

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

Тема: Микроскопическое исследование при диагностике микозов.
по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика

Выполнил: Марченко Елизавета Алексеевна ()

Руководитель: Букатова Елена Николаевна ()

Рецензент: Климова Елена Анатольевна ()

Работа допущена к защите ЦМК «Лабораторных и санитарно-гигиенических
дисциплин»

Протокол № 9 от «28» мая 2018 г

Красноярск 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1.....	5
1.1 Понятие и классификация микозов.....	5
1.2 Эпидемиология, этиология, патогенез и клиническая картина микозов	16
1.3 Профилактика микозов.....	23
ГЛАВА 2.....	25
2.1 Нормативные документы при работе с биологическим материалом	25
2.2 Методы диагностики микозов	30
ГЛАВА 3.....	32
3.1 Практическая часть.....	32
3.2 Статистика грибковых заболеваний.....	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	40
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	41

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные заболевания человека, вызываемые грибами, носят общее название микозы. Этиология, патогенез и клиническая картина микозов чрезвычайно разнообразны, однако практически во всех случаях этих заболеваний в патологический процесс вовлекается кожа.

Грибковые заболевания (микозы) кожи характеризуются поражением кожи и ее придатков (волос, ногтей), реже микоз локализуется на слизистых оболочках полости рта и половых органов (изолированно или наряду с кожными изменениями). Казуистическими в нашей стране являются случаи глубоких микозов, вызываемых эндемичными для некоторых регионов мира грибами, при которых поражаются подкожная клетчатка и другие глубокие ткани. В последние годы возросло количество системных диссеминированных микозов, при которых так же, как правило, наблюдается поражение кожи. В этих случаях возбудители чаще всего попадают в кожу вследствие гематогенного распространения из внутренних органов. Кожные высыпания в этих случаях могут быть первым симптомом системного микоза, и их ранняя правильная диагностика позволяет своевременно назначить лечение и во многих случаях спасти жизнь больного.

Подавляющее большинство патогенных и условно-патогенных грибов вызывают заболевание только при наличии факторов, снижающих нормальную физиологическую защитную функцию кожи и нарушающих резистентность организма против инфекции (особенно при иммунодефицитных состояниях). Количество этих причин в последнее время резко возросло (неблагоприятные экологические факторы; увеличение количества больных со злокачественными болезнями, особенно иммунной системы; ВИЧ-инфекция; широкое использование медицинских препаратов, обладающих иммуносупрессивным свойством: цитостатиков, гормонов, антибиотиков и т. д.). Все это, в свою очередь, приводит не

только к увеличению числа больных с обычными микозами кожи , но и к появлению необычно протекающих, атипичных оппортунистических грибковых инфекций. С другой стороны, в последние годы разработаны и внедрены в клиническую практику высокоэффективные противогрибковые препараты, позволяющие при правильной диагностике, с учетом патогенеза болезни, успешно излечивать больных с различными, даже тяжелыми формами микозов.

Актуальность изучения микозов: на сегодняшний день ситуация с грибковыми заболеваниями кожи в России не совсем благополучна - грибковые заболевания занимают примерно третью часть в структуре заболеваемости кожи.

Объект исследования: больные.

Предмет исследования: биоматериал, взятый методом соскоба (кожа, ногти, волосы).

Цель исследования: изучение микроскопических исследований при диагностике микозов.

Для реализации цели были определены следующие задачи исследования:

1. Изучить классификацию, эпидемиологию, патогенез, клиническую картину и профилактику микозов.
2. Изучить методы диагностики микозов.
3. Оценить значимость микроскопического исследования при диагностике микозов.
4. Проанализировать статистические данные.

ГЛАВА 1

1.1 Понятие и классификация микозов

Микозы — группа инфекционных заболеваний, вызванных патогенными (болезнетворными) грибами.

Микозы подразделяют на несколько видов:

1. **Кератомикозы:** отрубевидный лишай, узловатая трихоспория — или пьедра. При этих заболеваниях грибы размножаются в роговом слое эпидермиса или на поверхности кутикулы волос
2. **Дерматомикозы:** заболевания вызывают нитчатые грибы, способные поражать эпидермис, дерму, ногти и волосы
3. **Кандидоз:** заболевания поверхностных слизистых оболочек, кожи, ногтевых валиков, ногтей; генерализованный (гранулематозный); висцеральный.
4. **Глубокие микозы.**
5. **Псевдомикозы:** К группе псевдомикозов относятся поверхностные формы (эритразма, подмышечный трихомикоз) и глубокие формы (актиномикоз, микромоноспоров, нокардиоз, мицетомы). В культуре и тканях человека они, однако, имеют определенное сходство с грибами, так как образуют тонкий ветвящийся мицелий.

КЕРАТОМИКОЗЫ

Кератомикозы характеризуются незначительной степенью заразности, отсутствием каких-либо проявлений воспаления. Возбудитель данной болезни обычно находится внутри рогового слоя эпидермиса, в районе устьев фолликулов. Болезнь обычно проявляется у тех людей, у которых из-за определенных факторов понизилась защитная функция организма. Снижение порога сопротивляемости могли вызвать такие патологии:

- анемия;
- хроническое раздражение конъюнктивы;
- цирроз печени;
- сахарный диабет;
- лейкомия;
- лучевая терапия.

Иногда кератомикоз может возникать при наличии герпетического кератита, различных болезней роговицы. Для появления грибка важна индивидуальная предрасположенность дермы, сбои в обычном шелушении дермы, особенный химический состав выделяемого железами пота.

К кератомикозам относят:

- подмышечный трихомикоз;
- отрубевидный, разноцветный лишай;
- узловатая трихоспория;
- подмышечная эритразма.

Причины возникновения: проявление данной болезни вызывает грибок, который обычно прячется внутри рогового слоя эпителия. Этот грибок подобен ниткам мицелия (его ниточки толстые, короткие, немного изогнутые), а также круглым спорам, которые собраны в грозди, имеют двухконтурную оболочку. На коже человека грибок находится в сапрофитной форме. Чтобы он перешёл в патогенную форму, у человека должны ослабеть защитные механизмы.

Также переход гриба в патогенную форму отмечается при:

- повышенной потливости;
- угнетении клеточного иммунитета;
- работе в горячих цехах;
- наличии вегето-сосудистых расстройств;
- болезнях, с усиленным потоотделением (лимфогранулематоз, туберкулез легких).

Симптомы: при развитии поражения на эпителии заметны пятна с невоспалительным характером. Обычно они наделены розовым, желтовато-коричневым окрасом. Особенностью подобных образований является их способность быстро разрастаться, сливаться, менять окрас на бежевый, темно-бурый. Именно из-за смены окраса эту болезнь и называют разноцветным лишаем.

Диагностика кератомикоза: обычно специалист ставит диагноз, основываясь на имеющейся клинической картины. В некоторых случаях могут понадобиться дополнительные диагностические методы:

- йодная проба Бальцера. При окрашивании пораженного района дермы йодной настойкой (5%) отмечается усиленное окрашивание больной области (места разрыхления рогового слоя);
- лампа Вуда. Такая ртутно-кварцевая лампа поможет обнаружить скрытые очаги поражения. Для проведения процедуры в кабинете выключают свет. При просвечивании инфицированные части светятся специфическим светом (красновато-желтым, темно-коричневым);
- для подтверждения диагноза обычно назначают микроскопическую диагностику чешуек. Перед исследованием чешуйки обрабатывают раствором едкой щелочи (20 – 30%).

