

Медицинская микология

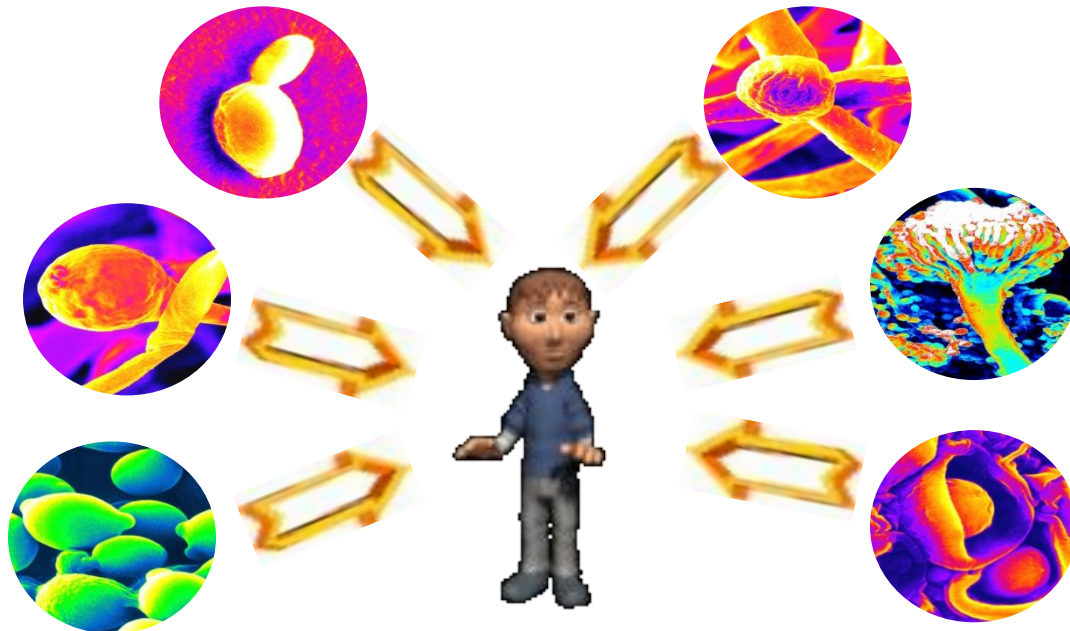
2 курс

.

Кафедра медицинской микробиологии
ГБОУ ВПО СЗГМУ
им. И.И. Мечникова

Медицинская микология

- «Fungal evangelists needed - let's spread the word»
(Требуются проповедники микологии) *B.J. Kullberg*
- 1,5 млрд. человек страдают от грибковых инфекций



Микозы в мире

Грибковые инфекции	Количество больных микозами				
	-	ВИЧ	Респираторные	Иммунодефицит/ онкология	ОРИТ
Криптококкоз	несколько тысяч	1 млн.		несколько тысяч	
Пневмоцистная пневмония		>200 000		>100 000	
Инвазивный аспергиллез			>100 000	>50 000	>50 000
Грибковые инфекции глаз	1000 000				
Грибковые инфекции волос	200 млн.				
Кандидоз полости рта		9,5 млн.	несколько сотен тысяч	миллионы	
Кандидоз пищевода		2 млн.			
Кандидоз гениталий	> 75 млн.			100 000	
Кандидемия					> 200 000

Классификация микозов

- Поверхностные – микозы кожи и слизистых оболочек
- Подкожные или субкутанные (хромомикоз, феогифомикоз)
- Инвазивные - глубокие (системные, висцеральные)

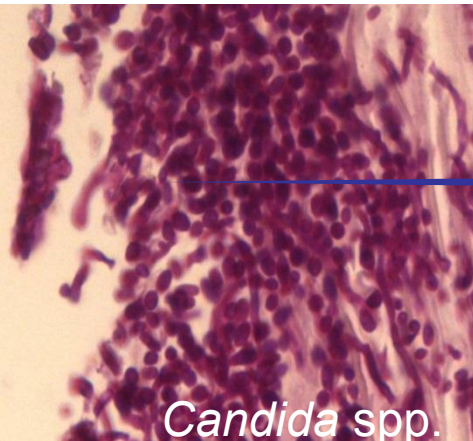
10 наиболее значимых ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ

Оппортунистические системные микозы

Заболевание Наиболее частый вид возбудителя	Распространенность	Число инфекций в год	Летальность (%)
Аспергиллез <i>Aspergillus fumigatus</i>	по всему миру	~300,000 инвазивный аспергиллез ~3.000.000 хронический легочный аспергиллез	41- > 75 ≥15
Кандидоз <i>Candida albicans</i>	по всему миру	~ 400.000	33-66
Криптококкоз <i>Cryptococcus neoformans</i>	по всему миру	~ 1.000.000	15- > 60
Мукоромикоз <i>Rhizopus oryzae</i>	по всему миру	>10.000	64-80
Пневмоцистоз <i>Pneumocystis jiroveci</i>	по всему миру	>400.000	13-50

Инвазивные микозы

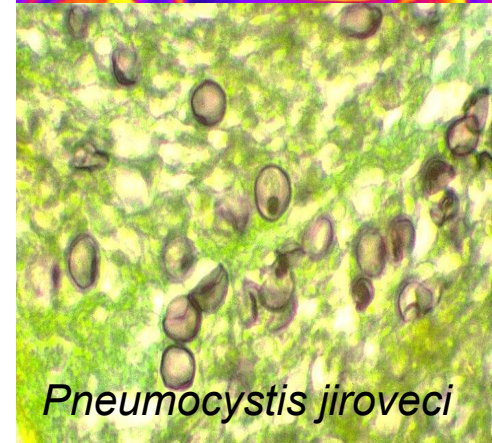
- 4 основных возбудителя



- *Candida spp.*
- *Aspergillus spp.*



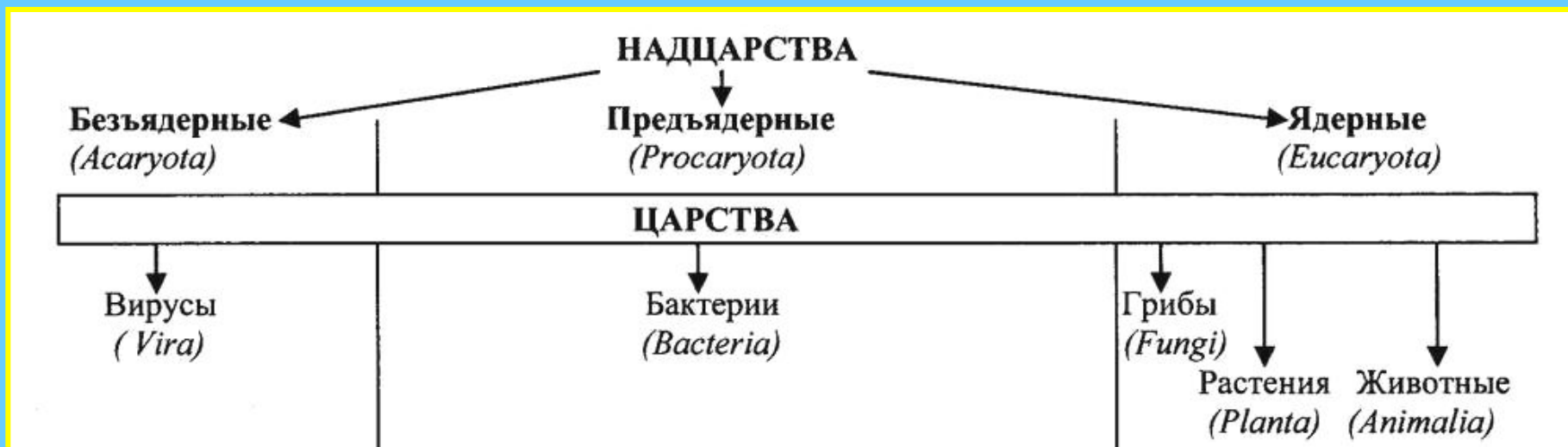
- *Cryptococcus spp.*
- *Pneumocystis jiroveci*



