

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ КОЖНО-ВЕНЕРИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Практика № 1 . Лабораторные исследования при грибковых заболеваниях.

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).

Клиническая картина грибковых заболеваний кожи весьма полиморфна, поэтому во всех случаях диагноз должен быть подтвержден лабораторными методами исследования. Лабораторная диагностика микозов складывается из нескольких этапов. В обычной клинической практике обычно ограничиваются микроскопическим и культуральным исследованием зараженного материала. Микроскопический метод играет важную роль в диагностике микозов, т.к. дает возможность быстро выявить в нативных и окрашенных препаратах наличие и расположение клеток, спор гриба и нитей мицелия в патологическом материале.

Успех лабораторного исследования микозов во многом зависит от правильного взятия патологического материала. Поскольку грибы способны поражать различные органы человека, при подозрении на микоз необходимо исследовать различный патологический материал. В дерматологической практике чаще всего приходится иметь дело с микозами, при которых исследованию на грибы подлежат кожные чешуйки, волосы, ногти.

В очагах поражения на коже, из которых предполагается брать патологический материал, за несколько дней или недель необходимо прекратить всякое лечение. Следует иметь в виду, что использование слабых дезинфицирующих растворов или даже индифферентных средств может помешать исследованию. Непосредственно перед забором патологического материала очаг поражения необходимо обработать 96% спиртом или раствором ксилола. Материал лучше всего брать со свежих, но уже полностью развившихся очагов поражения. Кожные чешуйки необходимо соскабливать с периферии очагов, грибы здесь встречаются чаще всего как в виде мицелия, так и спор. Кожные чешуйки снимаются скальпелем, корочки - эпиляционным пинцетом. Наряду с чешуйками желательно забирать небольшую часть прилегающей к очагу поражения здоровой кожи, так как в этих на внешний вид нормальных участках можно обнаружить большое количество элементов гриба. При дисгидротических высыпаниях для анализа следует использовать покрывки пузырьков и крупные, с трудом отделяющиеся чешуйки на границе очагов поражения и здоровой кожи. Поверхностные корочки и чешуйки в центре кольцевидных высыпаний мало пригодны для исследования, так как элементы грибов здесь имеются непостоянно и их бывает трудно отличить от фрагментов жирового распада тканей. Скутулы при фавусе удобнее брать эпиляционным пинцетом, они очень богаты грибами во всех своих частях. В случаях подозрения на грибковое поражение пушковых волос, их необходимо извлекать эпиляционным пинцетом по возможности вместе с чешуйкой. Грубые роговые массы с подошв срезают скальпелем или лезвием безопасной бритвы.

У больных микозами волосистой части головы пораженные волосы извлекают эпиляционным пинцетом. Для исследования необходимо брать короткие, перекрученные, изогнутые в виде дуги или запятой, а также длинные, но покрытые чехлом в основании, волосы. При подозрении на фавус необходимо помнить о том, что волосы не обламываются, но становятся тусклыми, безжизненными, седоватыми. Там, где обломанные волосы плохо видны невооруженным глазом, нужно пользоваться лупой и собирать с очагов поражения чешуйки, поскольку коротко обломанные волосы могут иметь вид едва заметной

черной точки, заложенной в толще роговой чешуйки. Если пораженные волосы имеют вид черных точек, то их извлекают на поверхность кожи или острым концом скальпеля, или препаровальной иглой.

Пораженные волосы, взятые для микроскопического исследования, желательно разложить на предметном стекле на фоне черной бумаги. В этом случае они резко отличаются от здоровых волос серым и тусклым цветом.

При взятии материала необходимо исследовать каждый, даже маленький очаг облысения, особенно у взрослых, так как грибковое поражение на голове у них нередко сочетается с мелкими участками рубцовой алопеции.

У больных с инфильтративно-нагноительной формой микоза волосистой части головы и области роста бороды и усов очаги поражения часто покрыты массивными корками. В этих случаях отдельные пораженные волосы выявить трудно, они чаще встречаются в свежих высыпаниях, по краю очагов поражения, в более глубоких отделах кожи. Нередко они выталкиваются из волосяных фолликулов вместе с гноем при надавливании на очаг поражения. Волосы желательно брать вместе с гноем, затем поместить на чашку Петри, часовое или предметное стекло, и отделить волос от гноя.