ДЕРМАТОМИКОЗЫ

Рассматриваемую болезнь провоцируют дерматофиты. Интерес к методам лечения болезни вырос из-за сильного распространения инфекции. Болезнь одинаково часто может поражать кожные покровы у мужчин, женщин.

Есть некоторые возрастные особенности. Они заключаются в том, что дерматофития у детей затрагивает в основном волосистую область головы. Что касается молодых людей, то у данной категории грибок локализуется между пальцев, в области паховых складок.

Если у человека снижен иммунитет, он скорее заразится грибом, кроме того, инфекция будет протекать тяжелее, могут образоваться гранулемы, абсцессы. Причины возникновения: Болезнь проявляется при проникновении грибов внутрь рогового слоя волос, дермы, ногтевых пластин. Источником инфекции выступает болеющий человек, домашние животные, почва. С учетом среды обитания специалисты выделили следующие виды дерматофитов:

- Антропофильные. Поражение грибами данной группы носит эпидемический характер. Представители данной группы распространяются посредством предметов обихода.
- Зоофильные. Грибок проникает к людям от домашних питомцев (при контакте, посредством предметов ухода за ними).
- Геофильные. Представители данной группы попадают на эпителий из почвы, в которой они находятся.

Симптомы: рассматриваемая нами болезнь имеет основные симптомы, индивидуальные для каждого вида болезни. К основным относят:

- Красные шелушащиеся образования (они характерны эпидермофитии).
- Множество очагов небольших размеров наблюдается при трихофитии. Дерма отёчная в пораженной области, на ней образуются мелкие чешуйки. Что касается волос, то они тускнеют, слабеют, у их основания образуется белый чехол.

Диагностика: чтобы правильно подобрать курс терапии специалисты должны провести исследования, направленные на определения возбудителя болезни. С этой целью лаборанты берут материал (ногти, чешуйки, волосы),

который затем обрабатывают посредством щелочного раствора. Данная процедура позволяет обнаружить грибок, ведь после обработки щелочью при микроскопировании будут видны лишь массы грибков.

Кроме основного диагностического метода также дополнительно используют:

Микроскопию:

- исследование изъятого с области поражения материала, после обработки гидроксида калия. Для диагностики берут дерму, ногти, волосы. Забор дермы выполняется посредством скальпеля, края предметного стекла. Изначально снимают верхний слой эпидермиса, затем кладут эти чешуйки на центральную часть предметного стекла, покрывают другим стеклом (покровным).
- Чтобы снять материал для проведения анализа с ногтевой пластины пользуются скальпелем. Специалисты выполняют забор материала с разных участков ногтевой пластины при разных формах болезни (с внутренней области ногтя берут материал при дистально-латеральном подногтевом онихомикозе. С наружной, если определена поверхностная форма онихомикоза. С внутренней части материал также берут при проксимальном подногтевом поражении).
- Для исследования берут обломанные волосы посредством пинцета, иглодержателя. Чтобы обработать изъятый материал берут гидроксид калия (5 – 20 %). Средство капают на кончик стекла, он под воздействием капиллярных сил протекает между стекол. При подогреве формируются пузырьки. После такого осветления, проводят исследование посредством микроскопа взятого материала. Мицелий грибов подобен скоплению тоненьких трубок. Внутри этих трубочек наблюдаются перегородки.

Посев: чтобы провести исследования потребуются чешуйки, снятые с инфицированной дермы, соскоб с ногтей, волосков. Выращивание грибов выполняется на среде Сабуро, которая состоит из глюкозы, пептона, агар-агара

КАНДИДОЗ

Кандидозом или молочницей называют заболевание, при котором слизистые оболочки и кожные покровы поражаются дрожжеподобным грибом рода *Candida*. Эти микроорганизмы относят к условно-патогенной микрофлоре, то есть в небольшом количестве постоянно населяют кожу, слизистые оболочки ротовой полости, половых органов здоровых людей, а их рост сдерживается иммунитетом организма. При его ослаблении начинается бурное размножение грибка, что приводит к возникновению заболевания. Наиболее часто встречаемые формы кандидоза – вагинальная и оральная. Вагинальный кандидоз – женская форма, причем заболевание может возникнуть практически в любом возрасте. Оральный кандидоз, как правило, встречается у грудных детей, чаще всего – у новорожденных. Кандидоз встречается и у мужчин, чаще всего, после незащищенного полового акта.

Причины кандидоза: Спровоцировать интенсивное размножение грибка может множество факторов. Например, переохлаждение, болезнь, стресс, изменение гормонального фона (во время беременности или приеме гормональных препаратов). Кандидозом могут сопровождаться эндокринные заболевания (диабет, ожирение, нарушение функций щитовидной железы). Наконец, причинами кандидоза могут стать жаркий климат или ношение неудобного тесного или синтетического белья.

Симптомы кандидоза: проявления зависят от локализации очага заболевания.

- Кандидоз слизистой оболочки рта (оральный кандидоз, детская молочница) чаще всего встречается у детей, как правило, они заражаются от матери через родовые пути. При этом слизистая щек, зева, язык и дёсны становятся красными, появляется отечность, затем на слизистой оболочке полости рта возникают очаги белого творожистого налета. Со временем, их количество увеличивается, образуя пленки.
- Под налетом обнаруживаются эрозии. При хроническом течении кандидоза поражаются слизистые оболочки носа, губ, глотки и пищевода.

- Кандидоз влагалища (вагинальный кандидоз) чаще всего встречается у женщин репродуктивного возраста, но может возникать у девочек и даже у мужчин. При этом поражаются у женщин влагалище и наружные половые органы, у мужчин – головка полового члена и крайняя плоть. У беременных женщин кандидоз встречается в 2-3 раза чаще, из-за повышенного уровня половых гормонов и ослабленного иммунитета.

Симптомы кандидоза у женщин: покраснение и отек слизистых оболочек половых органов; жжение и зуд, усиливающиеся к вечеру, при переохлаждении, при несвоевременной гигиене, до или после менструации обильные белые выделения творожистой консистенции, обладающие кислым запахом; боль и жжение при мочеиспускании; дискомфорт при половом контакте.

Симптомы кандидоза у мужчин: покраснение, зуд и болезненность в области головки полового члена; отек крайней плоти, головки члена; белый творожистый налет на головке полового члена; боль при мочеиспускании боль при половом акте.

- Кандидоз кишечника (дисбактериоз) часто сопровождает вагинальный кандидоз или развивается изолированно. Обычно кандидоз кишечника появляется после приема антибиотиков или перенесенных кишечных инфекций. Грибы рода *Candida* поселяются в тонком кишечнике.

Диагностика: вопреки распространенному мнению, главным методом диагностики кандидоза до сих пор является микроскопия мазка с пораженных участков слизистой. ПЦР (ДНК - диагностика), популярная в последнее время, как правило, плохо подходит для диагностики кандидоза.

Лабораторная диагностика заболевания включает в себя:

- микроскопию мазка выделений;
- культуральную диагностику (посев);
- иммуно-ферментный анализ (ИФА);
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

ГЛУБОКИЕ МИКОЗЫ

Системное поражение организма грибами может проявляться патологией кожи, органов пищеварения, дыхания, лихорадкой, снижением веса, психическими расстройствами и многими другими признаками. Большинство системных микозов вызвано грибами, которые в норме живут во внешней среде и на коже человека, не приводя к патологии. Однако при снижении защитных сил организма возбудитель активизируется, проникает в кровоток и вызывает поражение внутренних органов.

