***КАНДИДОЗ***

**Этиология.**

Кандидоз - микотическая инфекция, вызываемая дрожжеподобными грибами рода Candida, входящего в семейство Cryptococcoceae. К этому роду относятся бесспоровые дрожжи, у которых псевдомицелий может быть хорошо развитым, рудиментарным или вовсе отсутствовать; некоторые виды образуют истинный мицелий.

Candida не образуют каротиноидных пигментов и не формируют капсул. Род Candida включает 163 вида, но основную роль в патологии человека играют ограниченное число видов при резком доминировании C. albicans.

Дрожжевая фаза Candida представлена одноклеточными организмами относительно крупных размеров - 1,5 х 1,5 до 8 х 14 мкм, овальной, округлой или овально-вытянутой формы. Они сравнительно быстро растут на плотных и жидких питательных средах, лучше с добавлением углеводов.

Оптимальная температура роста - 25-28о, патогенные для человека и животных виды хорошо растут при 37о, кардинальные температурные точки - 5-40о, оптимум рН - 5,8 - 6,5, но грибы способны расти при кислых значениях среды (рН - 2,5 - 3,0). Эти грибы - факультативные анаэробы, при этом анаэробный метаболизм особенно характерен для нитчатой фазы. В составе клеточной стенки преобладают углеводы (92%), среди которых манноза составляет 86%, глюкоза - 6%, при этом 96% углеводов связаны с белками гликозидазными связями. В качестве минорных компонентов содержатся Д-галактоза, Д-ксилоза и фосфат, белки составляют лишь 7%. Клеточная стенка содержит хитин, концентрация которого выше в мицелии.

Виды Candida, являющиеся наиболее частыми возбудителями кандидоза, идентифицируются по морфологическим признакам (макро- и микроскопическая картина дрожжевой фазы, характер филаментации) и ферментативной активности. Для идентификации всех видов Candida требуются дополнительные тесты: определение ассимиляции различных источников питания, уреазной активности, толерантности к 50% глюкозе, способности расти на безвитаминных средах, расщепления арбутина, окрашиваемости диазониевым голубым В, ассимиляции гидрохлорида ацетилглюкозамина .

Антигенная структура клеточной стенки дрожжевой фазы Candida представлена в таблице 1.

#### Таблица 1

Антигенная структура основных видов Candida, вызывающих

заболевания человека (Tsuchiya T. et al., 1974)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Виды | Антигены | | | | | | | | | | | | |
| *C. albicans*, серотип А | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | - | - | - | - | 10 | 11 | - | - |
| *C. albicans*, серотип В | 1 | 2 | - | - | 5 | - | - | - | - | 10 | 11 | 12 | 13 |
| *C. stellatoidea* | 1 | 2 | - | - | 5 | - | - | - | - | 10 | 11 | 12 | - |
| *C. tropicalis* | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | - | - | - | - | - | 11 | - | - |
| *C. krusei* | 1 | - | - | - | - | 6 | - | - | - | - | 11 | - | - |
| *C.kefyr (C.pseudotropicalis)* | 1 | - | - | - | - | - | 7 | - | - | - | - | - | - |
| *C.parapsilosis (C.parakrusei)* | 1 | 2 | - | - | - | - | - | 8 | - | 10 | 11 | 12 | 13 |
| *C.guilliermondii* | 1 | 2 | 3 | - | - | 6 | - | - | 9 | 10 | 11 | - | - |

Как видно из таблицы 1, по антигенной структуре Candida являются чрезвычайно гетерогенной группой, внутри которой имеются как родственные, так и обособленные виды. Последнее положение диктует необходимость использования для иммунологических исследований антигенов гомологичного вида. В настоящее время C. stellatoidea, C. claussenii и C. langeronii, в силу высокой степени гомологичности ДНК, отнесены к C. albicans.

При внедрении в ткани дрожжевые клетки C. albicans трансформируются в мицелиальную фазу, для которой характерны уменьшение толщины клеточной стенки и утрата мощного электронно-прозрачного слоя, характерного для дрожжевой фазы. Антигенные отличия поверхностных антигенов двух фаз гриба носят фенотипический характер и сводятся к большей плотности общих антигенов в дрожжевых клетках.

Цитоплазматические белки обеих фаз выявили высокую степень тождества: при трансформации в нитчатую фазу специфические протеины или вовсе не образуются, или синтезируются в малых количествах. При этом допускается возможность модификационной изменчивости белков обеих фаз, что может выражаться в изменении физико-химических свойств при сохранении антигенной специфичности. Попытки использования цитоплазматических антигенов мицелия выявили их меньшую чувствительность по сравнению с антигенами дрожжевых клеток при исследовании сывороток больных инвазивным кандидозом.

**Эпидемиология.**

Candida относятся к условно-патогенным микроорганизмам с высоким уровнем носительства, которое проявляет выраженную тенденцию увеличения: если в 20-е годы оно составляло на слизистой ротовой полости 10%, то в 60 - 70-е годы возросло до 46 - 52%.

На слизистой влагалища небеременных женщин носительство достигает 11 - 12,7%, но резко увеличивается в последней трети беременности, составляя по разным данным 29,3 - 46 - 86%. В фекалиях частота выделения Candida достигает 80%, на неповрежденной коже - до 9,5%. Общий уровень носительства формируется к 16 - 18-летнему возрасту, оставаясь в дальнейшем без существенных изменений.

Первичное инфицирование организма человека происходит в родовых путях матери, о чем свидетельствует высокая частота выделения Candida у новорожденных (до 58%), и почти полное совпадение видового состава Candida у ребенка и матери. Инфицированию способствует увеличенная частота носительства и кандидоза влагалища в последней трети беременности.

Кандидозный вульвовагинит у беременных развивается в 10 - 20 раз чаще, чем в контрольной группе. Предполагают, что беременность является предрасполагающим фактором в развитии кандидоза из-за иммуносупрессивного действия высокого уровня прогестерона и присутствия в сыворотке иммуносупрессивного фактора. Последующая колонизация организма ребенка происходит за счет предметов обихода, рук персонала и пищевых продуктов, в результате чего к концу 1 года почти у 60% детей формируется ГЗТ к антигенам C. albicans.

Новорожденные проявляют высокую чувствительность к экзогенному заражению: у 98,5% инфицированных детей на 5 - 6 день жизни развивается кандидоз ротовой полости. Прогноз заболевания благоприятный, за исключением недоношенных, у которых микоз может приобретать висцеральный и генерализованный характер.

Описан трансплацентарный путь заражения при кандидозе, прогноз которого зависит от степени доношенности: при рождении ребенка после 36 недель беременности заболевание, как правило, протекает в виде легко купируемых поверхностных поражений, а при рождении в более ранние сроки микоз принимает системный характер с высокой летальностью.

**Патогенез.**

Преобладание C. albicans на слизистых связывают с активным прилипанием дрожжевых клеток этого вида к эпителию, которое наиболее интенсивно выражено при 37о и рН 7,3; довольно высокая степень адгезии отмечена и при слабокислых значениях среды (рН 6,0). Таким образом, условия организма способствуют активной колонизации слизистых C. albicans, где этот гриб на поверхности клеток размножается в виде дрожжевой фазы.

Умеренной адгезивной активностью обладают C. tropicalis, слабой - C. parapsilosis (C. parakrusei), практически лишены - C. guilliermondii, C. krusei и C. pseudotropicalis. Степень прилипания колеблется у отдельных лиц (в 3-4 раза), а также у одного и того же субъекта при взятии эпителия влагалища в разные сроки.

Несмотря на различия в оценках степени адгезивности Candida к эпителиальным клеткам слизистых, исследователи едины в том, что C. albicans в ряду изучавшихся видов обладает максимальной прилипающей способностью.

Механизмы, обеспечивающие адгезию, детально не выяснены: установлено, что дрожжевые клетки в стационарной фазе прилипают интенсивнее, чем в фазе логарифмического роста. Это различие может служить отправным пунктом для изучения факторов (или фактора) адгезии, которые, очевидно, имеют большую плотность в стационарной фазе роста гриба.