Соскобы с поверхностных очагов пораженных ногтевых пластинок делают скальпелем, утолщенные ногтевые пластинки срезают скальпелем или маникюрными кусачками; подногтевой гиперкератоз можно получить с помощью препаровальной иглы. Для взятия материала из глубоких слоев через «окошечко» в ногтевой пластинке иногда пользуются бормашиной. При паронихиях необходимо брать гной из-под ногтевых валиков; при отсутствии гноя — соскабливать материал с соприкасающихся поверхностей ногтевой пластинки и валиков.

Жидкий патологический материал собирают асептично в стерильную посуду, чешуйки кожи, ногтя и волосы — на листочки простой или мягкой пергаментной бумаги.

Отделяемое со слизистых оболочек для посева берут тампоном из гигроскопической ваты, который затем помещают в сухую стерильную пробирку или пробирку с 2 мл питательной среды (сусло Сабуро). Материал со слизистых оболочек рта и зева берут вначале с внутренней поверхности щек, неба, затем языка, тщательно протирая тампоном спинку и корень, а в заключение — круговым движением из зева. Для микроскопии соскобы налетов беловато-сероватого цвета со слизистых оболочек берут ложечкой Фолькмана или предметным стеклом. Материал из влагалища получают из заднего свода; с головки полового члена — из области венечной борозды.

Материал из наружного слухового прохода берут петлей или тампоном, который помещают в пробирку.

При необходимости полученный патологический материал доставляют в лабораторию в специальной таре или металлических биксах. Поступивший в лабораторию материал исследуют в течение 1 ч после взятия при хранении в условиях комнатной температуры или не более чем через 3 ч при хранении в холодильнике при температуре 4 °С.

В запаянных пробирках или пипетках жидкий патологический материал сохраняется до высыхания довольно долго, грибы в волосах и чешуйках, завернутые в бумажные пакеты (типа аптечных порошков), могут сохраняться месяцы и даже годы.

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.

Просветление препаратов можно проводить без подогревания, для этого их

Микроскопическое исследование производят на обычном лабораторном микроскопе. Необходимо исследовать несколько препаратов с тем, чтобы увеличить надежность анализа и избежать ложноположительных результатов.

Ошибки в микроскопической диагностике грибов могут возникнуть в связи как с дефектами приготовления препарата, так и с недостаточной опытностью лаборанта.

Дефекты изготовления 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. В сомнительных случаях рекомендуется добавить к препарату капельки слегка подогретой дистиллированной воды, которые быстро растворяют кристаллы щелочи.

За элементы гриба ошибочно могут быть приняты капельки жира, пузырьки воздуха, хлопчатобумажные нити одежды и так называемый «мозаичный грибок».

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.

Нити от ткани носков, одежды и т. п. обычно лежат отдельно от патологического материала, они всегда больше гифов и грубее.

Возможно просветление препаратов для микроскопического исследования проводить 15 - 30% раствором КОН, в который добавляют 5 - 10% коммерческих темно-синих чернил. При этой окраске гифы и споры окрашиваются в голубой цвет.

Для приготовления окрашенных препаратов наиболее часто для окраски грибов применяют общепринятые методы Грама, Романовского-Гимза, Циля-Нильсена, Бурри.

Рубромикоз (руброфития).

Возбудитель - *Trichophyton rubrum* поражает кожу стоп, ногтевые пластинки пальцев стоп и кистей, крупные складки, кожу туловища и конечностей. Нередко встречаются ассоциации красного трихофитона с плесневыми грибами, кандидами, бактериальной флорой. Исследованию при руброфитии подвергают чешуйки кожи, соскобы из глубоких слоев ногтя.

Микроскопический метод позволяет найти в нативных препаратах споры и мицелий гриба, однако требует подтверждения выделением чистой культуры гриба.

Эпидермофития стоп.

Микоз стоп может вызывать также *Trichophyton interdigitale* (*T. mentagrophytes* var. *interdigitale*). Заболевание весьма распространенное, передается от человека человеку чешуйками с пораженных участков кожи или ногтей больного.

Микроскопический метод диагностики эпидермофитии позволяет определить в нативных препаратах из материала от больного нити мицелия и споры гриба.