Классификация глубоких микозов основана на виде возбудителя и включает следующие формы:

- бластомикоз;
- гистоплазмоз;
- споротрихоз;
- мукороз;
- аспергиллез;
- пенициллез;
- хромомикоз;
- риноспориоз;
- цефалоспориоз;
- кладоспориоз;
- келоидный микоз;
- мицетомы грибковой природы.

Причины возникновения: возбудители системных микозов часто живут в почве эндемичных участков. При контакте с пылью и землей они попадают в дыхательные пути человека. Сам больной с глубоким микозом непосредственной угрозы для окружающих не представляет. Заражение происходит опосредованно. В организме больного патогенные грибы размножаются и переходят в особую «тканевую» форму, безопасную при непосредственном попадании на кожу другого человека. Тканевая форма грибка выделяется с мокротой и испражнениями больного и попадает во внешнюю среду (в воду, почву, воздух). В окружающей среде такая форма

грибка трансформируется в мицелиальную. При проникновении ее с пищей, водой или воздухом она способна вызвать заболевание у другого человека.

Во многих случаях для активации грибков в организме необходимо снижение иммунной защиты человеческого организма. Эти условия возникают при длительном и необоснованном приеме антибиотиков, цитостатиков, противовоспалительных гормонов. На этом фоне может не только развиваться инфекция, попавшая извне, но и внутренние сапрофитные грибки, безвредные для здорового человека (актиномицеты, аспергиллы, кандиды, плесневые грибки). Одна из главных причин развития системных микозов в нашей стране – синдром приобретенного иммунодефицита. В таком случае инфекция протекает очень тяжело, плохо поддается лечению и нередко служит причиной неблагоприятного исхода. Кроме того, встречаются случаи заражения персонала лабораторий, работающего с культурой грибков.

Диагностики микозов: эти инфекции встречаются в общей практике нечасто, поэтому диагностика обычно затруднена. Кроме того, эти заболевания имеют схожие внешние признаки с другими поражениями кожи, разнообразные общие проявления и нередко сочетаются с кожным туберкулезом и пиодермиями. Основа диагностики – распознавание тканевой формы грибка, имеющей особенности у каждого возбудителя. Для этого необходимо получить срез ткани, например, при биопсии, окрасить его специальными веществами и изучить под микроскопом. Получение культуры возбудителя, то есть выращивание его на питательной среде, крайне затруднено и проводится лишь в специализированных лабораториях.

Дополнительные методы диагностики:

- биопсия кожи;
- определение антигенов и антител к грибку в сыворотке крови;
- рентгенография легких и костей;
- пункция костного мозга.

ПСЕВДОМИКОЗЫ

Эритразму дерматологи относят к хроническим кожным патологиям. Эта патология еще известна, как псевдомикоз с бактериальным происхождением. В основном проявляется она в районах больших складок эпителия. Свое название рассматриваемая болезнь приобрела из-за красноватого свечения больных областей дермы во время выполнения люминесцентного исследования. «Эритразма» на греч. яз. означает красный окрас. Эта болезнь обычно фиксируется дерматологами у взрослого населения. Мужчины чаще подвержены инфицированию. Патология протекает у них на протяжении длительного периода, при этом определенного ощущения, дискомфорта болеющие не наблюдают.

Причины возникновения: болезнь провоцируют коринебактерии, а точнее *Corynebacterium minutissimum*. Эта бактерия наделена слабой патогенностью, невысокой контагиозностью (заразностью). Ее можно наблюдать на верхнем слое эпителия, где она представлена сапрофитным микроорганизмом.

Инфицирование обычно происходит контактным путем:

- половой акт;
- через предметы личной гигиены;
- при посещении бассейна, бани;
- прогулки босиком (например, на пляже).

Поражение возбудителем отмечается лишь на поверхностном слое кожи (эпидермисе). При развитии патологии ногти, волосы инфекция не затрагивает.

Симптомы: начало болезни обнаруживается при появлении невоспаленных светло-коричневатых пятен с округлой формой на эпителии. Также они могут иметь буроватый, кирпичный, желтовато-коричневый окрас. В диаметре такие проявления болезни различные. Края образования обычно округлые, иногда встречаются и фестончатые. В процессе роста отмечается слияние небольших образований в огромный очаг поражения, который от здорового эпителия четко отграничивается. Поверхность эритразмы обычно гладкая, на ней образуются маленькие отрубевидные чешуйки. В центре такого поражения

может отмечаться смена окраса (появляется бурое пигментирование, побледнение цвета).

Эритразма локализуется на эпидермисе крупных складок. У мужчин очаги поражения наблюдаются в таких областях:

- пах;
- вокруг ануса;
- внутренняя поверхность бедер.

У женщин эритразма проявляется на следующих областях:

- околопупочная;
- под молочными железами;
- подмышечная.

Обычно никакого ощущения дискомфорта больной не испытывает. Редко, когда проявляется небольшой зуд. Из-за отсутствия субъективных ощущений, пациенты часто не обращаются к дерматологу при возникновении этой патологии.

Диагностика: обычно дерматолог легко распознает подобную проблему по ее своеобразной клинике, локализации областей инфицирования. Кроме того, при малейших сомнениях можно провести люминесцентное исследование посредством лампы Вуда. При нем на пятнах проявляется красно-коралловое свечение. Перед проведением такого исследования дерма на пораженном участке не должна быть обработана ничем. При мытье водой, обработке любым другим средством может смыться пигмент, который продуцируют возбудители болезни.

1.2 Эпидемиология, этиология, патогенез и клиническая картина микозов

Грибы проникают в организм различными путями. Первичный очаг локализуется в области входных ворот. Для некоторых микозов входными воротами являются органы дыхания, но большинство грибов попадают в организм человека через поврежденную кожу и слизистые оболочки (травмы, ушибы, порезы и т. д.). Развитию микозов способствует частое увлажнение кожи.

Предрасполагающими к развитию микозов факторами являются:

- хронические заболевания;
- длительное применение антибактериальных средств;
- стероидная терапия;
- оставление на длительное время в организме катетеров;
- понижение иммунной резистентности;
- лейкопения;
- злокачественные опухоли;
- облучение;
- гормональные и обменные нарушения.

В некоторых случаях частый и длительный контакт с микроскопическими грибами приводит к развитию глубоких и системных поражений даже у практически здоровых людей:

- профессиональные микозы и аллергозы у мукомолов;
- сортировщиков хлопка;
- у людей, занимающихся обработкой конопли, льна и другого заплесневелого сырья.

В развитии грибковых заболеваний условно выделяют несколько периодов. Сразу же после внедрения гриба наступает инкубационный период, продолжительность которого может быть от одной недели до нескольких месяцев. Далее следует период предшественников, не отграниченный четко при некоторых микозах. Без соответствующей терапии некоторые микозы могут проявляться в течение всей жизни больного. Летальный исход наблюдается при глубоких формах и при поражении жизненно важных органов.

После внедрения в организм человека большинство грибов развиваются в месте входных ворот:

- в коже;
- слизистых оболочках;
- мягких тканях;
- в органах дыхания;
- желудочно-кишечном тракте;
- мочеполовой системе.

