

Лабораторная диагностика кандидоза

КЛАССИФИКАЦИЯ ГРИБОВ

Надцарство – Эукариоты

Царство - Грибы (Mycota или Fungi)

Отделы - Грибы-слизевики (Mухомycota)
Настоящие грибы (Eumycota)

Классы - низшие грибы

Chitridiomycetes

Hyphochitridiomycetes

Oomycetes

Zygomycetes

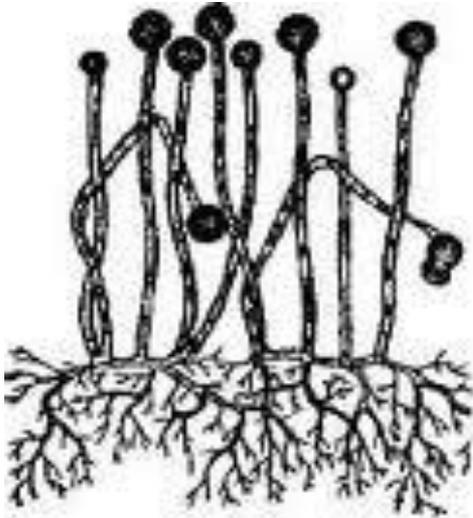
высшие грибы

Ascomycetes

Basidiomycetes

Deuteromycetes

2 типа морфологии грибов



1

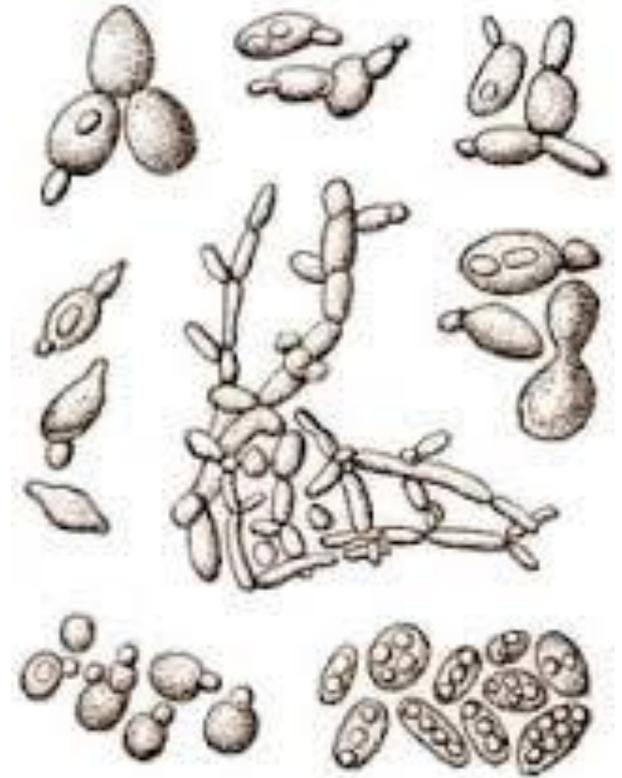


2

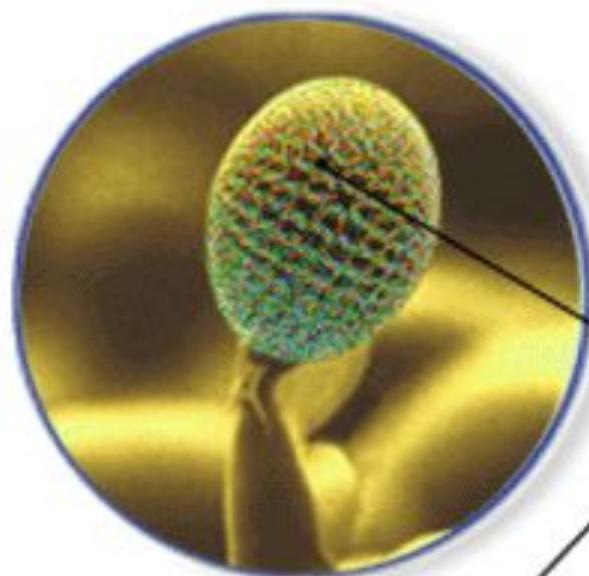


3

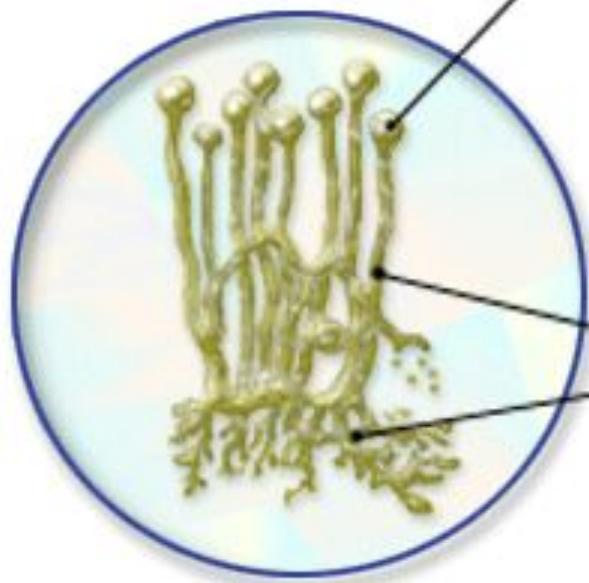
гифальный



дрожжевой



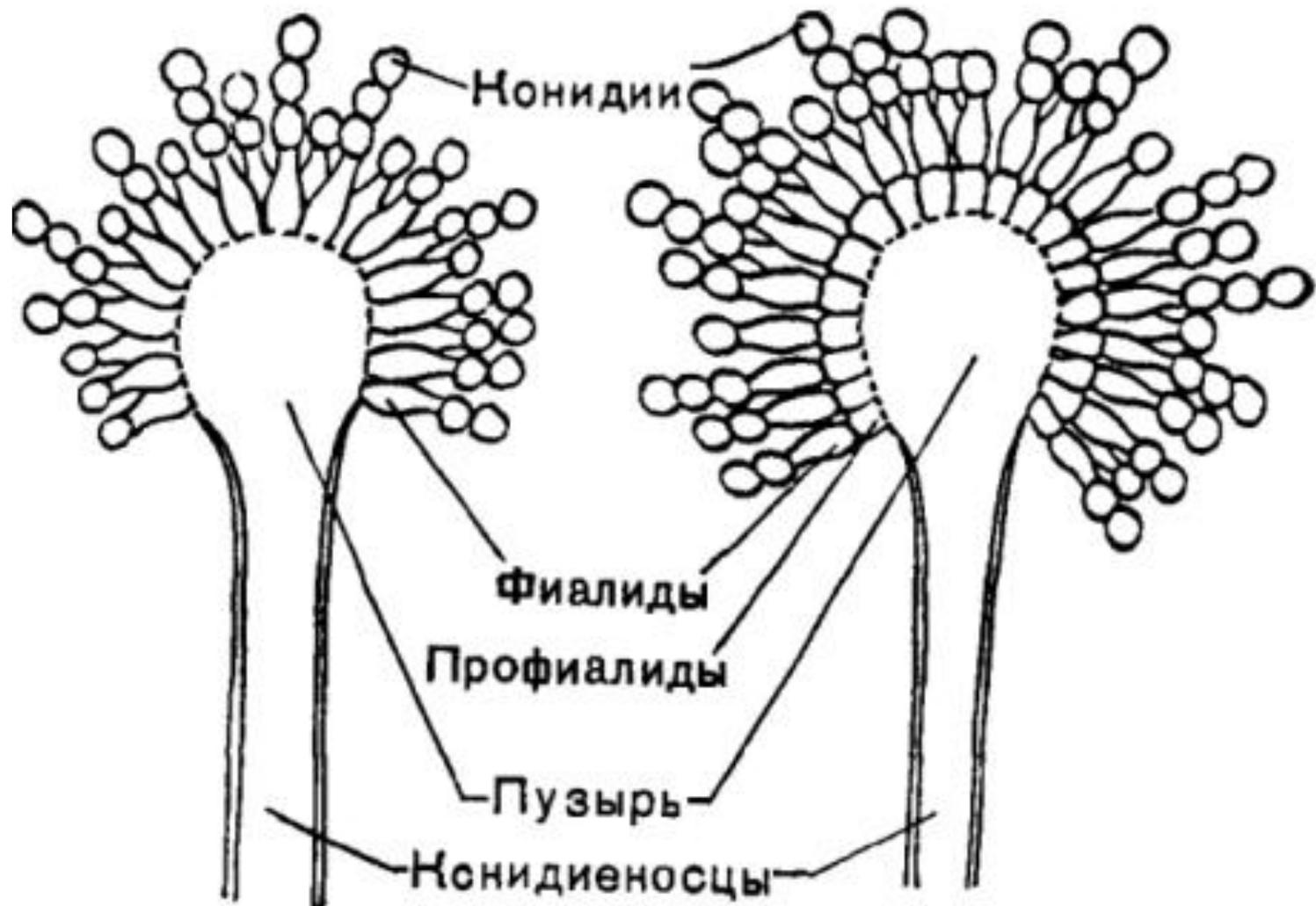
Спорангий



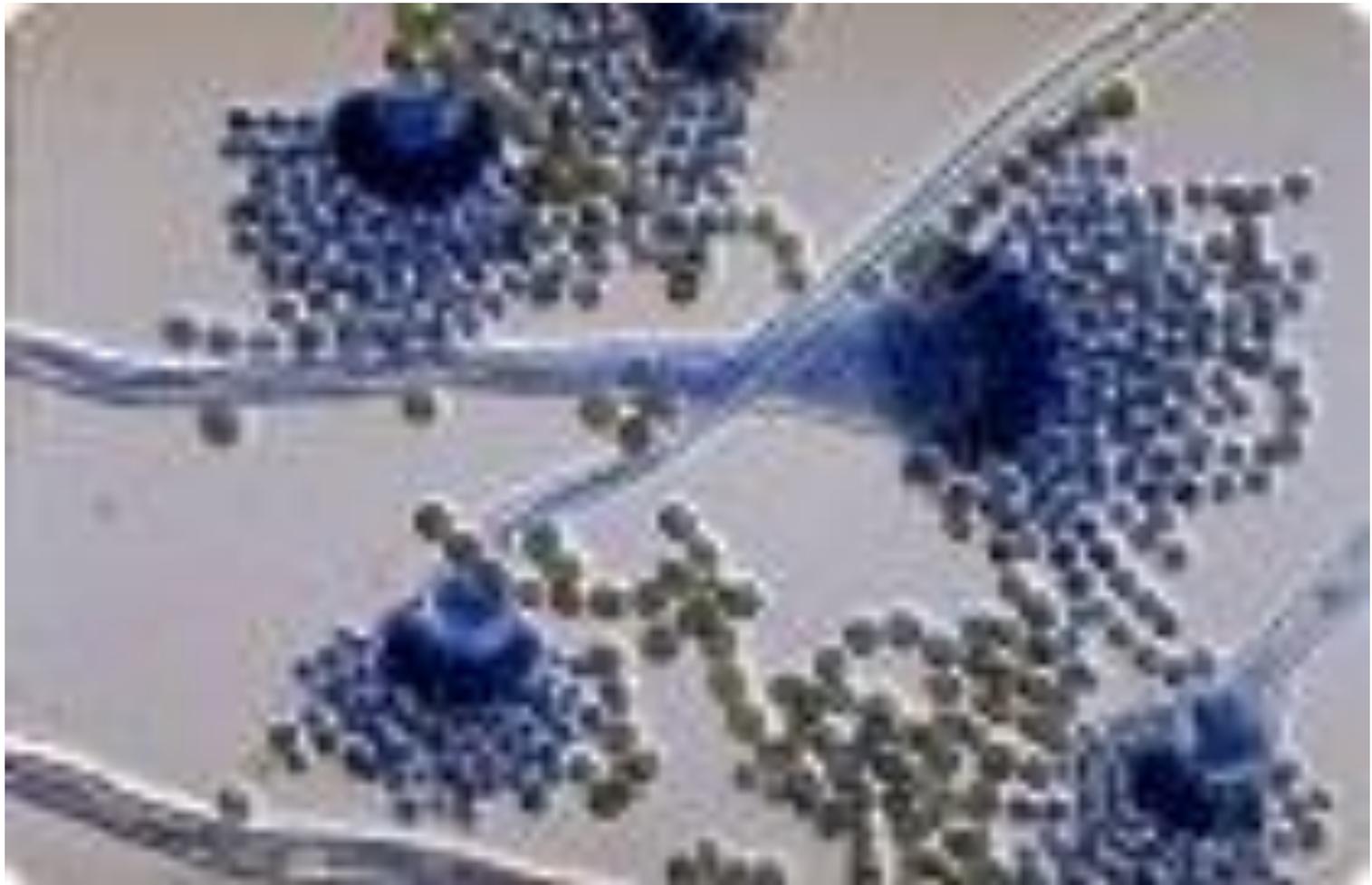
Гифы

Мицелий мукора