Показано, что различные виды Candida способны прилипать к фибрин-тромбоцитарному матриксу, при этом одинаковой адгезивностью обладали C. albicans и C. stellatoidea, остальные изученные виды в порядке убывания располагались следующим образом: C. tropicalis, C. parapsilosis, C. pseudotropicalis, C. kefyr, S. cerevisiae, C. guilliermondii, C. krusei; последний вид этого ряда обладал достаточной адгезивностью, хотя уступал эталонному штамму C. albicans (24,2% активности).

При моделировании эндокардита кроликов травмированием эндокарда аортального клапана путем катетеризации через сонную артерию и в/в введения C. albicans, в течение 30 - 90 мин обнаружено прилипание возбудителя к фибрин-тромбоцит-эритроцитарным сгусткам. При этом фагоцитоз, преимущественно мононуклеарный, носил незавершенный характер, и сохранившиеся клетки размножались, образуя дрожжевые и нитчатые формы, на сформированных скоплениях возбудителя вновь оседал фибрин с клеточными элементами, что обеспечивало возбудителю защитный эффект.

Обработка клеток гриба различными дозами протеаз (трипсин, хемотрипсин, проназа) снижала, но не отменяла прилипание к тромбам (снижение на 36,6 - 10,7%), тогда как адгезия убитых нагреванием или формалином клеток уменьшалась почти в 2 раза.

Предварительная обработка Candida хемотрипсином (0,25%) или маннаном (1-10 мг/мл) снижает прикрепление C. albicans к нейтрофилам. В последнее время к рецепторным структурам C. albicans отнесены глико (манно)-протеины, взаимодействующие с фибронектином, ламинином, коллагеном и энтацином клеток макроорганизма.

Роль нерациональной антибактериальной терапии в развитии кандидоза обоснована большим числом исследований, в которых решающее значение придается подавлению нормальной микрофлоры макроорганизма, конкурирующей с Candida за рецепторы слизистых, глюкозу в качестве источника питания и блокирующей проникновение дрожжей через слизистый гель и угнетающей их рост, вероятно, за счет летучих жирных кислот.

Конкурентные взаимоотношения нормальной микрофлоры и Candida подтверждаются более интенсивной колонизацией C. albicans желудочно-кишечного тракта безмикробных цыплят и мышей при нормальной функции тимуса у этих животных.

Одни авторы решающую роль в поддержании микробного биоциноза кишечника отводят облигатным анаэробам, другие признают важное значение как анаэробов, так и аэробов.

Кроме подавления нормальной микрофлоры антибактериальные антибиотики обладают иммуносупрессорным действием.

Клетки C. albicans и ее компоненты оказывают иммуномодулирующий эффект. Совместное культивирование спленоцитов мышей с убитыми клетками гриба снижало в 3 раза их пролиферацию в ответ на ФГА, а также количество антител-синтезирующих клеток.

Малые концентрации маннана (до 100 мкг) снижали антительный иммунный ответ на гетерологичные антигены, а более высокие (500 мкг) его усиливали.

Полисахарид - протеиновый комплекс угнетал фагоцитарную активность моноцитарно-макрофагальной системы, а выделенный из него глюкан стимулировал активность этих же фагоцитов. Но длительная персистенция глюкана в организме приводит к развитию гранулем печени и амилоидоза.

Цельные клетки, клеточные стенки обеих фаз, а также растворимые полисахариды C. albicans активируют систему комплемента по альтернативному пути, при этом активность указанных компонентов гриба выше, чем липополисахарида E. coli.

Некоторые ферменты Candida могут рассматриваться как важные факторы агрессии возбудителя. В мембранах и клеточной стенке C. albicans содержатся фосфолипазы, часть которых секретируется за пределы клетки. По одним данным, фосфолипазная активность присуща только C. albicans, по другим – резко усилена по сравнению с гетерологичными видами. Показана корреляция фосфолипазной активности культур с их адгезией к эпителию и летальностью для животных. Внеклеточное выделение ферментов разрушающимися клетками облегчает инвазию организма жизнеспособными клетками гриба, обладающими меньшей фосфолипазной активностью.

С вирулентностью C. albicans, C. tropicalis и C. parapsilosis связывают протеолитическую активность этих видов: мутанты C. albicans, лишенные секретируемой протеиназы, обладали меньшей вирулентностью по сравнению с исходным штаммом. Этот фермент обеспечивает повышенную устойчивость гриба к фунгицидному действию гранулоцитов и макрофагов. Попытка использования экзоклеточной протеиназы в серодиагностике кандидоза показала, что 11% сывороток больных некандидозной природы, которые не дали реакции преципитации с цитоплазматическим антигеном, преципитировали этот фермент.

C. albicans в питательной среде, содержащей роговой слой человека, выделяет протеиназу, способную расщеплять кератин и в меньшей степени - роговой слой кожи: человеческие волосы устойчивы к действию этого фермента.

Исследования авторов расширили представления о токсических субстанциях Candida: были выделены и охарактеризованы кандитоксин, гликопротеиновый и низкомолекулярные токсины, но их патогенетическое значение остается невыясненным.

Длительное время было общепринятым мнение о решающей роли Т-системы в защите макроорганизма при диссеминированном кандидозе. Этому способствовали результаты опытов, выявивших снижение резистентности у неонатально тимэктомированных мышей, но при этом игнорировался тот факт, что разрешающее в/в заражение осуществлялось на фоне развившегося синдрома истощения (wasting - синдром).

Многочисленные опыты о влиянии индуцированной ГЗТ на резистентность к парентеральному заражению дали противоречивые результаты. Протективный эффект был получен только в тех случаях, когда иммунизация приводила к нейтрофилезу, что требовало введения больших доз вакцины. Индуцированная ГЗТ без сопутствующего нейтрофилеза заитного действия не оказывала.

Адоптивный перенос ГЗТ селезеночными клетками от зараженных в/м мышей или иммунизированных убитыми клетками гриба не увеличивал устойчивости реципиентов к разрешающему заражению.

Установлена возможность частичной защиты мышей, иммунизированных рибосомальной фракцией C.albicans. Защитное действие вакцины усиливалось полным адъювантом Фрейнда и было выражено как при в/в, так и в/б заражении.

Повышенную устойчивость к в/в заражению бестимусных мышей связывают с увеличенным содержанием нейтрофилов по сравнению с нормальными животными тех же линий. Экспериментально вызванная нейтропения снижала резистентность животных при парентеральном заражении, что выражалось в уменьшении средней продолжительности жизни, резком снижении LD50, увеличении обсемененности грибом внутренних органов.

По клиническим данным, чувствительность к кандидозу возрастает при нейтро- или моноцитопении, либо при снижении функциональной активности этих клеток. У лейкемических больных с нейтропенией кандидозные поражения возникают на слизистых, приобретая затем генерализованный характер. Роль нейтрофилов в защите макроорганизма подтверждается клиническим эффектом их введения больным системным и кожно-слизистым кандидозом на фоне нейтропении.

Хемотаксис нейтрофилов в места фиксации гриба в тканях носит комплемент-зависимый характер за счет как классического, так и альтернативного путей активации. Маннан клеточной стенки C.albicans подавляет подвижность нейтрофилов, но, будучи преинкубирован в нормальной сыворотке, вызывает положительный хемотаксис.

Фунгицидная активность нейтрофилов в первую очередь зависит от механизма окислительного киллинга, включающего НАДФ· Н (НАД· Н?)-оксидазы и миелопероксидазную систему (МПО). При хронической гранулематозной болезни (ХГБ), характеризующейся отсутствием НАДФ· Н-оксидазы, резко снижен внутриклеточный киллинг различных микроорганизмов, в том числе и C.albicans, что приводит к генерализованному кандидозу.

Дефицит миелопероксидазы вначале воспринимался как фатальный, но затем было установлено, что около 0,025% людей лишены этого фермента, но остаются практически здоровыми. Роль системы МПО неоднозначна для разных видов Candida: через 3 часа инкубации процент гибели грибов в нормальных нейтрофилах составил для C. albicans и C. pseudotropicalis соответственно 50,2 ± 2,7% и 98,5 ± 2,7%, а в дефицитных по МПО - 10,7 ± 1,1% и 98,5 ± 0,7%.