Эндемичные микозы

Заболевание Наиболее частый вид возбудителя	Распространенность	Число инфекций в год	Летальность (%)
Бластомикоз <i>Blastomyces dermatitidis</i>	Средне-западный регион Атлантики и Атлантического побережья	~6.000	42 (без лечения) 5 (получали лечение)
Кокцидиоидоз <i>Coccidioides immitis</i>	Юго - Запад США	~25.000	4,3-22
Гистоплазмоз <i>Histoplasma capsulatum</i>	Средний - Запад США	~25.000	10-50
Паракокцидиоидоз <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Бразилия	~4.000	5-25
Таларомикоз <i>Talaromyces marneffeii</i>	Юго-Восточная Азия	>8.000	11-80

Медицинская микология – наука о медицински значимых грибах и вызываемых ими заболеваниях – микозах, микоаллергозах и микотоксикозах.



ИМПЕРИИ



PLANTS

Eukaryotic
Autotrophic

FUNGI

Eukaryotic
Heterotrophic

ANIMALS

PROTOZOA

Eukaryotic

BACTERIA

Prokaryotic

ПРИЧИНЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ГРИБОВ В ОТДЕЛЬНОЕ ЦАРСТВО

ПРИЗНАКИ РАСТЕНИЙ

- Неограниченный рост
- Поглощают воду и минеральные вещества
- Неподвижны
- Способны синтезировать витамины
- Дышат кислородом
- Клетки многоядерные

ПРИЗНАКИ ЖИВОТНЫХ

- Лишены хлорофилла
- Питаются гетеротрофно
- В оболочке клетки хитин
- Запасный продукт – гликоген
- Способны образовывать мочевину

Определение понятия «грибы»

Одно- или многоклеточные эукариоты, гетеротрофные, с абсорбтивным (осмотрофным) типом питания, хитиновой клеточной стенкой, сохраняющие энергию в виде гликогена и размножающиеся спорами

Царство Fungi

Среди грибов различают:

макромицеты

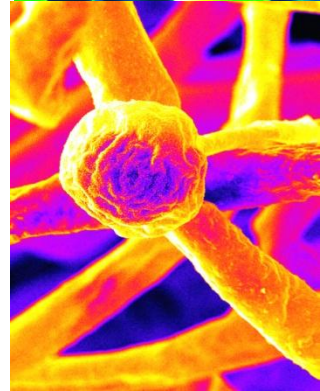
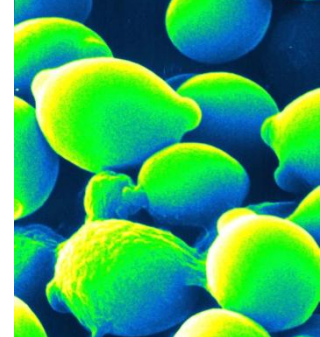
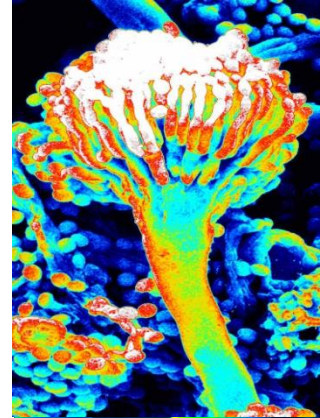
ВИДНЫ
невооруженным
глазом (ad oculus)

микробицеты

ВИДНЫ С ПОМОЩЬЮ
увеличительных
приборов,
например,
микроскопов

Грибы

- \approx 2 млн. видов (прогнозируемое количество)
- \approx 75-100 000 видов - XX век
- Более 600 тысяч видов - XXI век (Index Fungorum)
- \approx 1200 видов грибов ежегодно (XX век)
- \approx 30 - 40 000 видов грибов ежегодно (XXI век)
- доказанных возбудителей инфекций у человека \approx 600 видов грибов



В лабораторных условиях **чистые грибные культуры** получают при выделении из исследуемого материала *методами механического разобщения и культивирования на искусственных питательных средах.*

Грибы растут медленнее бактерий, видимый рост их колоний на твердых питательных средах обычно наблюдается на 3-5 день, а иногда еще позднее – дерматомицеты культивируют до 4-х недель.

Грибы обладают выраженной сахаролитической активностью, поэтому их выращивают на **специальных средах, содержащих углеводы:**

- среда Сабуро;
 - сусло-агар, мальт-агар;
 - рисовый, овсяный, картофельный, картофельно-морковный и др.
- pH питательной среды для грибов может составлять от слабокислой до нейтральной реакции среды**

Сравнение размеров возбудителей

Cocci	0.8 μ
Bacilli	4-6 μ
Spirochetes	8 - 10 μ
Viruses	0.08 μ
Protozoa	15 μ
Nematodes	10 mm
Fungi	1 – 15 μ

Царство грибы

Эукариоты

Отделы:

- Ascomycota
- Basidiomycota
- Mucoromycotina (подотдел)
- **Mitosporic Fungi (митоспоровые)**
(Fungi Imperfecti, несовершенные грибы)

Морфология

- Дрожжи (одноклеточные)
- Нитчатые (гифальные, филаментирующие, мицелиальные)
- Диморфные
 - дрожжевые
 - мицелиальные