Некоторые грибы из первичного очага мигрируют в лимфатические узлы, кроветворные органы, печень и селезенку, где могут размножаться. Способность грибов распространяться гематогенно приводит к микотическому поражению центральной нервной системы, суставов, костей. Большинство грибов избирательно поражают определенные ткани.

При органных микозах:

- часто поражаются легкие и кишечник;
- реже селезенка, печень и сердце;
- редко встречаются поражения нервной системы и опорно-двигательного аппарата.

Патологические изменения внутренних органов характеризуются гранулематозными изменениями различной интенсивности. Нагноительные формы поражения характерны для особо опасных микозов (хронический кокцидиоз, бластомикоз). Вегетирующие и язвенные поражения кожи и

подкожной клетчатки, лимфатических узлов и сосудов встречаются при хромомикозе, споротрихозе, иногда при дерматомикозах.

Клеточная реакция на патогенные грибы разнообразна:

1. Острое и хроническое нагноение с преобладанием:
 - лимфоцитов и плазматических клеток;
 - гистиоцитарной реакции с наличием или без образования гигантских клеток.
2. Образование туберкулоидных гранул с казеозным некрозом или без него, с микроабсцессами.
3. Некротические изменения ишемического или токсического характера.

Устойчивость организма к патогенным грибам обеспечивается действием специфических и неспецифических механизмов защиты. Как и при других инфекционных заболеваниях, в процессе развития микозов в крови обнаруживаются антитела. Антитела появляются в течение первых 4-5 дней, интенсивно нарастают в течение нескольких недель, достигают максимальных титров, которые постепенно снижаются в дальнейшем, но сопровождаются усиленной продукцией антител и аллергическими реакциями на повторное попадание инфекции.

Разберем патогенез, клиническую картину, этиологию и эпидемиологию некоторых микозов.

Кератомикозы - это заболевания, которые поражают поверхностные отделы рогового слоя эпидермиса, а также волос: отрубевидный, узелковый, эритразма

Патогенез: возникает из-за возбудителя дрожжеподобного гриба *Pityrosporum orbiculare*, паразитирующий в роговом слое эпидермиса. Предрасполагающие факторы: повышенная потливость, себорейный диатез.

Клиническая картина: на коже груди, спины, шеи, плечевого пояса, волосистой части головы появляются мелкие (диаметром 3-5 мм) не воспалительные желтовато-коричневые пятна с четкими неровными границами, при поскабливании — незначительное отрубевидное шелушение.

В результате периферического роста пятна увеличиваются в размерах и сливаются в крупные очаги. Субъективные ощущения отсутствуют.

Этиология: возбудитель - *Pityrosporum orbiculare*, *Malassesia furfur* -обитает в чешуйках рогового слоя в виде короткого, толстого септированного мицелия, со скоплениями мелких, округлых, двухконтурных спор.

Эпидемиология: для взрослых заболевание практически неконтагиозно, но дети из-за незрелости и рыхлости рогового слоя могут инфицироваться от больных членов семьи.

Дерматомикоз – это поражение кожи грибкового происхождения.

Патогенез: основные возбудители дерматомикозов – это несколько видов грибка Трихофитума, Микроспорума, Эпидермофитума, которые образуют общую группу болезней – дерматофиты. Большая часть этих грибков широко распространены в окружающей природе, чаще всего инфицирование происходит в условиях жаркого климата и влажности. Обычно возникают у детей, хотя и взрослые подвержены заражению в случае снижения общей сопротивляемости. Болезнь передается при непосредственном контакте с почвой, инфицированной грибами, шерстью животных, больными людьми.

Клиническая картина: поражаются кожа и придатки, в редких случаях – подлежащие ткани. Появляются круглые, красные, зудящие пятна. При этом бляшки, расположенные группами или отдельно, покрываются чешуйками. При дерматофитии наблюдаются ломкость волос, гнойное расплавление волосяного фолликула и выпадение волос. При поражении бороды и усов могут возникать гнойные пузырьки, поражаются волосяные фолликулы, развиваются гранулемы, отечность и кровянистые корки. Дерматомикозы гладкой кожи проявляются очагами шелушения, пузырьками, краснотой и гнойничками. Паховый дерматомикоз вызывается кандидами и трихофитией и проявляется гнойничковыми высыпаниями, поражением половых органов с краснотой, шелушением и гнойничковыми поражениями складок. При этом паховый дерматомикоз дает сильное пластинчатое шелушение и дискомфорт.

Дерматомикоз стопы проявляется поражением подошвы между пальцами с пузырьками и трещинами, эрозиями и зудом.

Дерматомикозы подразделяются на:

- эпидермимикозы
- трихомикозы.

Эпидермомикозы включают три нозологические формы - эпидермофитию стоп, эпидермофитию ногтей.

Эпидермофития стоп

- Этиология. Возбудитель - *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale*. Заболеваемость особенно велика среди взрослых (до 60-80%). Среди детей в возрасте до 15 лет грибковая инфекция стоп наблюдается у 3,9% обследованных. У детей дошкольного и ясельного возраста эпидермофития стоп не выявляется.
- Эпидемиология. Эпидермофития стоп - контактный дерматоз. Заражение легко происходит как путем прямого контакта, так и (чаще) через предметы, инфицированные грибом. Особую опасность представляют бани, душевые, пляжи, спортивные залы, бассейны, предметы одежды (обувь, носки, чулки).

Эпидермофития ногтей характеризуется, как правило, поражением ногтей I и V пальцев стоп. Ногтевые пластинки приобретают желтовато-серый цвет (частично или диффузно). Начальные изменения наблюдаются у свободного края ногтя в виде желтых пятен и полос. Затем все тело ногтя деформируется. Утолщенный свободный край становится рыхлым, крошащимся. Формируется подногтевой гиперкератоз. В таких случаях развивается диффузное утолщение ногтевой пластинки с деформацией по типу онихогрифоза. Реже происходит атрофия ногтевых пластинок (онихолизис) с отделением их от ногтевого ложа. Ногти кистей не поражаются.

Кандидоз — группа грибковых заболеваний местной локализации и системного характера, проявляющихся гнойными выделениями и вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*

Патогенез: Условно заболевание можно разделить на детское и взрослое. Детский кандидоз может передаваться во время родов, при прохождении через зараженные слизистые матери, при кормлении, через предметы ежедневного обихода. В силу того, что детский иммунитет плохо развит и во многом зависит от матери, важно уделять достаточно внимания собственной гигиене и чистоте окружающего ребенка пространства. Взрослый кандидоз чаще всего развивается при ослаблении иммунитета, однако причина может быть в факторах, дающих толчок к развитию заболевания

Клиническая картина: наиболее постоянным симптомом является приступообразный зуд, который усиливается даже при незначительных прикосновениях к слизистой оболочке. Часто появляется жжение. Количество выделений может быть разным, а при хроническом течении они даже отсутствуют.

Этиология: наиболее распространенным среди больных является вид *C. albicans*. Главными признаками, отличающими грибы рода *Candida* от истинных дрожжей, являются следующие: наличие псевдомицелия, отсутствие аскоспор (спор в сумках внутри клеток) и свойственные им характерные биохимические свойства.