Маннан C. albicans способен взаимодействовать с МПО, вызывая дозозависимый эффект угнетения фунгицидной активности нейтрофилов, не влияя при этом на поглотительную способность.

Кандидоцидность человеческих нейтрофилов усиливал интерлейкин-1, контакт с которым необходим в течение 2 час, а максимум стимуляции отмечен через 4-6 час инкубации.

Из гранулоцитов кролика выделено 6 пептидов, 3 из которых (1-3) угнетали рост C. albicans, а один (5), будучи автономно неактивным, усиливал действие предыдущих пептидов.

Высокой кандидоцидной активностью обладают моноциты (гибель 50,6 ± 6,6% поглощенных клеток C. albicans), которая возрастала при совместной инкубации моноцитов и нейтрофилов (63,4 ± 10,2%). В свою очередь, моноциты усиливают фагоцитоз и внутриклеточное переваривание C. albicans нейтрофилами.

Нарушения подвижности нейтрофилов у больных кандидозом встречаются редко и обусловлены их врожденными дефектами, либо дисбалансом регуляторных факторов плазмы. Крайне немногочисленны сообщения о снижении хемотаксиса моноцитов при кандидозе.

Большинство исследователей считают, что макрофаги по фунгицидной активности значительно уступают гранулоцитам и моноцитам (процент гибели клеток C. albicans - 10 - 20%, при увеличении инкубации с 1 до 4 час - до 28,1%). К концу 2 часов инкубации жизнеспособные клетки гриба формировали “ростковые трубки”, повреждавшие мембрану макрофагов, в результате чего после 12 час инкубации погибало 30% этих фагоцитов, а после 24 час - около 50%.

У иммунных животных снижался процент прорастающих внутри макрофагов клеток C. albicans. Выявлена почти 2-кратная стимуляция кандидоцидной активности перитонеальных макрофагов после введения мурамилдипептида и его аналогов.

Разрушение мицелиальных нитей осуществляется за счет поверхностного фагоцитоза, при этом в зоне контакта гриба и фагоцита обнаруживаются супероксидные соединения, лизосомальные ферменты, снижается рН среды.

Натуральные киллеры (НК), по мнению большинства специалистов, автономно не подавляют рост C. albicans, но после их инкубации с клетками гриба надосадочная жидкость усиливала фунгицидность гранулоцитов. Отсутствует корреляция между антиопухолевой активностью НК и кандидоцидностью спленоцитов разных линий мышей. Атрансферринемия - редкий дефицит, чаще имеет место насыщение валентностей этого белка трехвалентным железом при различных гемолитических состояниях, в результате чего несвязанное железо стимулирует рост микроорганизмов, в том числе и Candida.

У значительной части больных хроническим кожно-слизистым кандидозом (ХКСК) отмечены дефекты Т-системы широкого диапазона. Эта форма микоза развивается при аплазии или гипоплазии тимуса (синдром Ди Джорж), синдроме Незелова, болезни Ходжкина.

Описано сочетание ХКСК, миозита и тимомы. Распространенный кандидоз развился через 11 лет после появления признаков миозита. На фоне выраженного аутоиммунного процесса у больной отсутствовала ГЗТ к кандидину, трихофитину, антигенам стрептококка и вируса паротита.

Наиболее частой аномалией является избирательное отсутствие клеточных реакций на антигены возбудителя, регистрируемые внутрикожной пробой, РБТ или по подавлению миграционной активности макрофагов (MIF).

Дефект Т-системы может выражаться в отсутствии ГЗТ не только на антигены Candida, но и на широко распространенные антигены (вируса паротита, дерматофитов, стрептококков и т.д.), а также отсутствием сенсибилизации к динитрохлорбензолу.

У некоторых больных клеточные реакции восстанавливались после успешного лечения антифунгальными антибиотиками.

Сыворотка или плазма значительной части больных ХКСК оказывают угнетающее действие на Т-лимфоциты. У некоторых больных супрессия ограничивалась антигенами гриба, у других - распространялась на неспецифические митогены и аллогенные клетки. У части больных супрессорная активность сыворотки исчезала после лечения амфотерицином В.

У большинства больных ХКСК антительный ответ на антигены гриба был нормальным или даже усиленным.

Закономерное возникновение рецидивов, несмотря на временную нормализацию иммунологических показателей, позволяет считать, что иммунодефицит у этих больных носит не функциональный, а первичный характер.

У части больных ХКСК не удалось выявить каких-либо дефектов иммунитета.

Патогенетическую роль в развитии кандидоза может играть длительное применение цитостатиков и кортикостероидов. Следует помнить, что человек относится к кортизон-резистентным видам, поэтому продолжительное лечение кортикостероидами вызывает в первую очередь угнетение функциональной активности гранулоцитов.

Кандидоз слизистых развивается при СПИДе, составляя в структуре микотических осложнений 80 - 90%. В США среди зарегистрированных в 1983-84 гг. 3170 больных СПИДом кандидоз слизистой ротовой полости и глотки выявлен у 41,9%, а в 9,4% - кандидозный эзофагит.

Французские исследователи установили кандидозные поражения у 41% ВИЧ-позитивных лиц, меньшая частота кандидоза (27%) отмечена у аналогичной категории больных в Центрально-Африканской Республике.

Примерно у 25% инфицированных вирусом женщин, наряду с поражениями ротовой полости, наблюдается кандидозный вагинит.

В желудочно-кишечном тракте кандидоз распространяется по протяжению. Легочные поражения возникают в результате аспирации грибов из ротовой полости или гематогенного распространения и носят ограниченный характер в виде поражения отдельных бронхиол или немногочисленных альвеол. Грибы могут внедряться в ткани вторично, проникая через эрозии, вызванные герпетической инфекцией.

У ВИЧ-серопозитивных лиц увеличена частота носительства Candida на слизистой ротовой полости (77,8%), при этом почти у половины носителей (49,1%) в смывах выявлена мицелиальная форма гриба без каких-либо клинических проявлений кандидоза. Сведения о корреляции частоты носительства и увеличения количества Т-лимфоцитов с маркерным белком СД8 противоречивы.

По данным H.Korting с соавт. (1988), оральный кандидоз отсутствовал у больных в латентной стадии ВИЧ-инфекции и регистрировался у 35,3% лиц со СПИД-связанным комплексом, а также у 54,2% больных с манифестной формой СПИД. У большинства больных с оральным кандидозом соотношение СД4:СД8 было ниже 0,5 и лишь у одного коэффициент превышал единицу.

Кандидоз слизистых при невыясненном патогенезе (отсутствие в анамнезе терапии цитостатиками, антибактериальными антибиотиками, нормальный эндокринный статус) является маркером СПИДа. Хотя вскрытия погибших от СПИД выявляют до 20% диссеминированный кандидоз, причиной смерти у большинства больных являются вторичные инфекции, опухоли и кахексия.

По сравнению с другими иммунодефицитными состояниями, кандидоемия, несмотря на интенсивную колонизацию слизистой орофарингса, встречается на фоне СПИДа редко и лишь в терминальной стадии заболевания. Причинами диссеминации являются нейтропения, антибиотическая терапия, в/в катетеры.

Развившийся кандидоз вызывает дополнительную иммуносупрессию, поэтому требует антифунгального лечения. Иммуносупрессорной активностью обладают маннан и гликопротеин C. albicans.

Несмотря на единичные сообщения о лечебном эффекте гипериммунных сывороток при кандидозе, общепринято мнение о неспособности антител и комплемента вызвать лизис клеток Candida, но оба фактора оказывают опсонизирующее действие. Усиливая фагоцитоз клеток гриба, антитела в высоких титрах подавляют внутриклеточный киллинг возбудителя.

Некоторые авторы считают, что специфические антитела препятствуют диссеминации возбудителя из поверхностных поражений.

Показано, что иммунные сыворотки и иммуноглобулины подавляют процесс прикрепления Candida к фибрин-тромбоцитарным сгусткам, что может иметь существенное значение при парентеральном проникновении возбудителя в плане предупреждения кандидозного эндокардита.