Морфология грибов

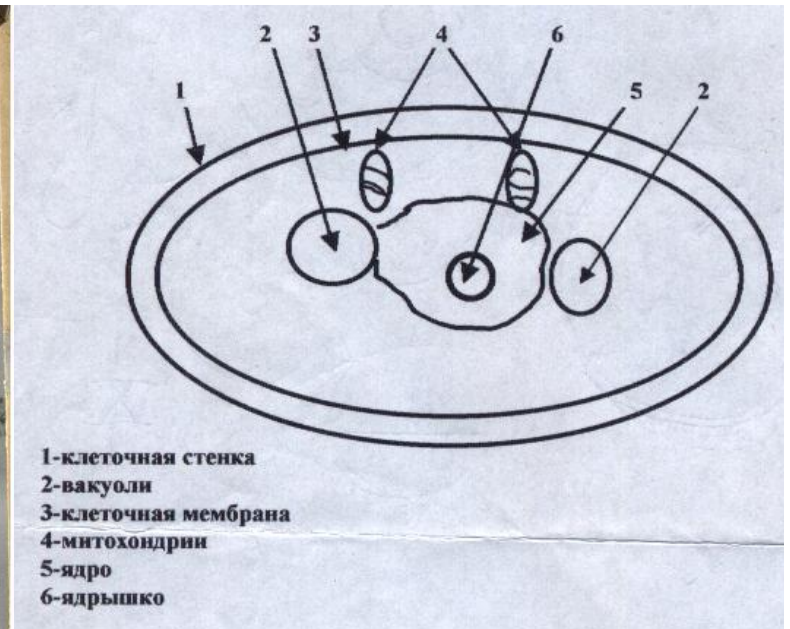
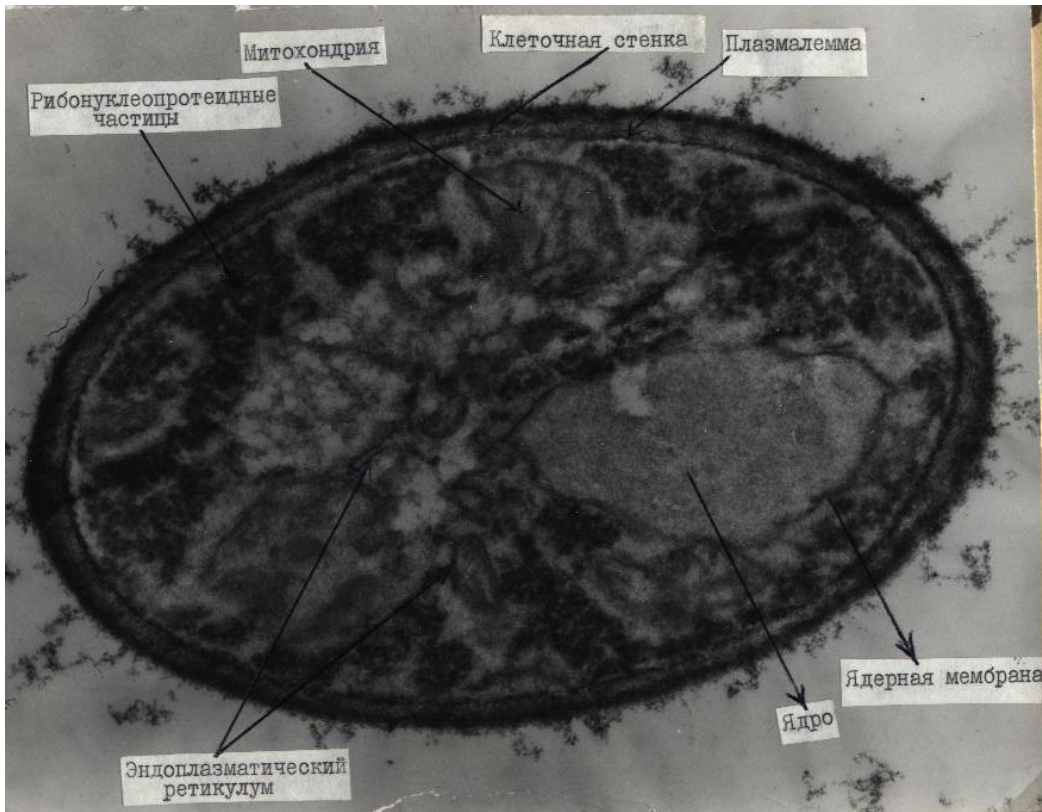
- Тело гриба – **таллом** состоит из тонких нитей – **гиф**.
- Совокупность гиф называется **мицелием** или **грибницей**.

Гифы могут иметь перегородки, образуя отдельные клетки. Но в некоторых случаях перегородки отсутствуют (у мукооровых). Поэтому клетки грибов могут содержать одно или множество ядер.

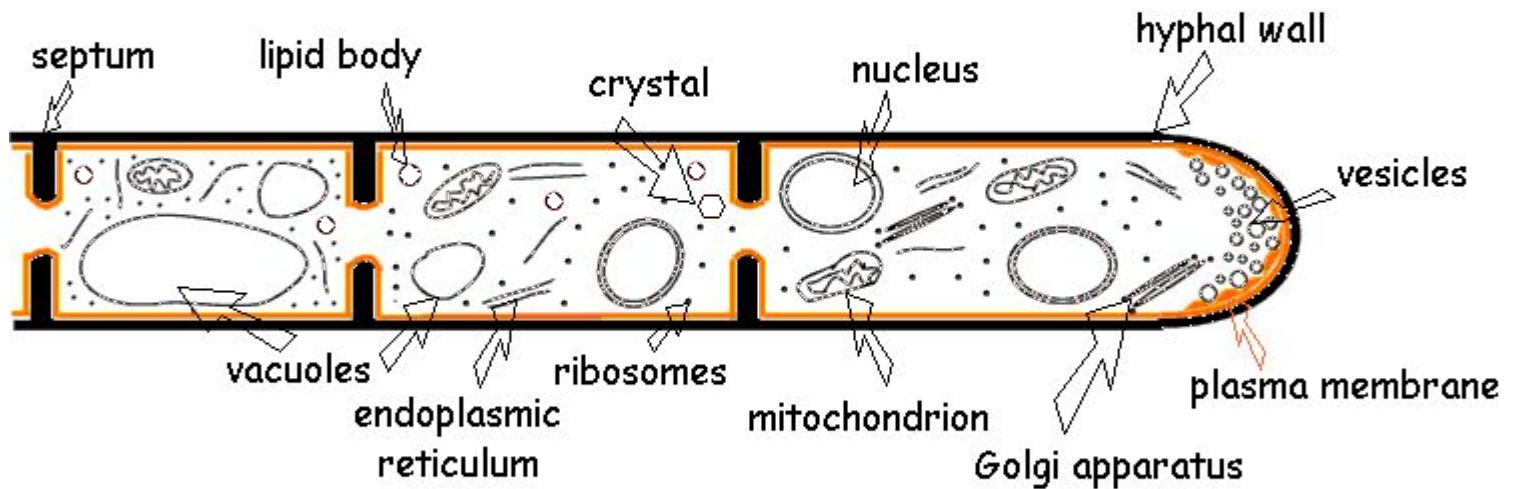
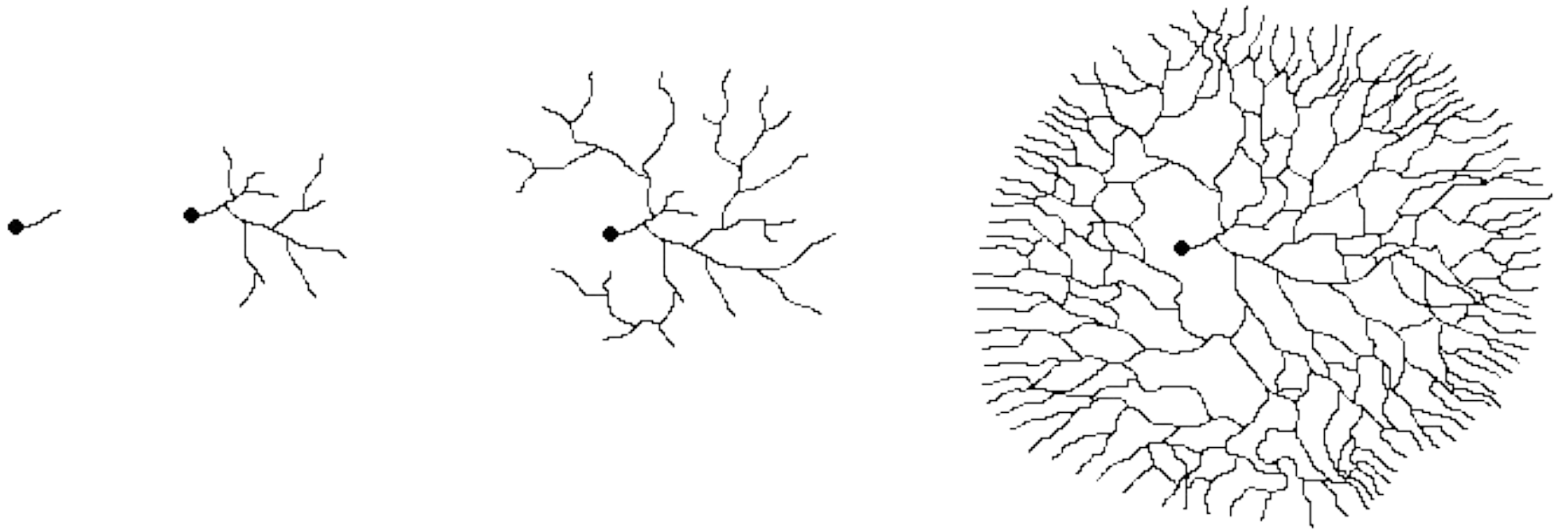
Способы размножения грибов