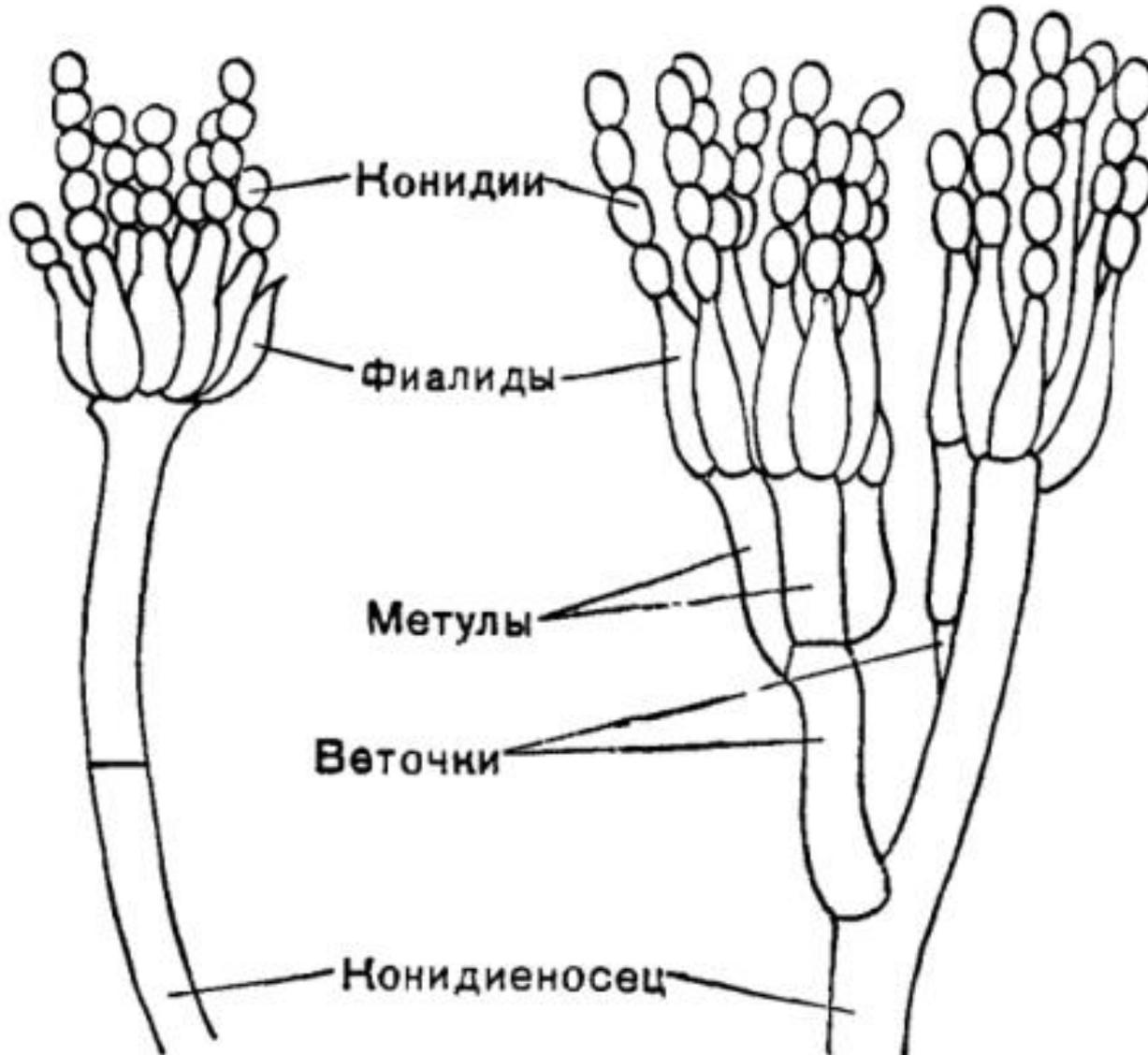
Аспергилл



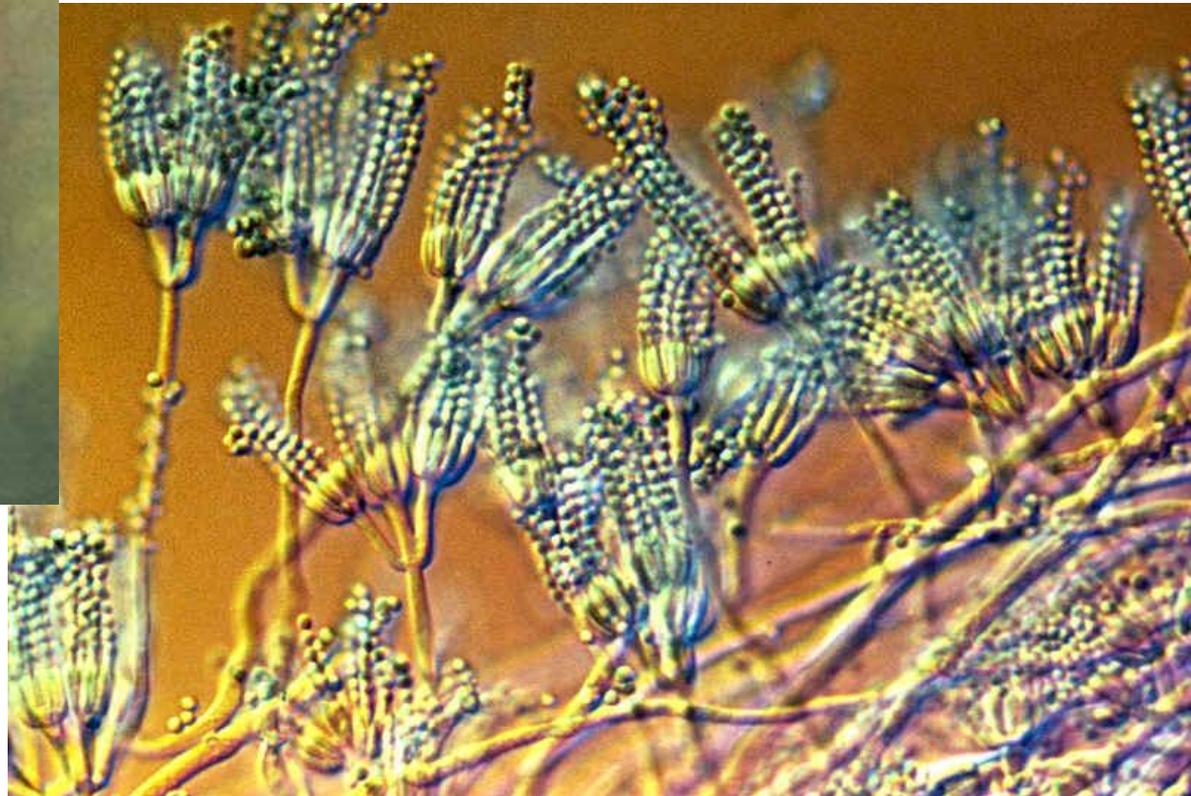
Aspergillus flavus



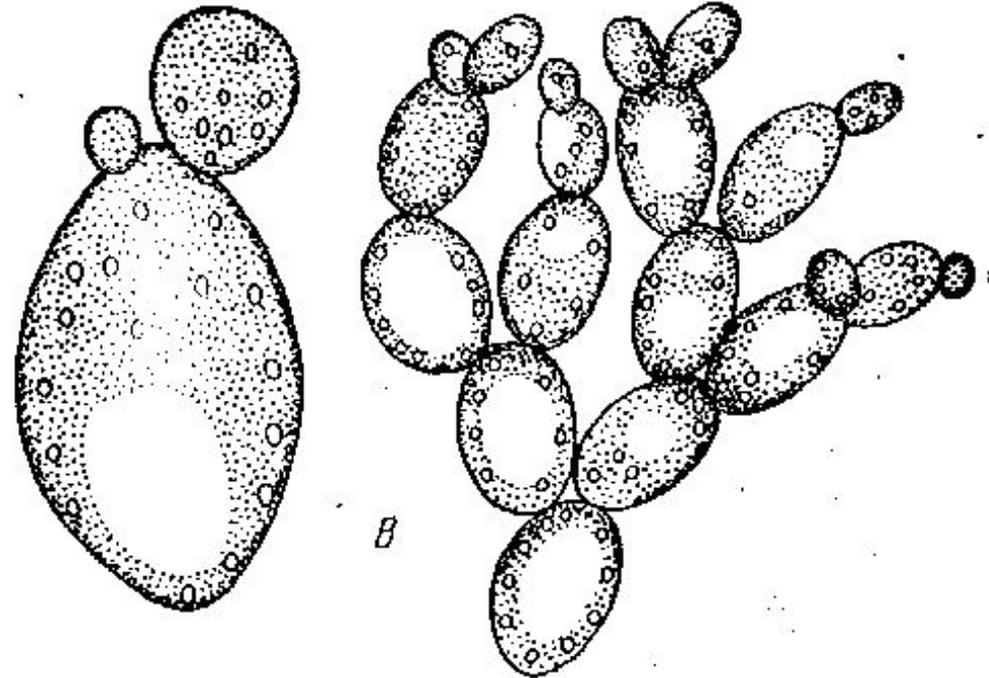
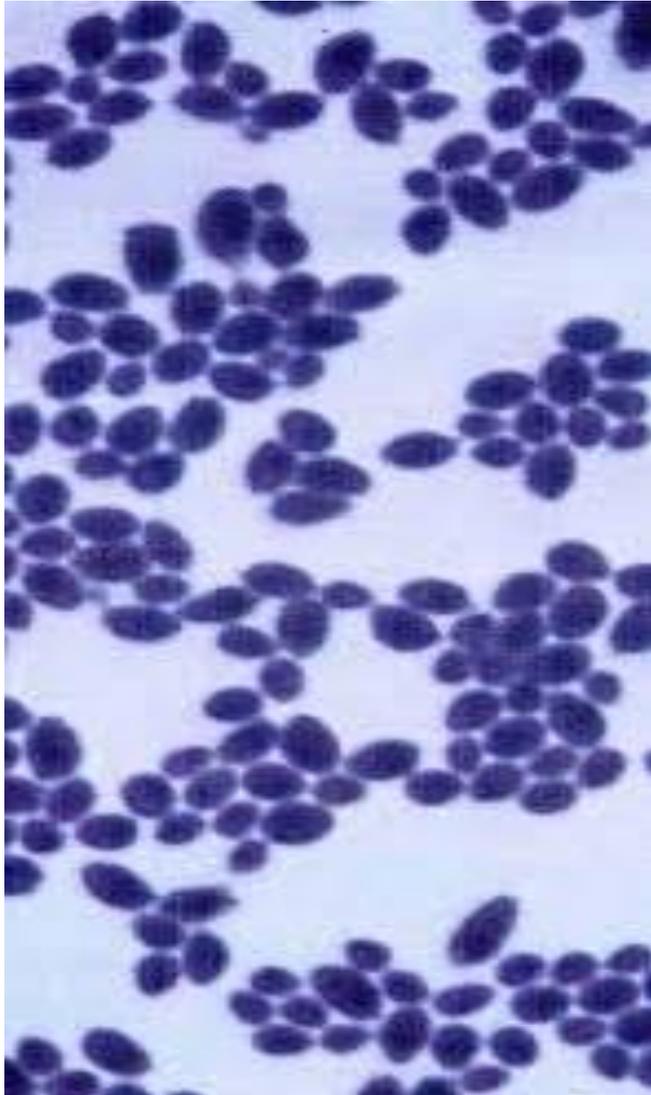
Пеницилл



Пеницилл



Дрожжи



Candida



Классификация микозов

1 группа – системные

(глубокие) микозы

2 группа – подкожные микозы

**3 группа – микозы кожи и ее
придатков**

(дерматомикозы)

**4 группа – поверхностные
микозы**

Оппортунистические микозы

Мукороз

Аспергиллез

Пенициллиноз

Кандидоз

ФАКТОРЫ РИСКА ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ МИКОЗОВ

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

МЕСТНЫЕ НАРУШЕНИЯ

ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ

ЯТРОГЕННЫЕ

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ

Возбудители кандидоза

Класс **Deuteromycetes**

Род **Candida**

Виды **C.albicans**

C.tropicalis

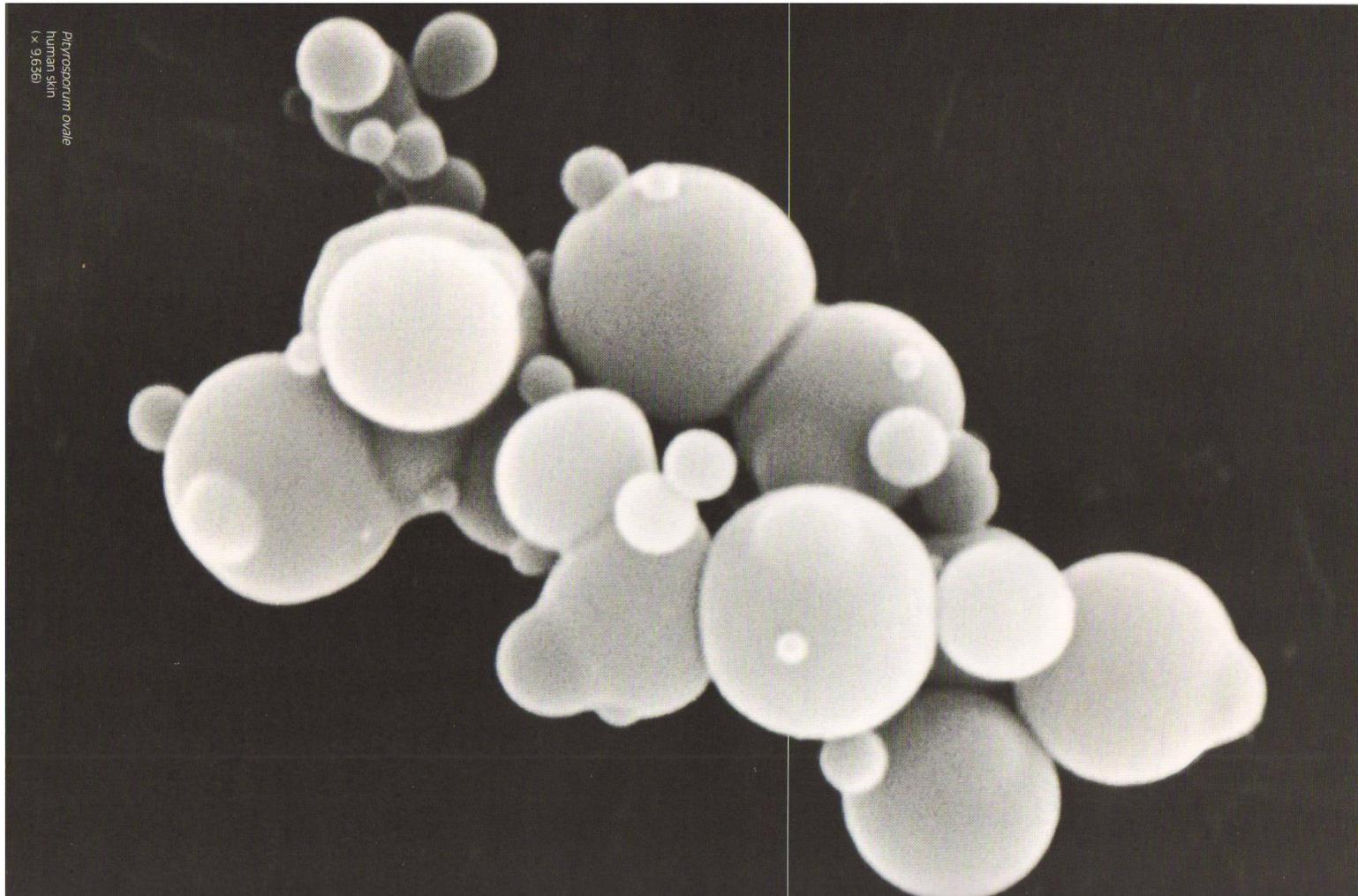
C.glabrata

C.parapsilosis

C.krusei

Характеристика грибов Candida

Вид	Рост на твердых средах	Рост на жидких средах	Филаментация на картофельном агаре	Наличие хламидоспор
C.albicans	Колонии сметанообразные (белые или кремовые), выпуклые, круглые	Осадок, иногда небольшое пристеночное кольцо	Псевдомицелий ветвистый, в толще среды древоподобный	+
C.tropicalis	Колонии двухзональные, первые 2 суток сметанообразные, затем мозговидные, края сглаженные, изрезанные	Поверхностная пленка, высокое пристеночное кольцо	Псевдомицелий сильно развит, много бластоспор и псевдоконидий	–
C.kefyr	Колонии плоские, сероватые, влажные	Осадок, среда прозрачная	Псевдомицелий тонкий, бластоспор мало	–
C.krusei	Колонии сухие, матовые, серые, плоские, с мелкой зернистостью в центре	Поверхностная пленка, нежное сползающее высокое пристеночное кольцо	Псевдомицелий развитый	–
C.guilliermondii	Колонии низкие, белые, блестящие	Осадок, среда прозрачная	Псевдомицелий тонкий, бластоспоры мелкие	–
C.parapsilosis	Колонии гладкие, влажные, сметанообразные	Низкое пристеночное кольцо, осадок	Псевдомицелий развит слабо	–