Разноречивы данные разных исследователей о защитной роли секреторного IgA: при кандидозе слизистых отмечено как снижение, так и повышение его концентрации.

Важное значение в развитии кандидоза имеют эндокринопатии: сахарный диабет, гипопаратиреоидоз, сочетание гипоадренокортицизма, гипопаратиреоидоза, которые с поверхностным кандидозом были объединены в единый синдром. Описан новый синдром - поверхностный кандидоз на фоне гипотиреоза наследственного доминантного типа. Систематическое (до 1 года) использование контрацептивов гормональной природы приводит к увеличению как частоты носительства, так и кандидоза влагалища.

Локальные кандидозные поражения возникают из-за нарушения целостности эпителиальных покровов (язвенные поверхности, мацерации, микротравмы).

При парентеральном проникновении возбудителя в результате оперативных вмешательств на органах брюшной полости и сердце, использования аппаратов экстракорпорального кровообращения, длительного парентерального питания, зондирования сосудов и полостей сердца, нарушения асептики при инъекциях (наркоманы) развивается генерализованная форма кандидоза у лиц с нормальным иммунным статусом. При экзогенном попадании гриба в организм основную защитную роль выполняют фагоциты, в первую очередь нейтрофилы.

Поверхностные поражения слизистых могут переходить в диссеминированную форму, если снижается неспецифическая защита макроорганизма, обеспечиваемая фагоцитами, как это имеет место при лейкемиях и в терминальной фазе СПИДа. Лимитирующее влияние ГЗТ в плане возможной диссеминации гриба из первичного очага демонстрируется характером клеточного инфильтрата при гиперпластическом хроническом кандидозе слизистой рта, в котором преобладали Т-клетки (53,9%), макрофаги и В-клетки составили соответственно 14,2% и 8,2%.

Коррекция иммунной системы определяется характером иммунодефицита. При избирательной анэргии к антигенам Candida используют трансфер-фактор или переливание крови (лейкоцитарной взвеси) иммунного донора. Положительная ГЗТ появляется через 12-18-24 часа и сохраняется до 1 года, а иногда до 2 лет.

При снижении функциональной активности или количества Т-лимфоцитов применяют тимические гормоны и левамизол. В случаях аплазии тимуса прибегают к трансплантации эмбрионального тимуса. Для купирования кандидозного процесса коррекцию иммунной системы необходимо сочетать с антифунгальной терапией (амфотерицин В, имидазольные препараты).

Иммунодиагностика нарушений при кандидозе включает общую оценку иммунного статуса (количественное определение Т- и В-лимфоцитов, функциональная активность на неспецифические митогены) и выявление избирательного иммунодефицита на антигены гриба (в/к проба, РБТ, продукция MIF).

При оценке Т-системы у некоторых больных отмечены расхождения между результатами отдельных тестов: при отрицательной в/к пробе с антигеном может регистрироваться нормальная продукция MIF.

Негативная в/к проба или сниженная продукция MIF может сочетаться с выраженной РБТ на антигены возбудителя. Положительный в/к тест при отсутствии РБТ свидетельствует о развитии у больного феномена Артюса, но не ГЗТ к антигенам гриба.

У больных ХКСК, в отличие от здоровых лиц, отсутствует зависимость интенсивности ГЗТ и РБТ на специфический антиген.

**Характеристика отдельных видов Candida.**

1. C. albicans на плотной среде образует выпуклые колонии белого или кремового цвета сметанообразной консистенции; дрожжевые клетки овальной или удлиненно-овальной формы размером 2,9 - 7,2 х 2,9 - 14,4 мкм, филаментируют неравномерно, скопления дрожжевых клеток (гломерулы) сильно преломляют свет и имеют почти черную окраску. Преобладает шаровидный тип роста, причем гломерулы из-за тесного прилегания друг к другу в процессе роста деформируют свою первоначальную шарообразную форму. По периферии нитей встречается тип Candida, может выявляться и крыловидный тип.

По мере истощения в среде глюкозы (через 4 - 7 сут) или на специальных средах (рисовый агар) на терминальных нитях псевдомицелия образуются хламидоспоры - двуконтурные образования с зернистым содержимым. В месте прикрепления хламидоспоры иногда образуется утолщение - протохламидоспора. Диаметр хламидоспор почти в 2 раза превосходит поперечник несущей клетки.

Клетки C. albicans в жидких белковых средах (сыворотка, плазма или яичный белок в разведениях 1:2 - 1:10) в течение 2 - 4 ч при 37оС прорастают, образуя короткие нити (“ростковые трубки”). Этот феномен, получивший название RB-фактора, обнаруживается у подавляющего большинства штаммов C. albicans, но не является строго специфичным для этого вида, т.к. морфологически сходную картину дают некоторые другие виды Candida и истинные дрожжи. Редкие штаммы C. albicans, не образующие “ростковых трубок”, являются авирулентными.

Ранее описываемые виды C. stellatoidea, C. claussenii и C. langeronii - в настоящее время рассматриваются как штаммные типы C. albicans: высокая степень сходства ДНК этих грибов была установлена методом реассоциации.

2. C. tropicalis образует кремовые, белые или серые колонии, гладкие или складчатые. Дрожжевые клетки овоидной формы размером 4,3 - 7,2 х 5,8 - 10,8 мкм. Псевдомицелий обильный, состоящий из длинных разветвленных нитей. Преобладающий тип роста - Mycotoruloides, встречается тип Candida и редко - шаровидный.

3. C. krusei. Колонии плоские, белого или матового цвета, вуалеобразные, с неровными краями, мягкой консистенции. На жидкой среде образуется нежная пленка и высокое пристеночное кольцо. Дрожжевые клетки овальной, удлиненной или цилиндрической формы размером 2,2 - 5,6 х 4,3 - 15,2 мкм, расположение одиночное или в виде цепочки. Обильный псевдомицелий быстро и равномерно образуется вдоль штрихового посева. Преобладает тип роста Mycocandida, но встречаются типы Mycotoruloides и Candida.

4. C. kefyr (C.pseudotropicalis). Колонии от кремового цвета до желтоватого, мягкой консистенции, поверхность гладкая или тонкосетчатая. Дрожжевые клетки овоидной формы размерами 2,5 - 9 х 5 - 15 мкм. Интенсивность филаментации варьирует у разных штаммов, преобладающий тип роста - Mycocandida.

5. C. parapsilosis. Колонии от кремовой до желтой окраски, мягкие, у большинства штаммов гладкие, у некоторых - частично или полностью складчатые. Дрожжевые клетки овальные, элипсоидные или вытянутые, размеры 2,9 - 4,3 х 3,6 - 7,2 мкм. Преобладающий тип роста Mycocandida, C. parapsilosis - частый возбудитель онихомикоза.

6. C. guilliermondii. Колонии желто-кремового цвета, с гладкой и блестящей поверхностью, мягкой консистенции. Встречаются варианты с матовой поверхностью и исчерченностью. Дрожжевые клетки сравнительно мелкие (2 - 4,5 х 2,5 - 7 мкм), чаще овоидной, реже цилиндрической формы.

Степень развития псеводмицелия варьирует у разных штаммов. В терминальных участках преобладает тип Candida, образующиеся по ходу нитей гломерулы имеют шаровидную форму, иногда напоминают гроздь винограда. Из-за слабого преломления света в составе гломерул хорошо видны мелкие дрожжевые клетки круглой формы.

7. C. catenulata (C. brumptii). Колонии мягкой консистенции со складчатой поверхностью, тусклой окраски - от сероватой до кремовой.

Дрожжевые клетки овоидные или удлиненные, часто грушевидные или изогнутые (“сосискообразной” формы). Размеры: 1,5 - 5,5 х 2,9 - 8,8 мкм.

Тип роста - Candida. Псевдомицелий состоит из разветвленных нитей коротких псевдогиф или длинных овоидных клеток. Псевдогифы часто искривленной или волнообразной формы, нередко с разбухшими поперечными участками.

8. C. glabrata. Образует глянцевые гладкие колонии кремового цвета и мягкой консистенции. Клетки овоидные размером 2,5 - 4,5 х 4 - 6 мкм. Псевдомицелия не образует. Некоторые штаммы образуют немногочисленные разветвленные нити, состоящие из овоидных клеток.