- Вегетативное
 - Частями мицелия
 - Артроспорами
 - Хламидоспорами
 - Почкованием
- Бесполое
 - Спорангиоспорами
 - Конидиями
- Половое размножение

Дрожжевые грибы



Строение дрожжевой клетки



Гифы



Цилиндрические,
септированные
филаменты.
Большинство грибных
гиф имеет диаметр
2-10 мкм



Мицелиальные (нитчатые) грибы

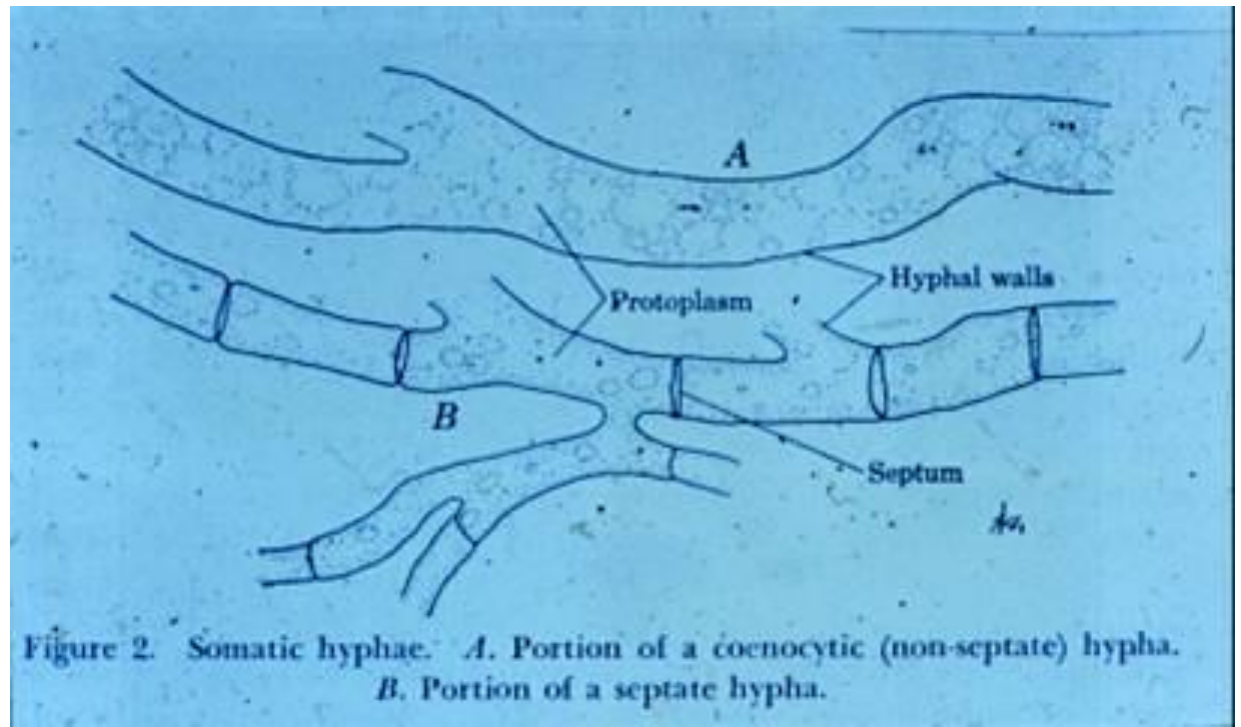


Figure 2. Somatic hyphae. *A.* Portion of a coenocytic (non-septate) hypha. *B.* Portion of a septate hypha.