Эпидемиология: возможность внутриутробного инфицирования плода подтверждается обнаружением грибов в околоплодной жидкости, плаценте, оболочках пуповины. В дальнейшем заражение новорожденных осуществляется разными путями: в период прохождения через родовые пути, со слизистой оболочки рта, с кожи соска при кормлении, кожи рук при уходе. Грибы рода *Candida* могут попадать в организм человека с предметов домашнего обихода, посуды, а также с пищей. Выявлено значительное обсеменение этими грибами сырого мяса, молочных продуктов, особенно творожных сырков, творога, сметаны, а также овощей и фруктов. Источником кандидозной инфекции, помимо носителей и больных кандидозом людей, могут быть домашние животные.

Глубокие микозы - группа инфекционных заболеваний, вызванных грибковым поражением не только кожи, но и других органов.

Патогенез: при контакте с пылью и землей они попадают в дыхательные пути человека. Для активации грибов в организме необходимо снижение иммунной защиты человеческого организма.

Клиническая картина: превалируют морфологические элементы типа бугорков, узлов, склонных к распаду с образованием язв и поражением глубоких слоев кожи, подкожной клетчатки, подлежащих мышц, костей, внутренних органов.

Псевдомикозы включают эритразму и актиномикоз, которые ранее относились к грибковым процессам, но более детальное изучение возбудителей позволило отнести их к особым микроорганизмам, занимающим промежуточное положение между грибами и бактериями

Патогенез: вызываемые актиномицетами и нокардиями, особой группой грамположительных бактерий имеющих много общего в построении вегетативных и репродуктивных форм клеток с мицелиальными грибам.

Клиническая картина: поражаются пахово-бедренные складки, подмышечные ямки, соприкасающиеся поверхности под молочными железами у женщин. Вместе с тем очаги эритразмы могут быть на туловище, конечностях. В указанных зонах появляются резко отграниченные пятна невоспалительного характера, цвет которых варьирует от желтовато-красного до красно-коричневого. Пятна округлые, размером от точечных до величины монет различного достоинства; при слиянии пятен образуются крупные – до ладони и более – очаги с фестончатыми контурами. Поверхность начальных высыпаний гладкая; со временем присоединяется слабое шелушение мелкими чешуйками.

1.3 Профилактика микозов

Профилактика кератомикозов заключается в проведении:

- повышение иммунной резистентности;
- закаливающих процедур;
- лечение повышенной потливости (гипергидроз);
- соблюдение правил санитарии и личной гигиены.

Профилактика дерматомикозов поддержание должной гигиены и сухости значительно снижает риск возникновения патологии. Предупредить ее помогают и другие меры. Такие как:

- не трогать чужих или бездомных животных, лечить своевременно грибок у домашних животных;
- избегать ношения чужой обуви и одежды;
- не ходить босиком в общественных местах;
- не использовать чужие вещи и предметы личной гигиены.

Для профилактики кандидоза необходимо соблюдать:

- правильное питание;
- личную гигиену;
- Ограничить употребление антибиотиков и гормональных контрацептивов;
- не контактировать с инфицированными людьми;
- повышение иммунной резистентности;
- своевременная диагностика и лечение венерических заболеваний, так как кандидоз является частым спутником заболеваний, которые передаются половым путем.

Профилактика глубоких микозов заключается в соблюдение некоторых предупредительных мер:

- путешествуя в природных условиях избегать контакта с пылью или водой из рек и прудов;

- следует избегать необоснованного применения антибиотиков и гормональных препаратов;
- ВИЧ-инфицированным людям нужно регулярно наблюдаться у инфекциониста и получать при необходимости антиретровирусную терапию.

Профилактика псевдомикозов в нашем случае подразделяются на:

Первичные:

- гигиена кожи;
- борьба с повышенной потливостью;
- отказ от тесной одежды;
- борьба с лишним весом;
- высушивание складок;
- отказ от белья из синтетики.

Вторичные:

Группа мероприятий необходима для предотвращения рецидивов болезни. Мероприятия проводятся на протяжении месяца после того, как пациент излечит эритразму. Они предполагают обработку кожных складок спиртом (камфорным, салициловым), нанесение талька.

ГЛАВА 2

2.1 Нормативные документы при работе с биологическим материалом

1. Основные нормативные документы, применяемые в лаборатории:
 - 1.1. Инструкция по составлению отчета федерального государственного статистического наблюдения "Сведения о лечебно-профилактическом учреждении".- М., 2002 г.,- 29 с.
 - 1.2. Приказ № 64 Минздрава РФ "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований" от 21.02.2000 г.
 - 1.3. Приказ № 87 Минздрава РФ "О совершенствовании серологической диагностики сифилиса" от 26.03.2001 г.
 - 1.4. Приказ № 131 Минздрава РФ "Об утверждении положения об аттестации средних медицинских и фармацевтических работников" от 23.05.1995 г.
 - 1.5. Приказ № 180 Минздрава РФ "О введении в действие государственного образовательного стандарта среднего профессионального образования группы "здравоохранение" от 31.05.2002 г.
 - 1.6. Приказ № 233 Минздрава РФ "Об аккредитации клинικο-диагностических лабораторий в качестве экспертных" от 05.06.1991 г.
 - 1.7. Приказ № 238 Минздрава РФ "Организация лицензирования медицинской деятельности" от 26.07.2002 г.
 - 1.8. Приказ № 249 Минздрава РФ "О номенклатуре специальностей среднего медицинского и фармацевтического персонала"от 19.08.1997 г.
 - 1.9. Приказ № 295 Минздрава РФ "Об утверждении положения об аккредитации клинικο-диагностических лабораторий" от 21.12.1993 г.Приказ № 314 Минздрава РФ "О порядке получения квалификационных категорий" от 09.08.2001 г.
 - 1.10. Приказ № 337 Минздрава РФ "О номенклатуре специальностей в учреждениях здравоохранения Российской Федерации" от 27.08.1999

- г. (с изменениями от 6 февраля, 2 апреля 2001 г., 21, 25 июня, 14, 16 августа 2002 г., 21 марта, 26 мая, 9 июня, 20 августа 2003 г.).
- 1.11. Приказ № 380 Минздрава РФ "О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации" от 25.12.1997 г.
- 1.12. Закон РФ № 4871-1 "Об обеспечении единства измерений" от 27.04.1993г.
- 1.13. Закон РФ № 5487-1 "Об охране здоровья граждан" от 22.07.1993 г.
- 1.14. Письмо Минздрава РФ № 01И-231/07 "О государственном метрологическом контроле и надзоре за изделиями медицинского назначения" от 29.03.2007 г., - 2 с.
- 1.15. Письмо Минздрава РФ № 15-12/267 "О врачах клинической лабораторной диагностики" от 10.06.2003 г.
- 1.16. Письмо Минздрава РФ № 154-ВС "О профессиональной деятельности специалистов здравоохранения" от 15.01.2007 г.

Инструкция по охране труда при работе с кровью и другими биологическими жидкостями пациентов.