Бластоспоры *C. albicans*

Псевдомицелий





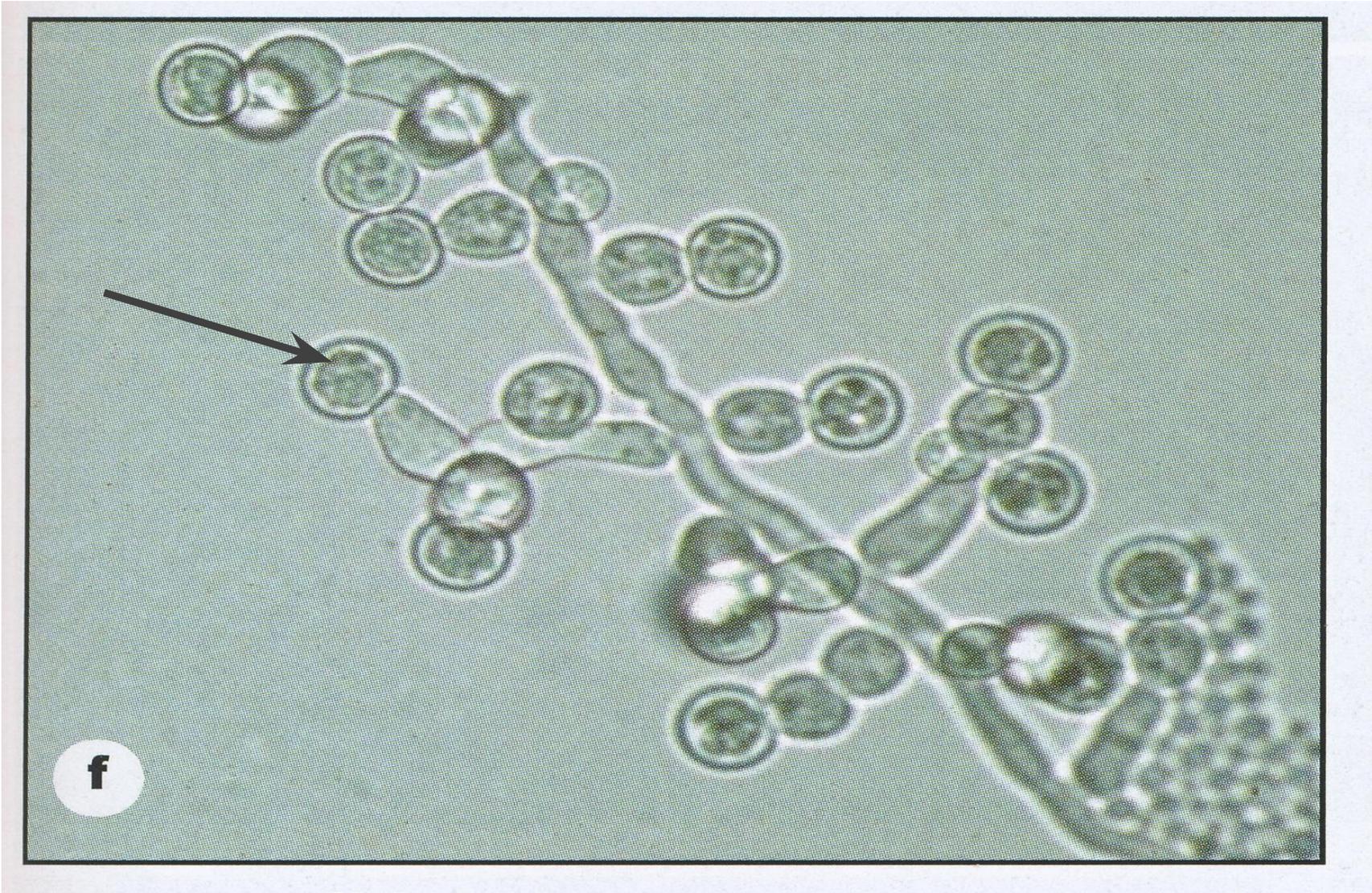
**Дрожжеподобная и гифальная форма
*C.albicans***



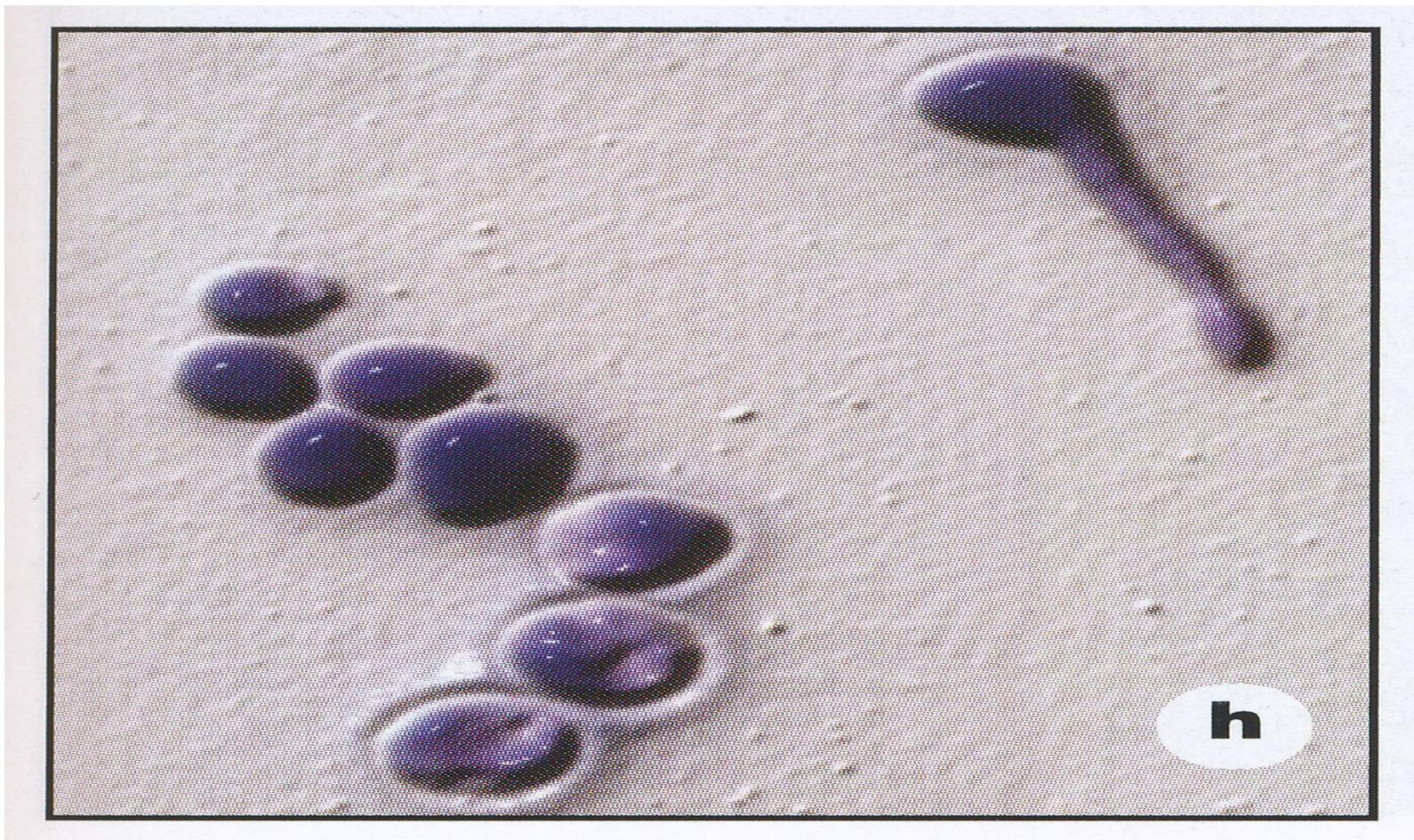
**C.albicans: псевдомицелий
макроскопически в колониях**