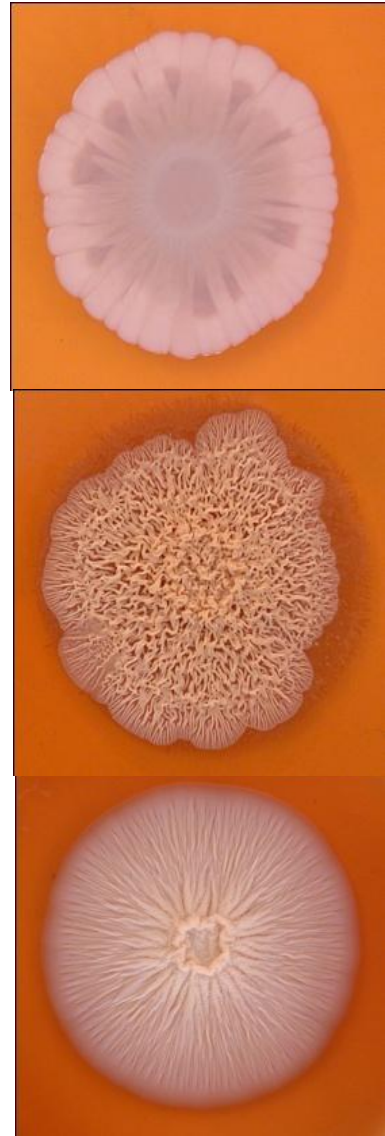
Царство Fungi

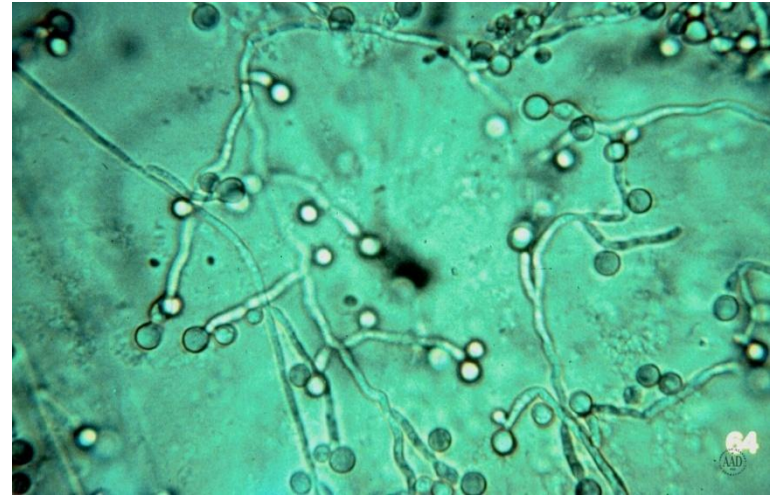
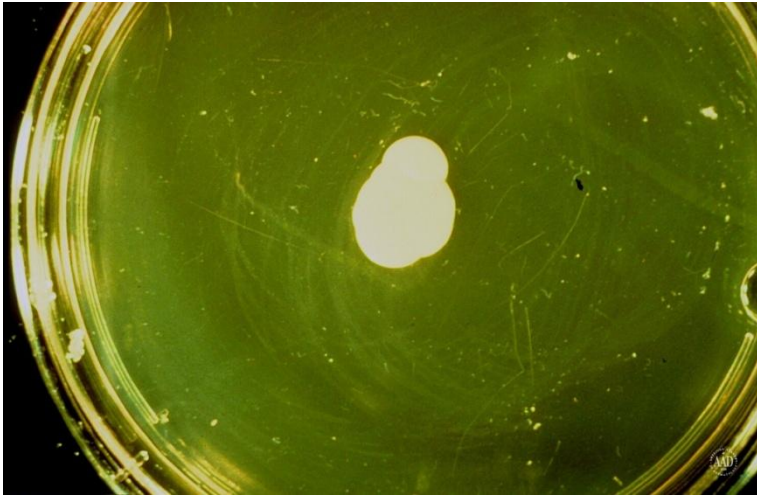
Отделы:

- *p/o Micoromycotina* - ценоцитные гифы
- *Ascomycota* - септированные гифы
 - простые септы, тельца Воронина
- *Basidiomycota* – септированные гифы
 - долипоровые сеты, парентосомы

Candida spp.

- *Candida* spp.- 743 вида грибов (Index Fungorum)
- Доказанных возбудителей кандидоза – 40 видов
- Основные возбудители:
 - *C.albicans*
 - *C. parapsilosis*
 - *C. tropicalis*
 - *C. glabrata*
 - *C.krusei*
 - *C.kefyr*
 - и другие





Культура *Candida*
spp.



Микроскопия *Candida* spp.: концевые
(терминальные) хламидоспоры.



Почкование
дрожжевой клетки



ростовая трубка

Candida albicans
Candida dubliniensis
Candida africana

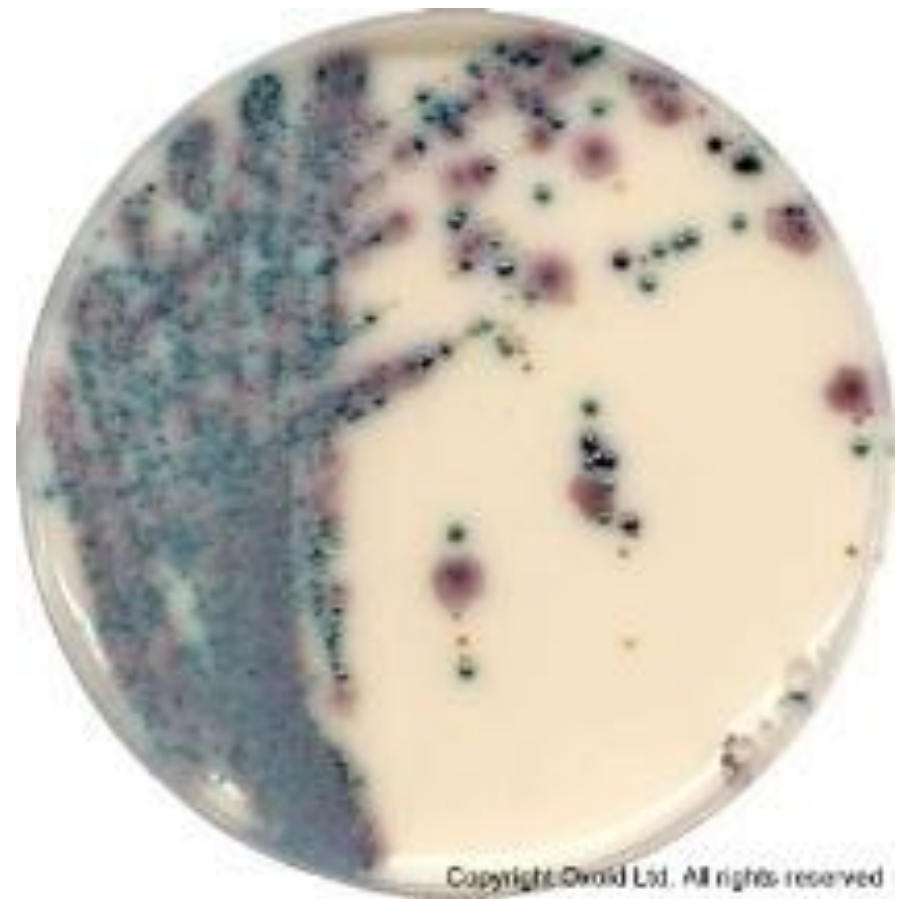
Хромогенный агар для Candida

**Диагностика 5-ти
клинически значимых видов
Candida**

(название и цвет колоний) :

- 1) *C. albicans* - зелёные
- 2) *C. tropicalis* – тёмно-голубые
- 3) *C. krusei* – розово-коричневые
- 4) *C. glabrata* - бежевые/жёлтые
- 5) *C. parapsilosis* - коричневые