2. Общие требования охраны труда

- 2.1. К самостоятельной работе, при которой возможен контакт с кровью и другими биологическими жидкостями пациентов, допускаются лица старше 18 лет, не имеющие медицинских противопоказаний, обученные безопасным методам работы, прошедшие вводный и первичный на рабочем месте инструктажи по охране труда, стажировку и проверку знаний требований охраны труда.
- 2.2. При работе персоналу следует руководствоваться принципом, что все пациенты потенциально инфицированы.
- 2.3. При выполнении работ с кровью и другими биологическими жидкостями пациентов возможны механические повреждения кожи:
 - колотые раны при неосторожном обращении со шприцами и другими колющими инструментами (предметами);
 - порезы кистей рук (при открывании бутылок, флаконов, пробирок с кровью или сывороткой; при работе с контаминированными ВИЧ-инструментами);
 - укусы психических больных при нападении на персонал.
- 2.4. Персонал должен выполнять работу в санитарной одежде, предусмотренной отраслевыми нормами: халат хлопчатобумажный, медицинская шапочка, медицинские перчатки, надетые поверх рукавов медицинского халата.
- 2.5. Для проведения инвазивных процедур рекомендуется надевать две пары перчаток, водонепроницаемый халат и фартук.
- 2.6. При угрозе разбрызгивания крови и других биологических жидкостей работы следует выполнять в масках, защитных очках, при необходимости, использовать защитные экраны, клеенчатые фартуки.
- 2.7. При работе в морге персонал должен иметь: халат, нарукавники, водонепроницаемый фартук, 2 пары резиновых перчаток, 4-х-слойную марлевую маску, бахилы, защитные очки, сапоги или галоши.
- 2.8. В кабинете подразделения, где возможен контакт персонала с биологическими жидкостями пациентов, должна быть аварийная аптечка «Анти-СПИД2, в состав которой входят: 70% этиловый спирт, ватно-марлевые тампоны; 0,05% раствор марганцовокислого калия или навеска препарата в сухом виде с необходимым количеством дистиллированной воды для приготовления раствора; 5% спиртовой раствор йода; бактерицидный пластырь; глазные пипетки, одноразовый шприц; перевязочный материал.
- 2.9. Курить разрешается только в специально отведенных для этого местах. Запрещается употребление алкогольных напитков на работе, а также выход на работу в состоянии алкогольного или наркотического опьянения.

- 2.10. При выполнении работы необходимо быть внимательным, не отвлекаться на посторонние дела и разговоры и не отвлекать других от работы.
- 2.11. Работник несет ответственность в соответствии с действующим законодательством за соблюдение требований инструкций, производственный травматизм и аварии, которые произошли по его вине.

3. Особенности работы в микологической лаборатории

- 3.1. Режим работы должен предупреждать рассеивание в окружающую среду зараженного материала и спор выросших культур грибов, чтобы избежать инфицирования персонала.
- 3.2. Сотрудники должны работать в медицинских халатах, шапочках и сменной обуви.
- 3.3. У культур плесневых грибов образуется огромное количество летучих спор. Во избежание ингаляционного инфицирования дыхательные пути защищают марлевой маской.
- 3.4. Рабочее место содержат в образцовом порядке, личные вещи хранят в специально отведенном месте.
- 3.5. Пол и стены облицовывают кафелем, чтобы они выдерживали мытье дезинфицирующими средствами.
- 3.6. Воздух в лаборатории стерилизуют специальными аэрозолями или бактерицидной лампой.
- 3.7. Для дезинфекции используют 5% растворы карболовой кислоты, хлорамина, осветленной хлорной извести, 3% раствор сульфохлорантина и другие дезинфицирующие средства, предусмотрены «Инструкцией по проведению противоэпидемических и дезинфекционных мероприятий при микроспории, трихофитии и фавусе».
- 3.8. Отработанные культуры и инфицированный грибами материал автоклавируют при 120°C 30 мин или кипятят в течение 15 мин.
- 3.9. Лабораторные столы следует покрывать стеклами с частично окрашенной в черный и белый цвет обратной стороной: на черном фоне лучше видны светлые культуры грибов, а также мелкие частицы исследуемого материала, а на белом фоне хорошо видны оттенки пигмента у исследуемых колоний.
- 3.10. Материал для исследования берут только инструментами.
- 3.11. Посуду с патологическим материалом необходимо ставить на противни, посеvy производить только над ванночками, так как кожные чешуйки, волосы и споры грибов могут попасть на стол.
- 3.12. Оснащении: микроскопы, осветители, предметные и покровные стекла, пинцеты, скальпели, ножницы, маникюрные кусачки, ложечки Фолькмана, наборы петель, лопаточки, спиртовки или газовые горелки, пробирки, чашки Петри, колбы, воронки, шприцы, пипетки.
- 3.13. Реактивы: 10-30% растворы щелочей, раствор Люголя, этиловый спирт, эфир, красители по Граму.

2.2 Методы диагностики микозов

1. Осмотр.

При подозрении на микоз кожи или внутренних органов следует незамедлительно обратиться к дерматологу, а если есть возможность, к микологу. Эти специалисты в первую очередь проводят опрос больного, чтобы выяснить возможные пути инфицирования. Затем проводится осмотр, в результате которого выявляются поврежденные кожные покровы, и определяется масштабность поражения. В процессе осмотра врач обращает внимание на иммунодефицитные состояния больного. Для диагностики микозов производится забор материала, который затем отправляют на лабораторное исследование.

2. Лабораторная диагностика.

Самыми эффективными методами диагностирования микозов кожи являются различные лабораторные исследования, которые способны выявить возбудителя и помочь в подборе схемы терапии. Для выявления возбудителя микоза назначают такие лабораторные исследования:

Прямые методы (выявляют возбудителей):

- Микроскопия:

- 1) Микроскопия с применением нативных или неокрашенных препаратов. Для этого материал освещают с помощью 10—30% растворов гидроксида калия или натрия. Затем обработанный материал кладут на предметное стекло. Сверху кладут покровное стекло и проводят анализ.

- 2) Микроскопию окрашенных препаратов проводят несколькими способами, которые идентифицируют бактерии, дифференцируют различные бактерии и выявляют разные грибы.

- Гистологический анализ способен выявить грибки в тканях, волосах, ногтях. При обследовании применяются гистологические окрасы. Чаще всего применяют периодическую кислотную реакцию, поскольку она является максимально информативной. При диагностике грибы проявляются в незначительном количестве и имеют вид спор или нитей мицелия.

- Бактериологический посев является точным способом диагностики микоза. Учитывая внешний вид и характеристики выросшей колонии грибка, дерматолог устанавливает тип возбудителя, вызвавшего микоз. В среднем необходимо около 3-х недель, чтобы выяснить штамм возбудителя.

- Культуральное обследование, метод заключается в получении культуры грибка, которая потом отправляется на обследование с помощью микроскопа. Полученный материал кладут на искусственно созданную питательную среду и выявляют род возбудителя, внешний вид, размеры. После чего показано специальное лечение, которое направлено на борьбу с конкретным видом возбудителя микоза.

Непрямые методы (выявляют антитела и антигены):

- Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) - это метод, с помощью которого можно выявить антитела к известным антигенам.
- 1) Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.
- 2) Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микробах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.
- Иммунологическое исследование часто применяется при подозрении на микозы крови. Этот метод предполагает обследование крови, спинномозговой жидкости или урины на наличие возбудителя. При иммунологической диагностике используют коммерческие тест-системы, которые выявляют специфические антигены в биоматериале. С помощью этих методов можно выявить специфичные антитела в сыворотке крови.
- ПЦР-диагностирование предполагает выявление возбудителя микоза с применением полимеразной цепной реакции. При обследовании увеличивается чувствительность гибридизации, что повышает содержание вирусного ДНК в исследуемом материале. Этот метод обследования является новым и требует нескольких анализов от пациента. Считается, что такой вид диагностики достаточно затратный, но дает точные результаты.