9. C. lambica. На плотной среде образует кремовые гладкие блестящие колонии мягкой консистенции. Некоторые штаммы формируют шероховатые тусклые колонии. Псевдомицелий хорошо развит, ветвящиеся нити состоят из удлиненных клеток, в местах сочленения которых образуются круглые и овальные дрожжевые клетки, их скопления или короткие цепочки.

На жидкой среде клетки овоидной формы, размеры которых составляют 3,6 - 5,8 х 7,2 - 11,6 мкм. При выращивании в течение 3 суток при 25о образует поверхностную пленку.

10. C. lusitaniae. Образует кремовые блестящие колонии с гладкой поверхностью мягкой консистенции. Псевдомицелий хорошо развит и состоит из разветвленных тонких нитей, по ходу которых образуются короткие цепочки бластоспор в виде вертицилл. Клетки шаровидной или овоидной формы размером 1,5 - 6,0 х 2,5 - 10,0 мкм, располагаются единично, парами или в виде коротких цепочек.

11. C. rugosa. Большинство штаммов образуют морщинистые колонии, но встречаются варианты с частично или полностью гладкой поверхностью. Окраска варьирует от грязно-белой до серо-желтой. Примитивный сильно разветвленный псевдомицелий образуется в большом количестве. Он может состоять целиком из коротких нитей. Бластоспоры или отсутствуют, или представлены в незначительном количестве. Форма клеток от овоидной до удлиненной, иногда сосискообразная или изогнутая. Размеры клеток составляют 2,5 - 4 х 7 - 15 мкм.

12. C. utilis. Гладкие колонии мягкой консистенции, окраска от сероватой до кремовой.

Дрожжевые клетки от овоидной до цилиндрической формы (3,5 - 4 х 7 - 13 мкм). Образует примитивный псевдомицелий, состоящий из грубых коротких ветвлений, несущих редкие овоидные клетки.

13. C. viswanathii. Образует тускловатые кремовые колонии, мягкие, пленчатые или морщинистые. Клетки шаровидные, овальные или цилиндрические, размером 2,5 - 7 х 4 - 12 мкм.

Псевдомицелий представлен гифами различной длины с разнообразным ветвлением (ветви отходят от магистральных нитей под разными углами). В местах ответвлений образуются короткие цепи из овальных бластоспор.

14. C. zeylanoides. Колонии плоские с гладкой маслянистой поверхностью мягкой консистенции, окрашенные от кремового до желтого цвета.

#### Таблица 2

##### Ферментативные свойства Candida

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | С А Х А Р А | | | | | |
| ВИДЫ | глюкоза | мальтоза | сахароза | лактоза | галактоза | трегалоза |
| 1. *C. albicans* | + | + | -(+) | - | + | + |
| 2*. C. tropicalis* | + | + | +(-) | - | + | + |
| 3. *C. krusei* | + | - | - | - | - | - |
| 4. *C. kefyr*  *(C. pseudotropicalis)* | + | - | + | в | + | - |
| 5. *C. parapsilosis* | + | -(+m) | -(+с) | - | в | - |
| 6. *C. guilliermondii* | + | - | + | - | в | + |
| 7. *C. catenulata* | в | - | - | - | - | - |
| 8. *C. glabrata* | + | - | - | - | - | +(+с) |
| 9. *C. lambica* | + | - | - | - | - | - |
| 10. *C. lusitaniae* | + | -(+в,с) | +(+m) | - | в | + |
| 11. *C. rugosa* | - | - | - | - | - | - |
| 12. *C. utilis* | + | - | + | - | - | - |
| 13. *C. viswanathii* | + | + | -(+m) | - | +(m) | +(+с) |
| 14. *C. zeylanoides* | -(+m) | - | - | - | - | -(+m) |

Условные обозначения:

+(-) - реакция положительная, но у некоторых штаммов отрицательная

-(+) - реакция отрицательная, но у некоторых штаммов положительная

в - активность варьирует у разных штаммов

с - реакция слабо выраженная

m - реакция замедленная, проявляется после 7 дней

Псевдомицелий представлен цепочками клеток, часто изогнутых, на которых образуются одиночные или в виде мелких скоплений шаровидные, овальные или вытянутые бластоспоры. Более крупные бластоспоры образуются в проксимальных участках псевдомицелия. При малом увеличении псевдомицелий выглядит как пероподобная структура. Клетки представлены от коротких до длинных овоидов, размером 2,9 - 5,8 х 5,0 - 10,8 мкм.

**Лабораторная диагностика.**

Полиморфизм клинических проявлений заболевания кандидозом обусловливает разнообразие патологического материала, подлежащего лабораторному исследованию. В зависимости от характера и локализации поражения, для лабораторного анализа берут мокроту, соскобы с кожи или слизистых оболочек, ногтевые чешуйки, кровь, ликвор, мочу, желчь, фекалии, пунктаты из закрытых полостей, отделяемое свищей, биопсированный и секционный материал.

Вначале производят исследование нативного материала (за исключением крови); при этом ликвор, мочу и желчь подвергают предварительному центрифугированию (1500 - 2000 об/мин, 10 - 15 мин). препараты готовят в 10 - 20% растворе щелочи при слабом нагревании.

Обнаружение нитчатой фазы возбудителя (мицелия или псевдомицелия) является важным свидетельством наличия кандидоза. Количество дрожжевых клеток в каждом поле зрения служит ориентиром при подготовке серийных разведений для количественного посева на плотные питательные среды: единичные клетки в поле зрения при большом увеличении микроскопа (х400) свидетельствуют о их содержании порядка десятков тысяч в 1 мл исследуемого материала.

Разведения патологического материала, содержащего нормальную микрофлору (мокрота, фекалии, моча, желчь и т.д.), готовят в жидкой питательной среде (обычно жидкое сусло или жидкая среда Сабуро) и высевают определенное количество (0,1 - 0,2 мл) на аналогичные плотные среды. Для подавления роста контаминирующих бактерий в среды добавляют антибактериальные антибиотики (чаще всего пенициллин и стрептомицин - по 50 - 100 ед/мл среды или 0,05% хлорамфеникола).

Если вместо соскобов использованы смывы, то тампоны предварительно встряхивают в течение нескольких минут в 5 - 7 мл жидкой питательной среды, а затем производят посев на плотные среды определенного объема соответствующего разведения исходной взвеси.

Соскобы с кожи и ногтевых пластинок помещают на скошенные питательные среды. Посев крови и ликвора производят в 10-кратный объем жидкой среды Сабуро или МПБ с 2% глюкозы без добавления антибиотиков, т.к. кандидозная фунгемия иногда сочетается с бактериальным сепсисом. Более высокую эффективность выделения грибов из крови удалось обеспечить при использовании комбинированной сердечно-мозговой среды. Посев крови делают 3 - 4-кратно, осуществляя забор из разных вен с интервалом в несколько дней при отсутствии парентерального питания или капельного введения лекарственных веществ. При наличии у больного фунгемии рост грибов появляется через 24 - 48 ч, максимальная инкубация - до 30 сут. при периодических пересевах на плотную питательную среду.

Биопсированный и секционный материал используют для приготовления гистологических препаратов (окраска PAS-методом), а остатки материала высевают (методом отпечатков или после предварительного измельчения) на плотные и в жидкие среды.

Инкубацию предпочтительнее проводить при 25 - 30оС, хотя патогенные для человека виды грибов хорошо растут и при 37оС. Достаточных размеров колонии формируются через 48 ч культивирования, хотя точечный рост можно обнаружить уже на следующий день после первичного посева.

При отсутствии роста на агаровых средах делают высев с жидких питательных сред на сектора для получения изолированных колоний.

При исследовании мочи наряду с культуральным методом рекомендуется дополнительное исследование, имеющее целью выявление иммуноглобулинов человека на поверхности бластоспор. Для этого около 5 мл второй порции мочи центрифугируют в течение 5-10 мин при 1500 об/мин и из осадка готовят нативные препараты и мазки, окрашенные по Граму, а также препараты для иммунолюминесцентного исследования. В последнем случае фиксацию осуществляют метанолом, а после высушивания мазка наносят антисыворотку против глобулинов человека, меченную и изотиоцианатом флюоресцеина.