Молочно-белый фон
позволяет удобно и чётко
дифференцировать виды
Candida



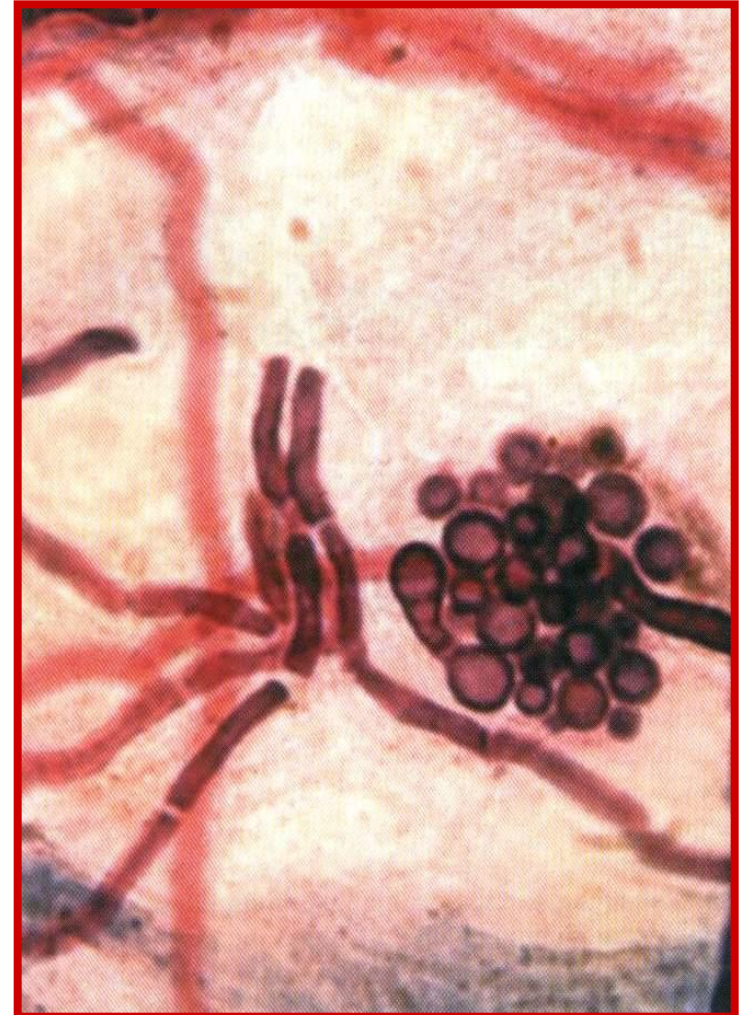
Результат – в течение 24 - 48 ч.

p. Rhodotorula



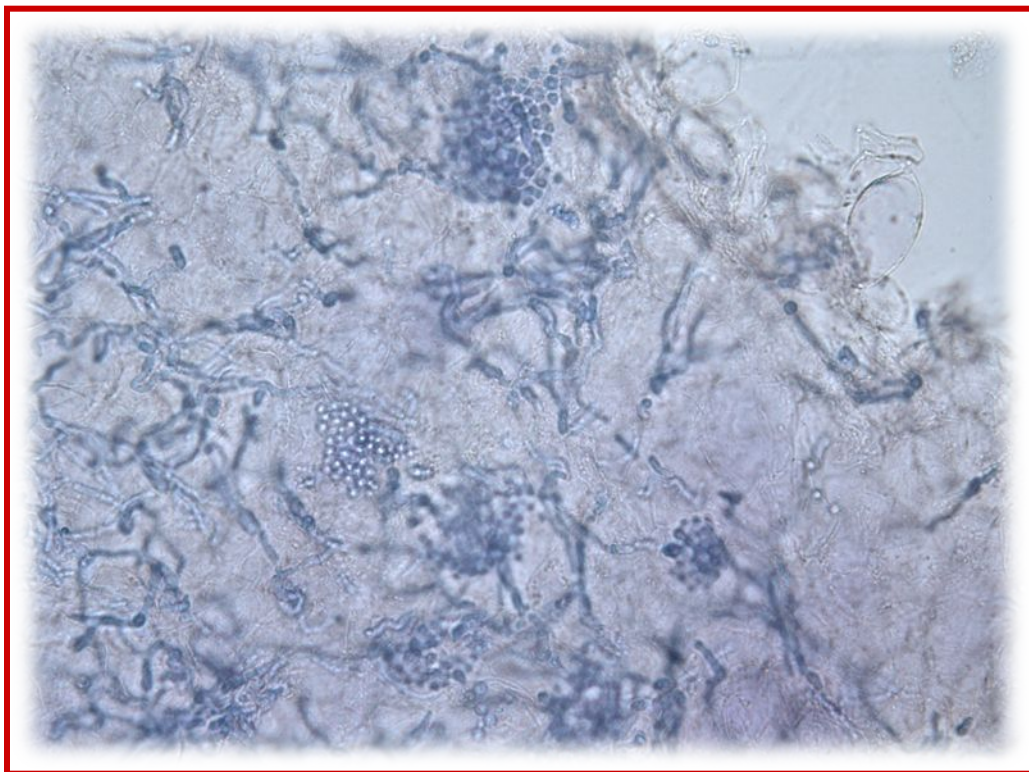
Malassezia spp.

- Дрожжи *Malassezia* spp. – это представители нормальной биоты кожи человека, а также возбудители кожных и системных инфекций у больных с тяжелыми иммунодефицитами.
- Возрастает частота тяжелых системных инфекций, вызванных грибами р. *Malassezia* у больных с иммунодефицитами.



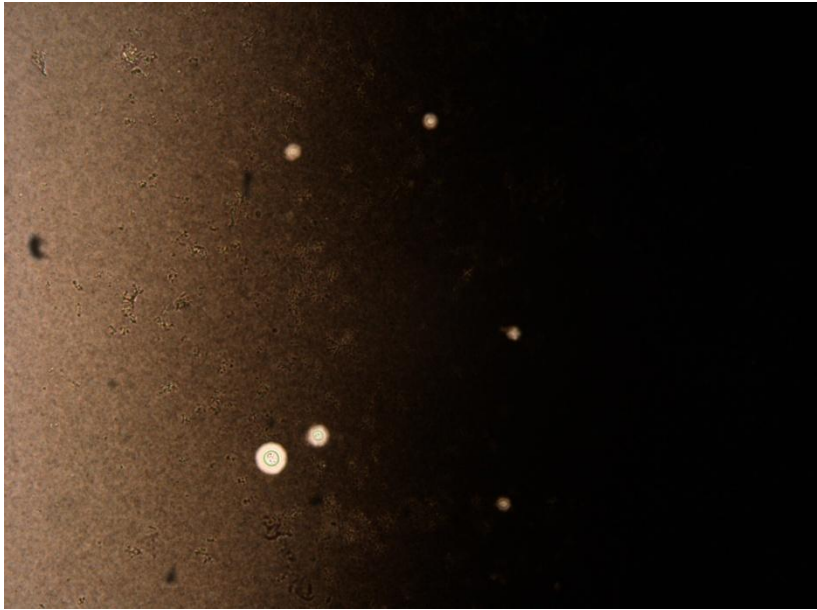
Malassezia spp.