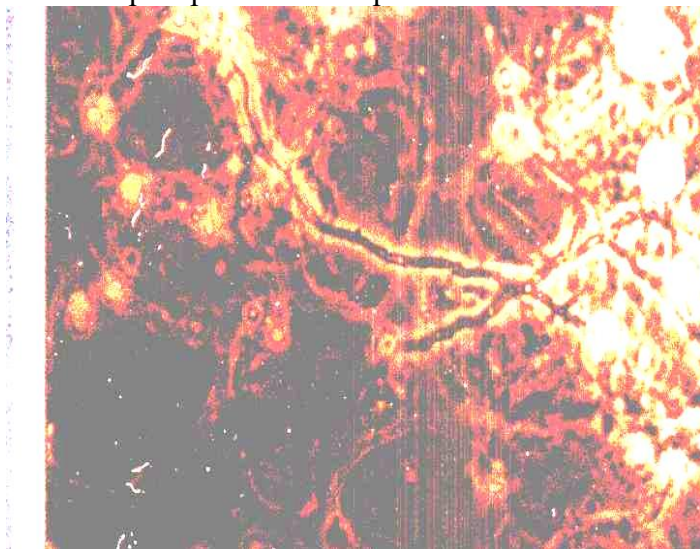


Рис. Элементы гриба (нити мицелия и споры гриба) в чешуйках кожи при эпидермофитии. При микроскопии можно увидеть длинные завитки и спирали, а также полиморфные хламидоспоры.

Трихофития

При поверхностной трихофитии поражается гладкая кожа и волосистая часть головы, при хронической могут также поражаться ногти, глубокие слои кожи, внутренние органы. Пораженные трихофитонами волосы короткие (1-2мм и короче), беловатые, сухие, ломкие, выглядят в виде черной точки или запятой, находятся в мелкой чешуйке.

При микроскопии нативных препаратов гриб в пораженном волосе встречается в виде спор и мицелия.

Наряду со спорами, в пораженном волосе встречаются цепочки из округлых спор, изредка – нити мицелия.

Микроскопия соскоба пораженных участков кожи позволяет обнаружить нити мицелия, а также цепочки и кучки круглых или овальных спор диаметром 4-5мкм. В ногтевых пластинках элементы гриба имеют вид ветвящегося мицелия, цепочек из округлых и многогранных спор, а также крупных (5-8мкм) двухконтурных клеток.

Микроспория.

Возбудителями микроспории чаще всего являются зоофильный гриб *Microsporum canis*, вызывающий заболевание у кошек, собак и человека, а также антропофильный гриб *M. ferrugineum*.

При микроскопическом исследовании пораженный при микроспории волос характеризуется наличием многочисленных мелких круглых спор гриба, диаметром 2-3 мкм, сплошь окружающих волос в основании и тесно прилегающих друг к другу в виде мозаики. Внутри волоса можно обнаружить септированный мицелий. В чешуйках пораженной кожи или в ногте мицелий гриба выглядит в виде тонких ветвящихся септированных нитей. Споры гриба в пушковом волосе располагаются мозаично, вне волоса или же по типу эндотрикса, сплошь заполняя волос параллельными цепочками из мелких спор.

Кандидоз (кандидамикоз)

Возбудителями кандидоза – повсеместно распространенного заболевания являются дрожжеподобные грибы рода *Candida* (наиболее часто встречается вид *Candida albicans*, реже - *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* и т.д.).

Материалом для исследования при кандидозе являются чешуйки кожи и соскоб с ногтей, отделяемое и пленки со слизистой оболочки губ, полости рта, влагалища, мочеиспускательного канала, наружного слухового прохода, а также с конъюнктивы.

Микроскопический метод заключается в изучении неокрашенных и окрашенных по Граму, Романовскому-Гимзе, Цилю-Нильсену препаратов из исследуемого материала, в которых обнаруживают круглые или овальные почкующиеся дрожжеподобные клетки, размером от 3-6 мкм, и псевдомицелий в виде цепочек удлиненных клеток. Некоторые виды дрожжеподобных грибов (*C.albicans*) образуют терминальные хламидоспоры.

По Граму грибы рода *Candida* окрашиваются в темно-фиолетовый цвет, по Цилю-Нильсену - в синий с розово-желтыми включениями липидов, по Романовскому-Гимзе — в розовато-желтый цвет с темно-фиолетовыми включениями волютина и красным хроматиновым веществом.



Рис. Возбудитель кандидамикоза (*Candida albicans*) в исследуемом материале