ГЛАВА 3

3.1 Практическая часть

Я проходила преддипломную практику в Красноярский краевой кожно-венерологический диспансер № 1.

Моей целью было изучить микроскопическое исследование микозов. Разберем, как происходит исследование грибковых заболеваний. На самом деле лабораторная диагностика микозов очень зависит от забора биоматериала, т.е. преаналитического этапа.

Преаналитический этап лабораторной диагностики микозов.

- КОЖА

Сбор материала с кожных поражений проводят с помощью соскоба, мазка, отпечатка липкой лентой. Предварительно следует обработать пораженное место тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом, особенно если на этот участок кожи были нанесены крем, пудра или иные косметические препараты. Такая обработка позволяет уменьшить контаминацию исследуемого материала посторонней бактериальной флорой.

- 1) Соскоб — наиболее частый способ сбора материала с кожи. Для соскоба применяют тупые скальпели, кюретки (во избежание травм кожи), предметное стекло. Взятие материала оптимально проводить с наружного края поражений, так как здесь наиболее высоко содержание жизнеспособных, активно размножающихся грибов. В случае пузырных высыпаний необходимо взять для исследования покрывки свежих пузырьков, пузырей, обрывки мацерированного эпидермиса.
- 2) Мазок берут с участков кожи в области естественных складок, с мацерированных очагов, при выраженном воспалении. Взятие материала проводят стерильным тампоном, смоченным водой, физиологическим раствором или жидкой питательной средой.
- 3) Отпечаток с помощью липкой ленты применяют при отсутствии видимого и скрытого шелушения патологического кожного очага. Прозрачную липкую ленту прижимают к очагу, затем удаляют и кладут липкой стороной на предметное стекло, тщательно расправляя ее.

Собранные методом соскоба чешуйки кожи помещают в чашки Петри для транспортирования соскобов с маркировкой дна чашки и доставляют в лабораторию.

- **НОГТЕВЫЕ ПЛАСТИНКИ**

Перед взятием материала поверхность ногтя обрабатывают тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом. Сбор материала проводят скальпелем, лезвием бритвы, маникюрными ножницами, кусачками, бором или фрезой бормашины.

При поверхностной форме онихомикоза делают соскобы с пораженной части ногтевой пластинки до здоровых слоев ногтя, не пораженных грибом. Оптимально использовать для анализа средние слои ногтевой пластины.

При локализации патологического процесса в дистально-латеральных зонах ногтя для исследования берут срезы ногтевой пластинки. Желательно делать срез во всю толщу ногтя и наиболее далеко от его свободного края. Кроме того, необходимо исследовать подногтевые роговые гиперкератотические массы, по возможности захватывая наиболее проксимальные и глубокие слои. Поверхностные слои соскобов ногтевых пластин и гиперкератотических масс не используются в исследовании из-за высокой контаминации бактериальной микрофлорой.

В случае подногтевой локализации очага в проксимальной части ногтевой пластинки взятие материала проводят бормашиной. Ногтевую пластинку просверливают бором. Образующуюся пыль собирают с помощью отсоса.

- **ВОЛОСЫ**

Перед взятием материала проводят выбор очага с помощью лампы Вуда. Волосы эпилируют пинцетом. Коротко обломанные волосы из очагов можно извлечь иглой. При фавусе взятие волоса проводят из центра скутулы, при микроспории, инфильтративно-нагноительной трихофитии — с периферии очага.

Собранный материал (соскобы и срезы ногтевых пластинок, волосы) помещают в стерильные чашки Петри с маркировкой дна и транспортируют в лабораторию.

Я самостоятельно приготавливала препараты для микроскопии. В течение преддипломной практики, я приготовила 120 нативных препаратов и сделала 69 посевов на скошенный агар Сабуро.

Виды исследований

Вид исследования	Техника приготовления	Число приготовленных препаратов
Приготовление нативных препаратов	Для этого материал осветляют с помощью 10—30% растворов гидроксида калия или натрия. Затем обработанный материал кладут на предметное стекло. Сверху кладут покровное стекло и проводят анализ.	120
Посев материала	Полученный материал кладут на искусственно созданную питательную среду и выявляют род возбудителя, внешний вид, размеры. После получения культуры гриба, она отправляется на исследование с помощью микроскопа.	69

Микроскопическое исследование патологического материала на грибы производят в нативных и окрашенных препаратах. Для приготовления неокрашенных препаратов полученный материал размельчают при помощи скальпеля или препаровальной иглы и помещают на середину предметного стекла. Для более четкого выявления элементов гриба производят просветление (мацерацию) материала. С этой целью прибегают к помощи различных веществ, чаще всего едкой щелочи (KOH, NaOH), которые растворяют эпидермальные чешуйки, слизь, гной, просветляют пигмент волоса и тем самым делают грибы доступными для исследования.

На размягченные чешуйки кожи или ногтя, которые помещают на середину предметного стекла, наносят 1-3 капли 20 - 30% раствора KOH (NaOH). Исследуемый материал в каплях щелочи осторожно подогревают над пламенем спиртовки до появления нежного белого ободка из кристаллов щелочи по периферии капли. Подогревать до кипячения не следует. После подогревания каплю накрывают покровным стеклом, избегая попадания

пузырьков воздуха. Подогревание препаратов после наложения покровного стекла не рекомендуется. Приготовленные препараты длительному хранению не подлежат. Их лучше всего исследовать в течение 2 ч с момента приготовления, так как после этого наступает глубокое разрушение тканей или выпадают кристаллы щелочи.

Просветление препаратов можно проводить без подогревания, для этого их оставляют в 20% растворе КОН на 30 - 60 мин или используют другие методы просветления патологического материала: хлораллактофенолом по Аману; лактофенолом; раствором, содержащим по 15% диметилсульфоксида и КОН в воде. Хорошие результаты получают после просветления ногтевых пластинок, помещенных в 5% раствор КОН на 24 ч, подогревания в этом случае не требуется.

Техника микроскопирования в микологической лаборатории в Красноярском краевом кожно-венерологическом диспансере № 1 производят на обычном лабораторном микроскопе без иммерсии. Конденсор микроскопа должен быть опущен, диафрагма сужена. Вначале препарат находят на стекле при малом увеличении (40х), последующее исследование производят при большем увеличении (100х); детально препарат изучают при увеличении 400х. Необходимо исследовать несколько препаратов с тем, чтобы увеличить надежность анализа и избежать ложноположительных результатов.

Ошибки в микроскопической диагностике:

- дефекты приготовления препарата, прежде всего бывают связаны с перегреванием препарата, что может привести к выпадению кристаллов щелочи, разрушению волоса и появлению мелкозернистого распада в патологическом материале. Линейное расположение удлиненных ровных кристаллов щелочи весьма напоминает нити септированного мицелия даже на чистом стекле без патологического материала. Кроме того, обилие кристаллов щелочи препятствует выявлению гриба в глубоко лежащих слоях патологического материала. Дифференциально-диагностическими признаками являются исключительное однообразие кристаллов, их стекловидная прозрачность, многогранность краев и отсутствие неразрывной связи одного элемента с другим. За элементы гриба ошибочно могут быть приняты капельки жира, пузырьки воздуха, хлопчатобумажные нити одежды и так называемый «мозаичный грибок», который представляет собой артефакт, который возникает в процессе кристаллизации (возможно, за счет распада холестерина). Он имеет вид сеточки или петель, очертания которых соответствуют границам роговых чешуек, в отличие от нитей мицелия он никогда не пересекает стенки клеток эпидермиса. Липиды кожных покровов, жировой распад клеток и зерна кератогиалина, особенно имеющие правильную форму, могут напоминать отдельные споры гриба. Но разнообразие формы и, главное, размеров, отсутствие внутренней структуры образований (вакуоли, оболочки) говорят против грибковой природы данных элементов. Липиды также могут попасть в препарат при взятии патологического материала с недостаточно

очищенного очага поражения. Пузырьки воздуха могут напоминать споры дрожжеподобных клеток, но в отличие от последних они окружены плотной темной оболочкой, и даже самые маленькие пузырьки воздуха всегда больше клеток гриба.