Типичная тканевая форма при отрубевидном лишае



Дрожжевые клетки и
короткие
гифальные элементы
- кожные чешуйки,
КОН, ув. Х400
световая микроскопия

Cryptococcus neoformans



Тушевой препарат

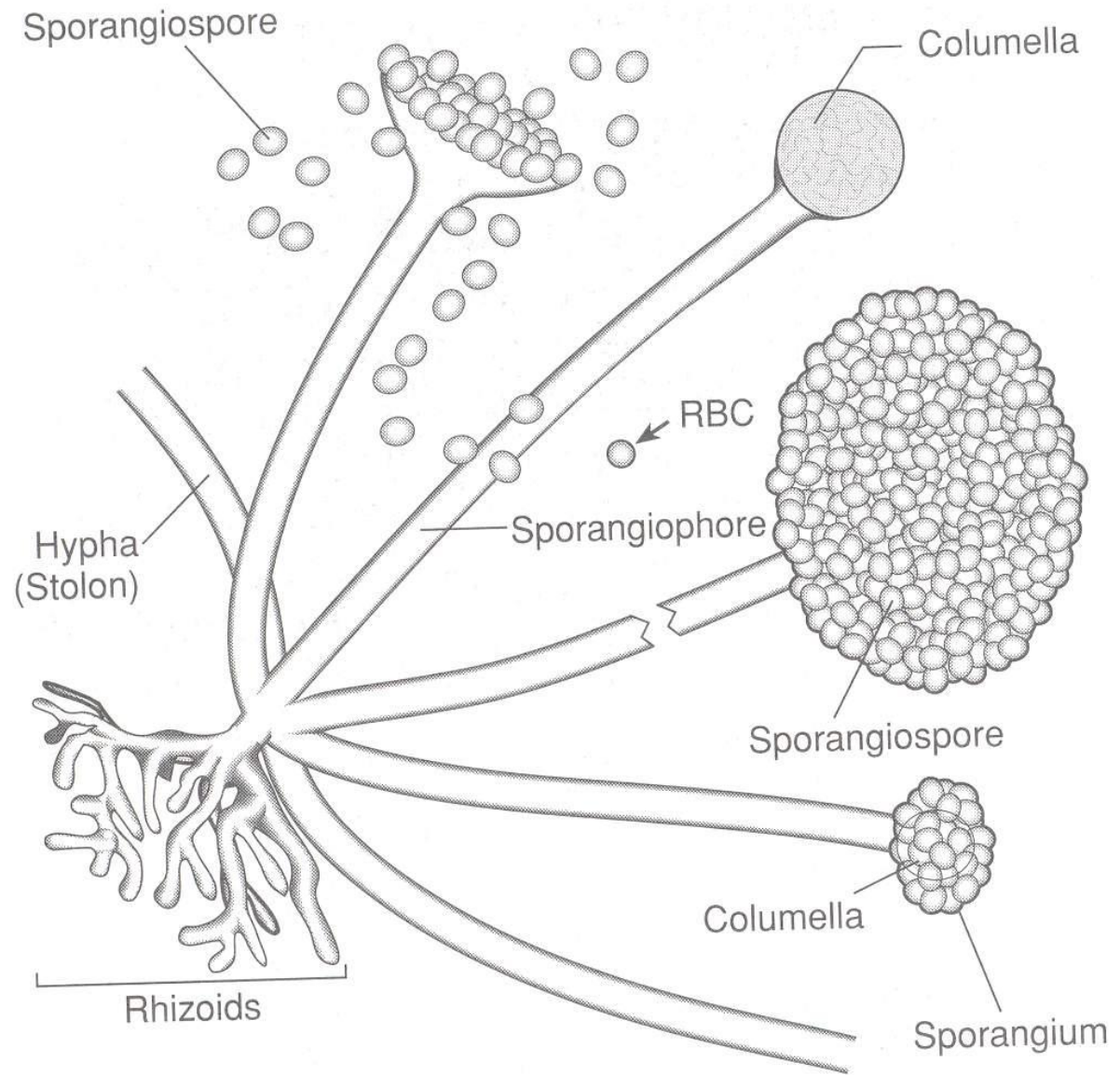


Колонии на среде Сабуро



Аски *Saccharomyces cerevisiae*

Мукоромицеты



Rhizopus spp.



Rhizopus spp. в культуре (микроскопия)

Коларетта (воротничок)

Rhizomucor spp.

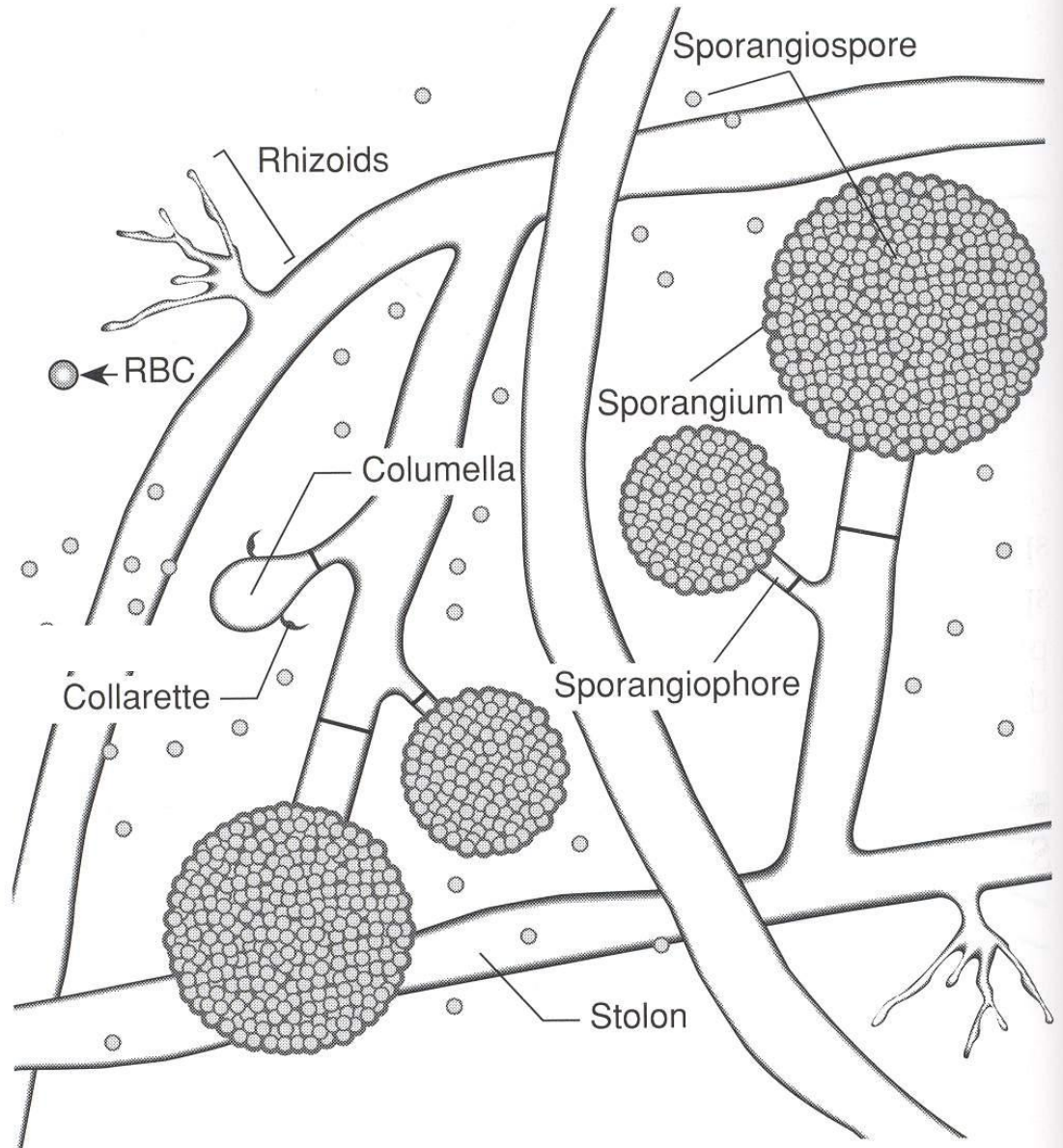
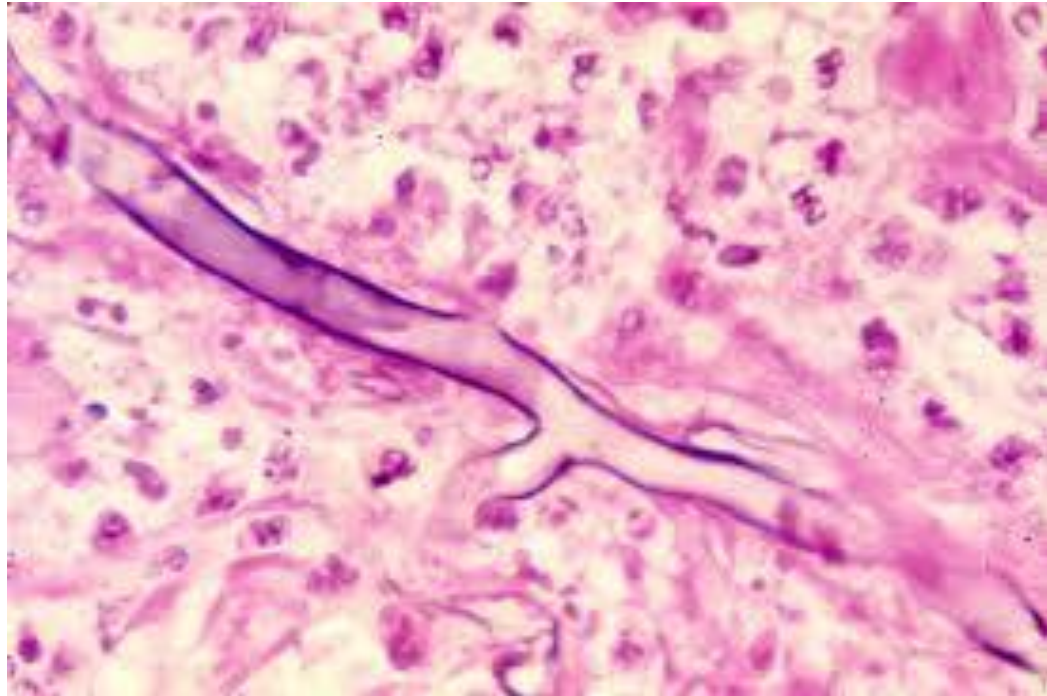


