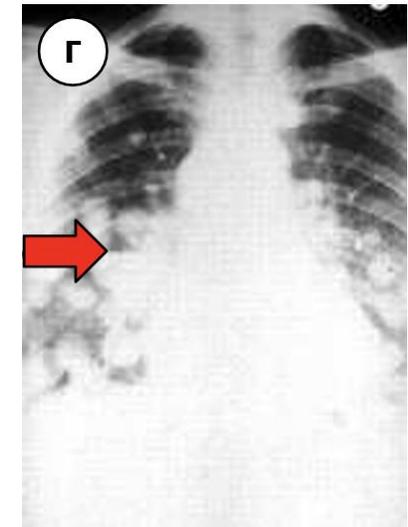
- компьютерная томография головного мозга; рентгенография легких (криптококкоз, пневмоцистная пневмония, гистоплазмоз)
- фиброгастроскопия, рентгеноскопия пищевода ( кандидоз)



рентгенограмма легкого при пневмоцистной пневмонии.



компьютерная томограмма головного мозга при криптококкозе



рентгенограмма очагов поражения в легких при гистоплазмозе