По нашим данным, в осадке мочи больных мочекаменной болезнью нередко (около 7% проб) присутствуют клетки золотистого стафилококка, которые за счет наличия у них белка А неспецифически связывают Fc-фрагменты IgG, что может привести к получению ложноположительных результатов реакции иммунолюминесценции. При выявлении грамположительных кокков для блокировки белка А нами рекомендовано к осадку мочи добавлять равный объем кроличьего глобулина с концентрацией белка 1,0 мг/мл. После инкубации смеси при 37оС в течение 30 мин и 3-кратного промывания осадка фосфатным буферным раствором готовят мазки и фиксируют их метанолом. Предварительная обработка кроличьим глобулином взвесей золотистых стафилококков (100-500 млн/мл) подавляла их неспецифическую флюоресценцию.

Выявление светящихся дрожжевых клеток при параллельном обнаружении дрожжей в нативном и окрашенном по Граму препаратах свидетельствует о том, что они несут на своей поверхности специфические глобулины, т.е. о наличии у больных тканевых поражений. Положительный антиглобулиновый тест свидетельствует о кандидозном поражении мочевыводящих путей. Контролем для исключения аутофлюоресценции дрожжевых клеток является исследование неокрашенного препарата.

Видовое определение выделенных культур является важным критерием диагностики и имеет комплексный характер, включающий изучение внешнего вида колонии, ферментативной активности и ассимиляционной способности штамма, типа филаментации, а также характера роста в жидкой питательной среде (наличие поверхностной пленки, поднимающееся по стенке пробирки над поверхностью среды кольцо и т.д.).

Большинство патогенных для человека видов грибов рода Candida может быть идентифицировано без постановки ассимиляционного теста.

Из-за резкого преобладания C. albicans у больных и миконосителей, у выросшей культуры прежде всего выявляют наличие характерного морфологического признака этого вида - хламидоспоры. С этой целью производят прерывистый штриховой посев на рисовый агар, часть посева покрывают фламбированным покровным стеклом. Посевы инкубируют при 37оС или при 22оС. Подавляющее большинство штаммов C. albicans образуют хламидоспоры через 12-24 ч, реже - через 48 ч.

Выявление хламидоспор позволяет идентифицировать культуру как C. albicans и не проводить дальнейших исследований.

Культуры, у которых хламидоспоры выявить не удалось, исследуют по комплексу признаков. Ферментативную активность определяют на обычных средах “пестрого ряда” или в дрожжевом аутолизате, в которых конценирация углеводов должна составлять 2%. Инкубацию проводят при 25-28оС.

Некоторые штаммы могут вызывать ферментацию в поздние сроки (10-20 дней), поэтому для ускорения процесса рекомендуют использовать агаризованные Среды (0,1-0,15% агар-агара); при этом срок наблюдения сокращается до 2 дней.

При постановке ассимиляционного теста в стерильную чашку Петри вносят 1-2 мл взвеси культуры, которую заливают 18-20 мл базовой Среды с добавлением дрожжевого аутолизата, охлажденной до 43-45о (см. раздел “Питатальные среды”). После застывания агара его подсушивают и на поверхность наносят стерильные диски фильтровальной бумаги, пропитанной 20% или насыщенным раствором изучаемого источника питания. Можно также на поверхность агара наносить небольшие количества нерастворенного источника питания.

Чашки инкубируют в перевернутом виде при 25-28оС; в положительных случаях в течение 2-4 дней вокруг источника питания обнаруживается рост культуры гриба.

Для выявления типов роста посев осуществляется на картофельный агар с 1% глюкозы методом “врезания”: микологическую лопатку с биомассой культуры погружают на 1/3 толщины агара, причем посев делают в виде двух сходящихся, но не пересекающихся лучей. Чашки инкубируют в течение суток при 37оС, а затем при 25оС. Нитчатая форма образуется в толще агара по периферии посева в течение 3-7 дней.

При задержке филаментации культуру засевают на среду Городковой, посевы инкубируют при 22оС в течение 10-15 дней, периодически исследуя для выявления аскоспор. Наряду с микроскопическим исследованием нативных препаратов, мазки окрашивают по Цилю-Нильсену; при этом кислотоустойчивые споры воспринимают рубиново-красную окраску. Эффективное окрашивание спор истинных дрожжей достигается при использовании 2% водного раствора фуксина.

В последнее десятилетие разработан ряд автоматизированных систем для видовой идентификации грибов рода Candida, в основу которых положено определение ассимиляционной способности изучаемых культур.

Каждая лунка содержит определенный источник питания, посевы инкубируются при 30оС в течение 24 ч. Помутнение среды свидетельствует об ассимиляции данного источника питания, регистрация результатов производится фотометрически. При помощи компьютера по нумерационно-кодовому принципу осуществляют видовое определение штамма.

Французские исследователи сопоставили результаты определения 560 штаммов грибов рода Candida классическим методом и при помощи шести автоматизированных систем, при этом процент совпадений колебался от 68-75% до 87-93%.

###### Серологическая диагностика.

Высокую диагностическую значимость имеет реакция непрямой иммунолюминесценции. У большинства здоровых лиц ее интенсивность составляет 1:10 - 1:20, диагностическим считается титр 1:80 и более.

Для реакции агглютинации частиц латекса, сенсибилизированных соматическими антигенами, диагностическим считают титр 1:8; у больных с выраженной иммуносупрессией диагностическое значение имеет 4-кратное увеличение титра в процессе заболевания. Для поиска антигенов гриба используют частицы латекса, сенсибилизированные антителами, но во избежание ложноположительных результатов, в сыворотке должен отсутствовать ревматоидный фактор.

При использовании встречного иммуноэлектрофореза выявление 2 и более дуг преципитации имеет диагностическую ценность. У здоровых лиц, а также у больных поверхностным кандидозом дуги преципитации, как правило, отсутствуют.

При перекрестном иммуноэлектрофорезе у больных висцеральным кандидозом выявляется в среднем 10 дуг преципитации (пределы колебаний - 5-20), при кандидозном эндокардите - около 8 (1-11), а в контрольной группе - 2 (0-5). Специфичность метода увеличивается при использовании промежуточного геля с конкавалином А, который связывает маннан, содержащийся в виде примеси в препаратах соматических антигенов.

Большую ценность, чем титрование антител, имеет определение в сыворотке циркулирующих антигенов гриба, особенно цитоплазматических. Определение антигенов осложняется формированием в сыворотке иммунных комплексов. Полисахаридные антигены высвобождаются из этих комплексов кипячением, для белковых антигенов методы выделения не разработаны.

При диссеминированном кандидозе маннан выявляют у 50-70% больных при его отсутствии у здоровых лиц, что придает находке диагностическую значимость.

Методом газо-жидкостной хроматографии в сыворотке определяют метаболиты гриба - маннозу и арабинитол. Определение сывороточного содержания арабинитола основывается на способности некоторых видов (C. albicans, C. tropicalis, C. pseudotropicalis, C. parapsilosis) синтезировать это вещество. При почечной недостаточности рекомендуется одновременное определение концентрации арабинитола и креатинина, так как скорость выделения этих веществ одинакова.

**Критерии диагностики кандидоза.**

1. Выявление возбудителя в стерильных жидкостях (кровь, ликвор), пунктатах закрытых полостей (плевральная полость или абсцессы, не сообщающиеся с поверхностью кожи и слизистых оболочек), а также в биопсированном материале (гистологически или методом посева).

2. Обнаружение в патологическом материале нитчатой формы Candida (истинного мицелия или псеводмицелия).

3. Повторные выделения одного и того же вида гриба в больших количествах из очагов поражения (слизистые оболочки, кожа и ее придатки; абсцессы, открывающиеся свищами).

4. Обнаружение в моче грибов рода Candida в высоких концентрациях (104 клеток и более в 1 мл), положительный антиглобулиновый тест (иммунолюминесцентное выявление антител на поверхности дрожжевых клеток).