C.albicans: псевдомицелий



C.albicans: хламидоспоры



C.albicans: ростовая трубка

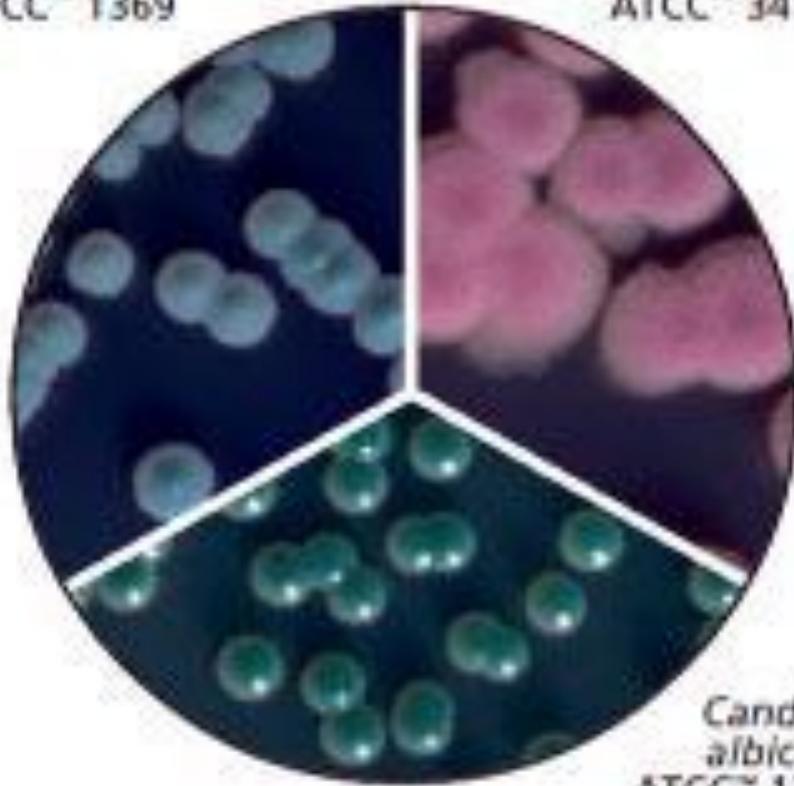


**C.albicans: колонии на среде
Сабуро**

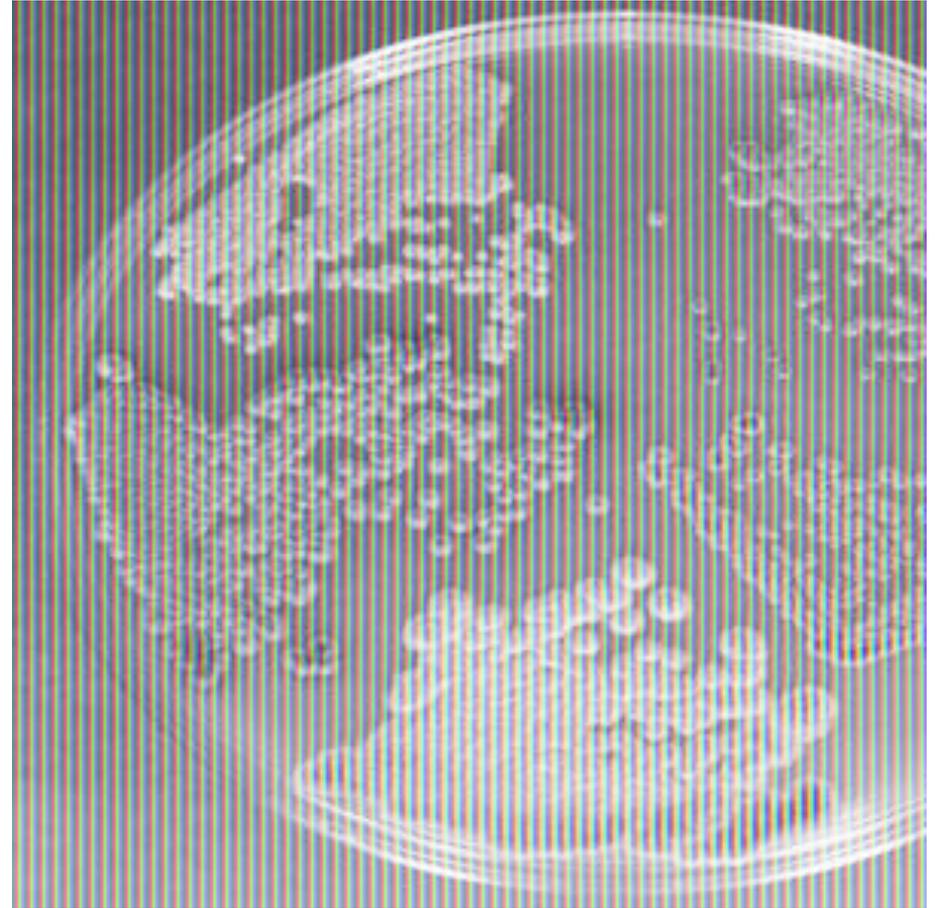
Колонии на хромогенных средах

Candida tropicalis
ATCC™ 1369

Candida krusei
ATCC™ 34135



Candida albicans
ATCC™ 1231



Для выделения и дифференциации
Candida spp.