- неопытность лаборанта.

3.2 Статистика грибковых заболеваний

Статистика по данным Минздрава Российской Федерации наиболее распространенных грибковых заболеваний за 2015-2017 год. Данные показаны в графике .

Встречаемость микозов в структуре дерматологической патологии



По данным графика видно, что грибковые заболевания прогрессируют. Риск заболеваемости микозами увеличивается из-за плохой экологии, не соблюдения правил личной гигиены, хронических заболеваний

Заключительным исследованием микозов является посевы, для выделения культур и постановке точного диагноза.

Культуральное исследование является высокочувствительным и специфическим методом лабораторной диагностики микозов. Его необходимо производить независимо от результатов микроскопии, так как культуральный метод позволяет иногда выявлять возбудителя при отрицательных данных микроскопии; он дает возможность определять род и вид возбудителя и, следовательно, проводить адекватную терапию и профилактику заболевания.

Перед посевом патологического материала его расщепляют на предметном стекле на мелкие кусочки, 5 - 6 из них переносят на поверхность косого агара и располагают на расстоянии 1 - 2 см один от другого. Материалом одной пробы засевают не менее 2 - 3 пробирок (волосы) или 4 - 5 пробирок (кожные и ногтевые чешуйки). Для первичной изоляции дерматофитов лучше всего пригодны стандартная среда Сабуро с 2 - 4% глюкозы.

Посев производят в боксе над пламенем газовой или спиртовой горелки платиновой петлей, микологическим крючком или лопаточкой из нихрома. Держа пробирку в левой руке, охватывают ее над пламенем горелки, захватывая пробку мизинцем правой руки, которой одновременно держат петлю. Прокаленную докрасна петлю остужают и одновременно увлажняют прикосновением к поверхности среды в стороне от места предполагаемого посева. Затем берут частицу материала и наносят на поверхность агара. Пробирку закрывают пробкой, предварительно обожженной над пламенем.

Аналогичным образом производят посев на чашку Петри. Необходимо, чтобы имеющаяся в ней среда как можно меньше соприкасалась с окружающим воздухом, поэтому крышку следует приподнимать настолько, чтобы в нее свободно могла пройти только петля с патологическим материалом.

Посевы инкубируют при 22 - 30 °С (лучше всего 28 °С). Появление роста дерматофитов отмечается с 4-го по 12-й день инкубации в точках посева по краям внесенного материала. При отсутствии роста в течение 30 дней результаты культивирования считаются отрицательными. В оптимальных условиях первичные культуры многих дерматофитов можно идентифицировать на 7 - 10-й день после посева, но следить за посевами нужно в течение 20 - 30 дней. Первичные культуры растут сравнительно медленно, при появлении роста в первичном посеве необходимо произвести отсев от края колонии на свежую дифференциальную среду. Для получения чистой культуры, которая будет служить материалом для идентификации выделенного дерматофита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В начале дипломной работы была поставлена цель: изучение микроскопических исследований при диагностике микозов. Именно что и было сделано в ходе моей исследовательской работы.

Для реализации цели были поставлены задачи, которые я выполнила:

1. Я изучила классификацию, эпидемиологию, патогенез, клиническую картину и профилактику микозов. Существует множество различных микозов, но я рассмотрела самые большие группы микозов, которые встречаются очень часто. Кератомикозы, они поражают роговой слой эпидермиса или поверхности кутикул волос. Дерматомикозы поражают эпидермис, дерму, ногти и волосы. Кандидоз заболевания поверхностных слизистых оболочек, кожи, ногтевых валиков, ногтей. Глубокие микозы поражают внутренние органы. Псевдомикозы или эритразма относится к хроническим кожным патологиям.
2. Изучила методы диагностики микозов. Есть прямые и непрямые методы исследования. Прямые методы выявляют возбудителей, а непрямые методы выявляют антитела и антигены.
3. Микроскопическое исследование при диагностике очень важно, т.к. во время диагностики распознают наличие возбудителя (различные споры, мицелии). Следовательно, без микроскопического исследования невозможно выявить возбудителя.
4. Так же по данным Минздрава России я выяснила, что грибковые заболевания прогрессируют. Риск заболеваемости микозами увеличивается из-за плохой экологии, не соблюдения правил личной гигиены, хронических заболеваний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

Электронные ресурсы

1. <http://infoparazit.ru/mikoz/diagnostika-mikozov.html> Исследования на микозы
2. <http://medicalencyclopedia.ru/enciklopediya/m/mikozy> Медицинская энциклопедия Энциклопедия Микозы
3. <http://www.invazii.ru/mikozy/> МИКОЗЫ
4. <http://gidmed.com/dermatologiya/zabolevaniya/mikozy/keratomikoz.html> Особенности грибкового заболевания кератомикоз и методы его лечения
5. <http://gidmed.com/dermatologiya/zabolevaniya/mikozy/dermatofitiya.html> Особенности грибкового заболевания дерматофития и методы его лечения
6. <http://www.diagnos.ru/diseases/infec/candidosis> Кандидоз
7. <https://mikoz.ru/formy/glubokie-mikozy/> Глубокие микозы
8. <http://gidmed.com/dermatologiya/zabolevaniya/mikozy/eritrazma.html> Эритразма или псевдомикоз: особенности заболевания и возбудители недуга
9. <http://бмэ.орг/index.php/МИКОЗЫ> Большая Медицинская Энциклопедия

Книжные ресурсы

1. Хмельницкий, О. К. Гистологическая диагностика поверхностных и глубоких микозов / О. К. Хмельницкий. - Л. : Медицина. Ленингр. отд-ние, 2014. - 239 с. : 2.00 Грибковые болезни – диагноз.
2. Разнатовский, К. И. Дерматомикозы : рук. для врачей : учеб. пособие / К. И. Разнатовский, А. Н. Родионов, Л. П. Котрехова. - СПб. : СПб МАПО, 2006. - 183 с.
3. Кашкин, П. Н. Дерматомикозы (человека и животных) : рук. для врачей / П. Н. Кашкин. - 3-е изд., перераб. и доп. - Л. : Медицина. Ленингр. отд-ние, 2013. - 335 с.
4. Ивакина, К. Н. Кандидамикозы в клинике инфекционных болезней : автореф. дис. ... канд. мед. наук / К. Н. Ивакина. - Воронеж : б/и, 2015. - 22 с.

5. Василев, В. Н. Микобактериозы и микозы легких : Возбудители - морфология, биология и диагностика : пер. с болгар. / В. Н. Василев. - София : Медицина и физкультура, 2010. - 384 с.
6. Базыка, А. П. Микозы стоп / А. П. Базыка. - Киев : Здоровья, 2013. - 134 с.