5. Наличие преципитирующих антител в сыворотке при использовании для их выявления цитоплазматического антигена (встречная иммунодиффузия, встречный или перекрестный иммуноэлектрофорез).

6. Обнаружение в сыворотке антигенов гриба.

7. Диагностика путем лечения - клиническое улучшение, сопровождающееся уменьшением концентрации возбудителя в патологическом материале.

###### Питательные среды.

Сусло-агар. Неохмеленное сусло разводят водопроводной водой до 7о плотности по Баллингу (показатель концентрации экстрактивных веществ), добавляют 1,8-2% агар-агара, который растворяют при нагревании среды в автоклаве. Горячую среду фильтруют через марлю и стерилизуют при 110о 15 мин.

Среда Сабуро готовится на дистиллированной воде с добавлением 4% глюкозы или мальтозы, 1% пептона и 1,8-2% агар-агара, рН 6,6 - 7,2; стерилизуют при 110о 15 мин. Для подавления бактериальной флоры в охлажденный до 43-45о агар асептически вносят растворы антибиотиков: пенициллин и стрептомицин до конечной концентрации 50-100 ЕД/мл; 20-50 мкг/мл хлорамфенокола. Жидкое сусло и жидкую среду Сабуро готовят по тем же прописям, но без добавления агар-агара.

Картофельный агар. 100 г очищенного и мелко нарезанного картофеля помещают в 1 л водопроводной воды, доводят до кипения и варят 40 мин. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, доводят объем до 1 л, затем добавляют 1,8-2% агар-агара и стерилизуют при 120о 15 мин. Среду осветляют, фильтруют, доводят рН до 6,8 - 7,2. Добавляют 2% глюкозы и разлитую по флаконам среду стерилизуют при 110о 15 мин.

Рисовый агар. 20 г. белого риса заливают 1 л водопроводной воды, доводят до кипения, затем выдерживают на малом огне 45 мин, фильтруют, доводят объем водой до 1 л, вносят 18-20 г агара, растворяя его кипячением. Среду разливают в пробирки и стерилизуют при 120о 15 мин.

Среда Городковой: МПА с 0,25% глюкозы, стерилизация при 110о 15 мин.

Сердечно-мозговая Среда. Экстракт из мозга теленка - 200 мл, экстракт из мышцы сердца - 250 мл, пептон - 10 г, глюкоза - 2 г, хлорид натрия - 5 г, фосфат натрия двузамещенный - 2,5 г, дистиллированная вода - до 1 л. Из мозга и сердца удаляют жировую ткань, органы измельчают и растирают в ступке, заливают двойным объемом дистиллированной воды. Смесь выдерживают в течение ночи в холодильнике, после чего прогревают в течение 1 ч при 45-50о затем кипятят 30 мин. После охлаждения до 25о удаляют жир, экстракт фильтруют, доводят до исходного объема дистиллированной водой, устанавливают рН 7,2 - 7,4; стерилизуют при 120о 15 мин. Готовят комбинированную среду, состоящую из плотной и жидкой фаз. Для получения плотной фазы к жидкой основе добавляют до стерилизации 2% агара, 50 мл плотной среды скашивают в колбе таким образом, чтобы после добавления 60 мл жидкой Среды скошенная поверхность была полностью погружена в жидкую фазу. Кровь вносят в количестве 5-7 мл и инкубируют при 30-35о.

Среды для определения ферментативной активности готовят на 1% пептонной воде с индикатором (Андреде, бром тимоловый синий) по общепринятым методикам, но с добавлением 2% углевода. Раствор сахаров предпочтительнее готовить на разведенном 1:10 дрожжевом аутолизате без ингибитора.

**Клиническая картина.**

Многочисленные клинические варианты дрожжевых поражений разделяют на кандидозы поверхностные (кандидоз гладкой кожи и слизистых оболочек, кандидозные онихии и паронихии) и системные, или висцеральные. Отдельно выделяются кандидамикиды – вторичные аллергические сыпи.

*Поверхностный кандидоз* включает поражение гладкой кожи, слизистых оболочек, онихии и паранихии. Заболевание гладкой кожи чаще начинается с поражения крупных складок (интертригинозный кандидоз), где вначале формируются эритематозно-отечные очаги с везикулами, серопапулами, пустулами, эрозиями с мокнутием. Участки поражения имеют четкие фестончатообразные края, окаймленные подрытым венчиком отслаивающегося эпидермиса. Поверхность эрозий гладкая, блестящая, местами мацерированная с белесоватым налетом. По периферии основных очагов рассеяны в результате аутоинокуляции отдельно расположенные, ограниченные отечно-эритематозные пятна, серопапулы, везикулы, пустулы. При распространении воспаления с крупных складок на прилегающие участки возникает кандидоз гладкой кожи. Выделяют эритематозную и везикулезную разновидности. Преобладание эритематозно-отечных очагов застойно-ливидной окраски с эрозивными участками, мокнутием характерно для эритематозной формы. Наличие преобладающего количества серопапул, везикул, пузырей, пустул на фоне отечно-эритематозной, воспаленной кожи свойственно везикулезной разновидности кандидоза.

*Межпальцевые дрожжевые эрозии* в области кистей и стоп наблюдаются у детей–школьников и взрослых, работающих на садовых участках. В условиях кондитерских производств или у имеющих контакт с овощами и фруктами в складках кистей или стоп между 3 и 4 или 4 и 5 пальцами возникают очаги мацерации с отечно-застойной гиперемированной кожей, окаймленные подрытым отслоившимся ободком эпидермиса. По периферии основного очага наблюдаются отсевы в виде серопапул и везикул.

Кандидоз слизистых оболочек формируется в области полости рта, гениталий. Клинические варианты процесса соответствуют особенностям локализации. Кандидоз слизистых оболочек и полости рта (молочница) характеризуется белесоватым «творожистым» налетом, крошковатой или легко снимающейся пленкой. После их удаления иногда выявляется эритема. В редких случаях при удалении налета обнажается эроизивная поверхность. Поражение слизистой оболочки рта может сочетаться с поражением языка, углов рта, красной каймы губ, миндалин.

*Кандидоз углов рта* (кандидозная заеда) и кандидозный хейлит нередко сочетается с дрожжевым поражением слизистой оболочки рта, кандидозным глосситом, но могут формироваться и самостоятельно. Процесс чаще возникает у детей и лиц пожилого возраста (заниженный прикус). Наличие глубокой складки в углах рта и постоянная мацерация этих участков кожи слюной детей при пользовании «жвачкой» и сниженном прикусе у лиц, имеющих протезы, создает благоприятные условия для возникновения дрожжевой заеды. Кожа в углах рта становится воспаленной, мацерированной, влажной, покрытой белым легко снимающимся налетом, после удаления которого обнажается красная гладкая эрозированная поверхность.

*Дрожжевые паронихии и онихии* возникают чаще в сочетании с поражением гладкой кожи или слизистых оболочек, но возможно и изолированное поражение. Паронихии характеризуются отеком, инфильтрацией, гиперемией валиков ногтя, отсутствием надногтевой кожицы (эпонихиум). При этом околоногтевой валик как бы надвигается на поверхность ногтя. Нередко паронихии и онихии существуют одновременно. Внедрение грибов происходит с боковых участков, околоногтевого валика, поэтому свободный край ногтя остается непораженным. Боковые края ногтя деформируются: они как бы срезаны. Поверхность ногтя также деформируется, имеет неодинаковую толщину. В острой стадии заболевания процесс сопровождается болезненностью, иногда зудом.

*Кандидозный вульвовагинит, баланит и баланопастит* развиваются изолировано или с другими формами кандидоза. У девочек вульвиты и вульвовагиниты сочетаются с уретритом, у мальчиков возможно баланиты и баланопаститы. Данный процесс у мальчиков отмечается исключительно редко в связи с наличием у них состояния физиологического фимоза.

При развитии кандидозного вульвита или вульвовагинита появляются диффузные отечно-гиперемированные очаги с наличием белого точечного крошковатого налета. Налет легко удаляется и под ним обнажается эрозивная поверхность с серозным или серозно-геморрагическим отделяемым. Заболевание сопровождается зудом и болезненностью особенно выраженными при мочеиспускании.