Ферментативные свойства некоторых видов *Candida*

Виды	Углеводы			
	глюкоза	лактоза	сахароза	мальтоза
<i>C.albicans</i>	КГ	-	К (КГ)	КГ
<i>C.tropicalis</i>	КГ	-	КГ	КГ
<i>C.pseudotropicalis</i>	КГ	КГ	КГ	-
<i>C.krusei</i>	КГ, К	-	-	-
<i>C.parapsilosis</i>	КГ, К	-	-	-
<i>C.guilliermondii</i>	КГ	-	КГ	-

Механизмы защиты

Неспецифические

- кожа, слизистые (неповрежденная, шелушение, ссушивание, вымывающее действие, ферменты: лактоферрин)
- нормальная микрофлора
- комплемент (альтернативный путь)
- NK

Специфические

Гуморальные:

-sIg A

-сывороточные Ig G, M, A

Клеточные:

-фагоцитоз: ПЯЛ, макрофаги

-CD8 Т лимфоциты

**-CD4 Т лимфоциты 1 типа: увеличение
цитокинов :ИЛ-2, интерферон-гамма,
колониестимулирующий фактор**

Аллергизация : ГЗТ

Факторы патогенности

• Адгезия: фимбрии,
поверхностные
гликопротеины

• Инвазивность - способность
образовывать гифальную
форму (проникновение в
клетку, до ядер)

Факторы

- Ферменты патогенности
 - кератинолитические
 - протеолитические
 - фосфолипаза
- Меланин (защита от окисления и УФЛ)
- Капсула (*C. neoformans*)
- Иммуносупрессивное действие (маннан клеточной стенки)
- Высокая адаптационная способность

Клиническая классификация кандидоза

I. Поверхностный кандидоз

- Кандидоз кожных складок
- Кандидоз гладкой кожи
- Кандидозная паронихия и онихия
- Кандидоз полости рта в форме стоматита, заеды, хейлита
- Кандидозный вульвовагинит
- Кандидозный баланит и баланопостит

ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ КАНДИДОЗНОГО ВУЛЬВОВАГИНИТА

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ:

- беременность
- менструация

ЭНДОКРИННЫЕ:

- сахарный диабет
- гипотиреоз

ИММУНОДЕФИЦИТ:

- патология, связанная с иммунодефицитом

КАНДИДОЗНЫЙ ВУЛЬВОВАГИНИТ

МЕХАНИЧЕСКИЕ:

- синтетическое белье
- первый половой контакт
- травматические повреждения тканей влагалища
- ВМС (длительное ношение)

ЯТРОГЕННЫЕ:

- антибиотики
- кортикостероиды
- иммуносупрессоры
- химиотерапия онкологических заболеваний
- лучевая терапия
- оральные контрацептивы

ПРОЧИЕ:

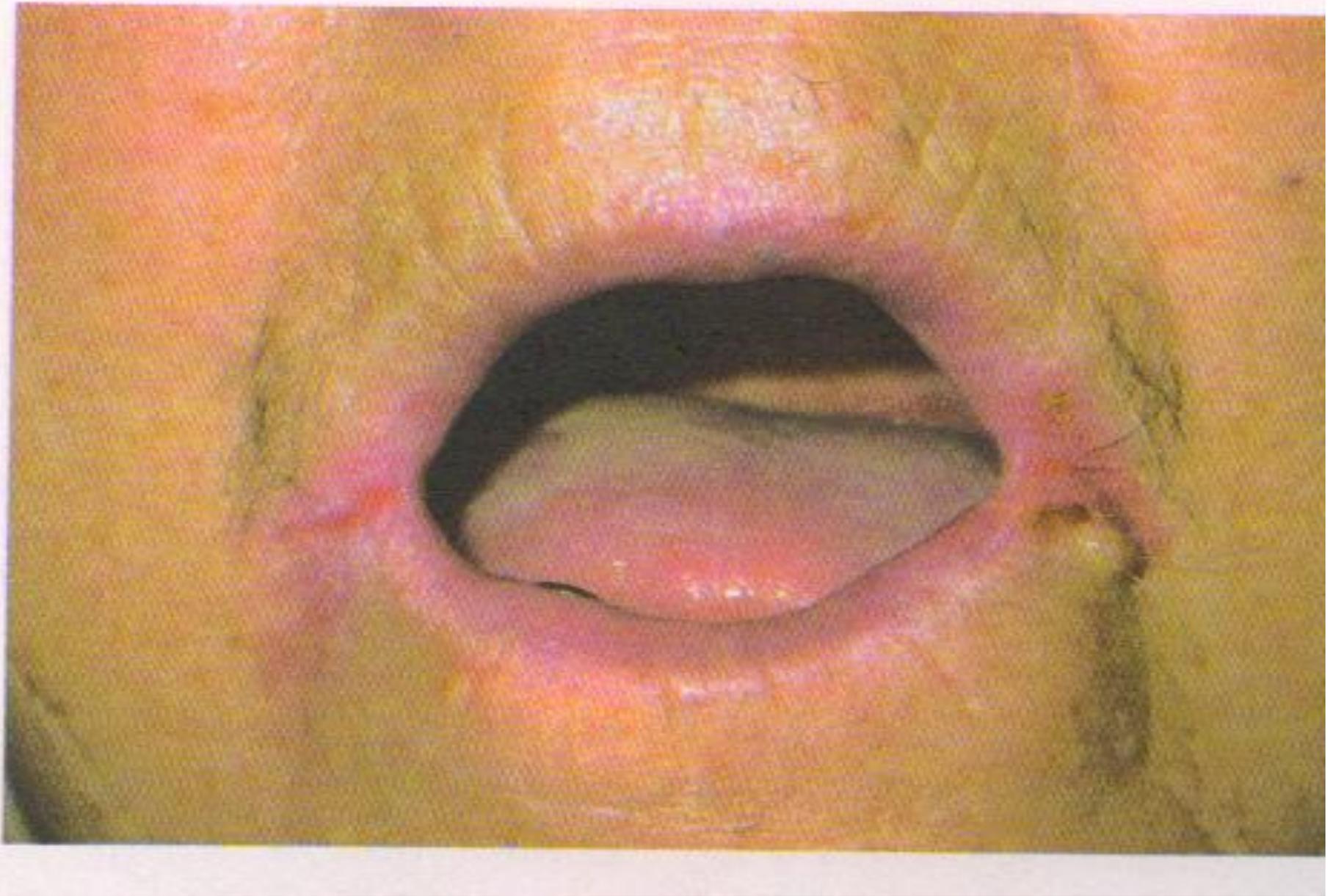
- аллергические заболевания
- гиповитаминоз
- хронические заболевания гениталий
- хронические заболевания ЖКТ