Кандидозный баланопостит может протекать в эрозивной, мембранозной и эритемно-пустулезной форме. Клинические проявления кандидозного баланопостита заключаются в умеренном зуде, жжении, гиперемии, отечности и инфильтрации кожи головки полового члена, мацерации рогового слоя пораженных участков с белесовато-серым налетом, после удаления которого обнажается эрозивная поверхность красного цвета. На головке половго члена появляются мелкие поверхностные эрозии вне очага основного поражения, инфильтрация, ригидность крайней плоти, трещины по краю препуциального мешка с последующим рубцеванием и образованием приобретенного фимоза.

*Кандидамикиды* – вторичные аллергические высыпания, свидетельствующие о значительной степени сенсибилизации к возбудителю и продуктам его жизнедеятельности. Они появляются обычно при нерациональном лечении основных органов, также назначении антибиотиков, кортикостероидных гормонов, цитостатиков. Морфологически кандидамикиды полиморфны, как и все аллергиды. В большинстве случаев кандидамикиды возникают в виде эритематозно-сквамозных отечных пятен или микровезикул, но возможны уртикарные и буллезные высыпания. Появлению кандидмикидов сопутствуют субфибрилитет, недомогание, усиление воспалительных явлений в основных очагах. Кандидамикиды, или левуриды (от франц. levures – дрожжи), быстро исчезают при адекватной терапии.

*Хронический генерализованный (гранулематозный) кандидоз.* На коже лица, волосистой части головы, туловище и конечностях возникают округлые неправильных очертаний, гиперемированные и инфильтрированные шелушащиеся пятна, которые постепенно превращаются в гранулирующие бляшки. В углах рта появляются бородавчатые разрастания с массивными серозно-гнойными корками. На волосистой части головы, кожи туловища и конечностей образуются бугристые узловатые вегетирующие разрастания с гнойным отделяемым, подсыхающим в слоистые, медового вида корки. Подобные необычные проявления глубокого кандидоза объясняются присоединением стафилокковой ифекции. Хронический генерализованный, гранулематозный кандидоз протекает тяжело с анемией, астенизацией, субфебрилитетом, остеопорозом длинных трубчатых костей, рецедивирущими бронхитами, пневмониями, желудочно-кишечными диспепсическими расстройствами. По разрешении процесса на гладкой коже остается рубцовое атрофия, а на волосистой части головы стойкое облысение.

**Лечение.**

При всех формах кандидоза важно прежде всего устранить факторы, способствующие возникновению заболевания. Поэтому лечение основывается на патогенетической терапии и проведении санитарно-гигиенических мероприятий, а затем уже применении этиотропных препаратов. При поражении гладкой кожи и складок проводят общее лечение противокандидозными препаратами. Дифлюкан (флюконазол) вводится по 50, 100, 150, 200 мг. Нистатин или леворин назначают внутрь детям до 2 лет из расчета 1 мг на 1 кг массы тела с сутки, деленные на 3-4 приема. В возрасте от 2 до 6 лет доза увеличивается до 6-6 мг/кг, а после 6 лет – до 8-10 мг/кг массы тела 3-4 раза в сутки в течение 7-10 дней. Низорал применяется также с учетом возраста и массы тела: до 2 лет с массой тела до 15-20 кг – 25-30 кг/сут. однократно, до 6 лет с массой тела 20-30 кг – 50 мг/сут и после 6 лет при массе тела 30-40 кг – 100 мг/сут.

Микогептин назначается в таблетках по 50 мг взрослым по 250 мг 2 раза в день 10-14 дней, детям с учетом возраста.

Пимафуцин применяется в таблетках по 100 мг 4 раза в день (от 10 дней до нескольких месяцев).

Анкотил (флуцитозин) назначают внутрь или в виде внутривенных инъекций с суточной дозе до 200 мг/кг массы тела.

Для местного лечения рекомендуется кремы микозолон, клотримазол, ламизил, дактрин, певарил, травоген, гино-травоген в виде вагинальных шариков, кетоконазол, батрафен. Из наружных средств лечения также эффективны 5-10% или 20% растворы натрия тетрабората в глицерине, разведенный раствор Люголя (Jodi puri 5,0 Kalii jodati 10,0 Ag. Destillatae 200-300 ml), бриллиантовая зелень или метиленовая синь (спиртовые растворы). Применяют также мази: 0,5-2% декаминовую, 0,05-1% нитрофуриленовую, нистатиновую или левориновую (содержащие в 1 г основы 50 000 ЕД антибиотика). При острых воспалительных явлениях с наличием мокнущих эрозивных высыпаний необходимо до применения противодрожжевых средств назначить примочки с 1% раствором танина, 0,25-0,5% раствором нитрата серебра, 2-3% раствором натрия тетрабората или гидрокарбоната с последующем использованием флукорцина, 1-2% спиртовым раствором анилиновых красителей.

При поражении слизистых оболочек рта назначают взрослым 20%, детям 10% раствор тетрабората натрия (буры) в глицерине, 1-2% водные и спиртовые растворы анилиновых красителей. Можно применять леворин в таблетках для сосания, содержащих 250 000 – 500 000 ЕД антибиотика. Применяют низорал по 200 мг в день в течение месяца, нистатин до 5 млн. ЕД в сутки, ламизил по 250 мл в день (месяц).

При поражении кожи и слизистых оболочек, наклонности к хроническому течению и рецидивам, особенно кандидозу внутренних органов применяют натрия йодид или калия йодид (до 3-5 г в день), внутривенные вливания ё10% раствора натрия йодида в сочетании с вливаниями 40% раствора уротропина (от 2-10 мл).

Для лечения детей, больных хроническим генерализованным кандидозом назначают длительные курсы нистатина (по 18-20 дней с перерывами в 2-3 недели). Одновременно применяют неспецифические стимулирующие средства (гамма-глобулин, гемотрансфузии, алоэ, препараты железа, фосфора), витамины, особенно группы В. производят внутривенные вливания амфотерицина В. На очаги грануляционной ткани назначают аппликации 20% пирогаллового пластыря. После удаления гиперкератических наслоений и грануляций используют противодрожжевые мази и растворы анилиновых красок.

Важным условием успешного лечения любой формы кандидоза являются правильный гигиенический режим, рациональное питание, включение в пищу достаточного количества овощей, фруктов, кисломолочных продуктов и назначения витаминов группы В, аскорбиновой кислоты, микроэлементов, фосфора, железа, кобальта, кальция.

**Профилактика.**

Предусматривает проведение санитарно-гигиенических мероприятий с выявлением дрожжевых поражений, являющихся профессиональными дерматозами на овощных базах, кондитерских производствах, в сельском хозяйстве и быту. Профилактика кандидоза у детей заключается в выявлении ли лечении дрожжевых поражений у беременных, кормящих матерей, сотрудников детских учреждений, родильных домов, детских больниц. В профилактике кандидоза у детей большое значение придают рациональному питанию, гигиеническому уходу, дезинфекции предметов обихода и белья. Антибиотики и кортикостероиды следует назначать на фоне насыщения организма больного витаминами.

Контроль за соблюдением технологии производства является мерой профилактики межпальцевых дрожжевых эрозий кистей у работников консервных и плодоовощных производств.

Лечение диабета и ожирения у лиц с нарушенным обменом веществ, заболеваний желудочно-кишечного тракта, вегетоневроза, общеукрепляющая терапия ослабленных больных, устранение нарушения витаминного баланса – все это является профилактикой развития поверхностного и системного кандидоза.

Литература:

1. Скрипкин Ю.К. Кожные и венерические болезни. М.: Триада-Х, 2000.
2. Борисенко К.К. Заболевания передаваемые половым путем. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998 .
3. Елинов Н.П., Громова Э.Г. Современные лекарственные препараты: справочник с рецептурой (2-ое изд.) – Спб: Питер, 2002.
4. Материалы научно-практической конференции по медицинской микологии (Четвертые Кашкинские чтения). Санкт-Петербург, 27-28 июня 2001 г.