Кандидоз складок



Кандидозный стоматит





**Кандидозные заеды при применении
антибиотиков**

Кандидозный ОНИХОМИКОЗ

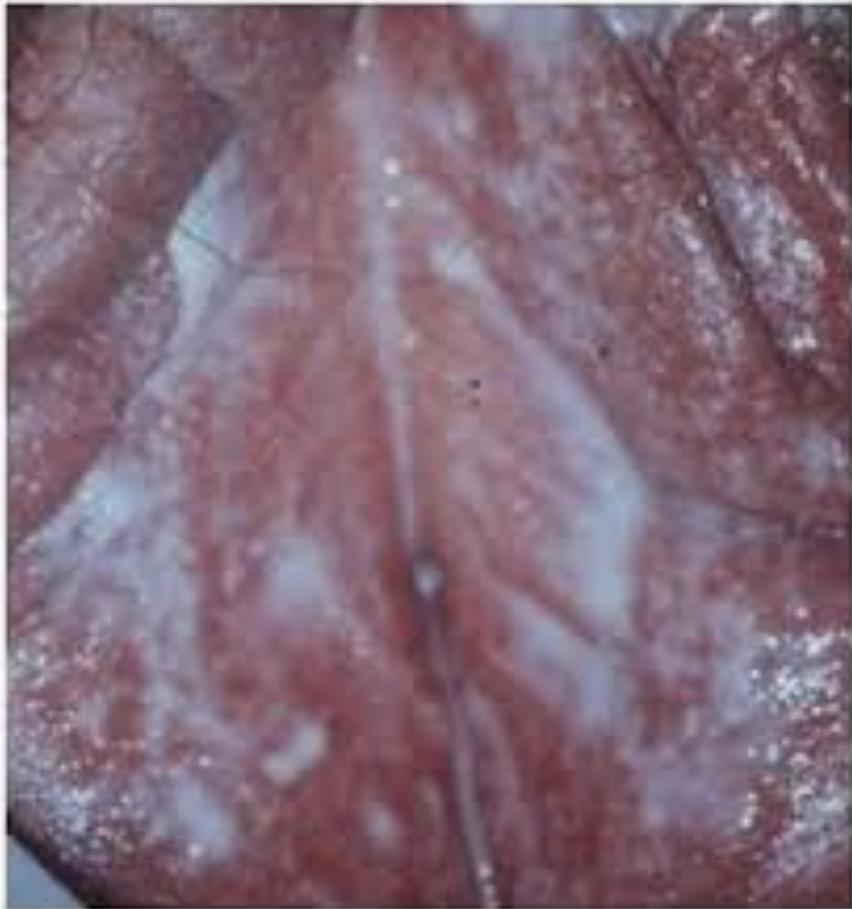




Image Courtesy of C. Haste
Copyright © 2000 Dynafungus Corporation

Кандидоз паховых складок





Кандидозный вульвовагинит

Кандидозный баланопостит



II. Хронический генерализованный (гранулематозный) кандидоз

III. Висцеральный кандидоз различных органов

- а) пищеварительный тракт
- б) органы дыхания
- в) мочеполовая система
- в) кандидозная септикопиемия
- г) кандидозный хронический сепсис
- е) внутриутробный (врожденный) генерализованный кандидоз новорожденных.



Методы лабораторной диагностики

Микроскопический

Микологический

Серологический

Кожно-аллергическая проба

Определение чувствительности к флуконазолу



Противогрибковые препараты

Фунгицидные:

- подавление синтеза ДНК: флуцитозин
- повреждение цитомембраны – полиены:
амфотерицин В, нистатин

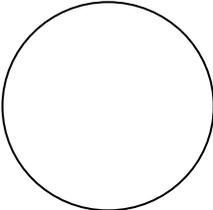
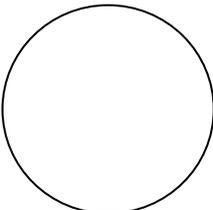
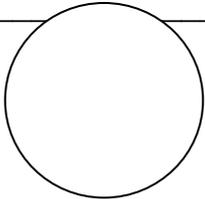
Фунгистатические:

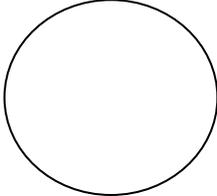
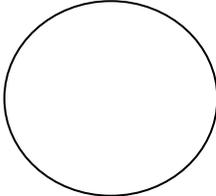
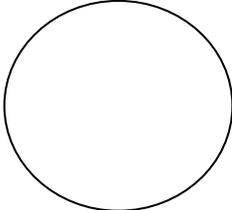
- азолы - подавление синтеза стерола:
имидазол, флюконазол, клотримазол

Препараты, применяемые для лечения кандидоза.



Лабораторная диагностика кандидоза

День исследо- вания	Исследуемый материал	Что сделать	Результат
	<i>Рост колоний C.albicans, C.krusei на хромогенной среде.</i>	<i>Изучить морфологию колоний. Зарисовать.</i>	
1 день	Налет, соскоб со слизистой полости рта, влагалища, ногтевых пластинок	1) Приготовить мазок-препарат, окрасить метиленовым синим (Демонстрация). Изучить морфологию, зарисовать. 2) Провести посев на среду Сабуро.	
3 день	Рост колоний на среде Сабуро	1) Изучить морфологию колоний. 2) Приготовить мазок-препарат, окрасить метиленовым синим. Изучить морфологию, зарисовать. 3) Провести пересев на скошенный питательный агар с глюкозой.	1) _____ _____ _____ _____ _____ 2)  бластоспоры псевдомицелий

5 день	Чистая культура на скошенном питательном агаре с глюкозой	1. Описать характер роста. 2. Оценить чистоту выделенной культуры (приготовить мазок-препарат, окрасить метиленовым синим). 3. Провести посев в пробирку с сывороткой, $t^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$, 2 часа. 4. Провести посев на «голодный» рисовый агар под стекло. 5. Провести посев на кровяной агар. 6. Провести посев на среды Гисса с глюкозой, мальтозой, сахарозой. 7. Провести посев на питательный агар с глюкозой для определения чувствительности выделенной чистой культуры к противогрибковым препаратам дискодиффузионным методом и E-тестом	
5 день через 2 часа	Рост культуры в пробирке с сывороткой	Приготовить мазок-препарат, окрасить метиленовым синим, микроскопировать, изучить ростовые трубки. (Демонстрация).	ростовая трубка 
7 день	1) Рост колоний на «голодном» рисовом агаре под стеклом 2) Рост колоний на кровяном агаре	1) Промикроскопировать (x100-400) для обнаружения хламидоспор (зарисовать) 2) Изучить морфологию колоний в стереомикроскопе (почкующиеся колонии и образование псевдомицелия), зарисовать.	1) хламидоспоры  2) псевдомицелий 

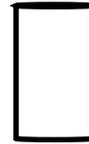
3) Рост культуры на средах Гисса

4) Посев на чувствительность к антигрибковым препаратам

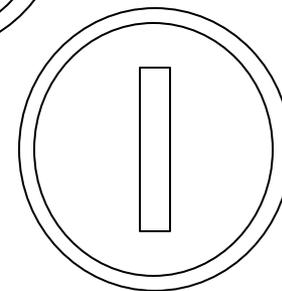
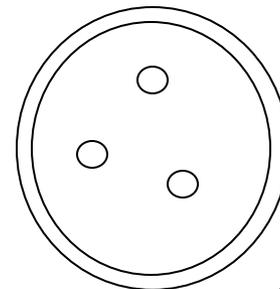
3) Учесть биохимические свойства.

4) Определить чувствительность к нистатину, амфотерицину В, клотримазолу

3) Глюкоза Мальтоза Сахароза



4)



Е-тест

Заключение по работе:

В зависимости от состояния вагинального микроценоза выделяют
3 формы кандидозной инфекции влагалища:

1. Бессимптомное кандидоносительство –

- ✓ отсутствуют клинические проявления заболевания,
- ✓ Candida выявляются в низком титре (менее 10^4 КОЕ/мл),
- ✓ доминируют лактобациллы в умеренно большом количестве.

2. Истинный кандидоз –

- ✓ выраженная картина вагинального кандидоза,
- ✓ Candida в титре более 10^4 КОЕ/мл,
- ✓ высокий титр лактобацилл (более 10^6 КОЕ/мл),
- ✓ отсутствие диагностически значимых титров других условно-патогенных микроорганизмов.

3. Сочетание вагинального кандидоза и бактериального вагиноза –

- ✓ Candida в высоком титре,
- ✓ облигатные анаэробные бактерии и гарднереллы в титре более 10^9 КОЕ/мл,
- ✓ резкое снижение концентрации или отсутствие лактобацилл.