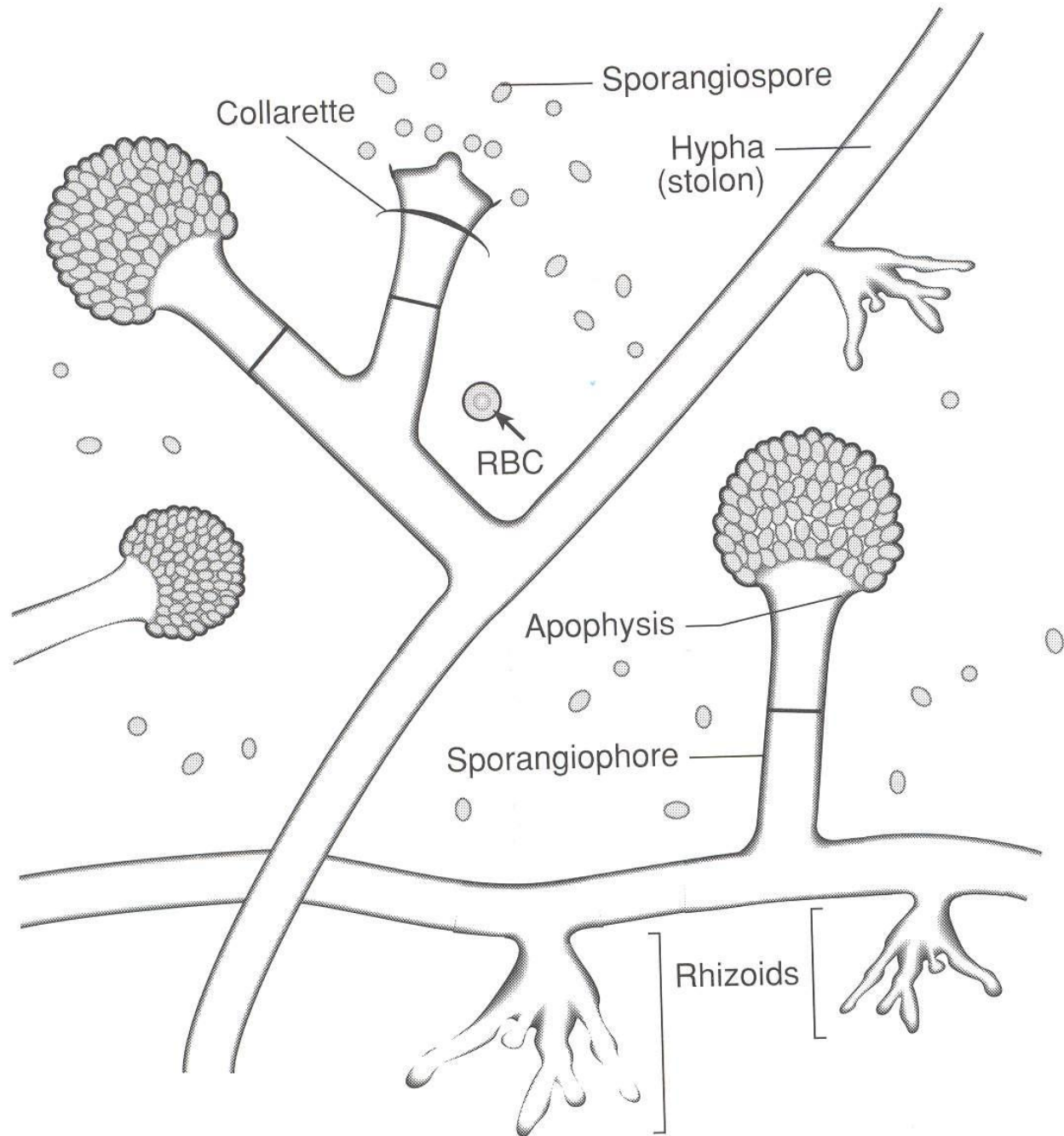
FIGURE 9.22



Mucor spp. в культуре (микроскопия)

Гифы (мицелиальные нити) – ветвятся под прямым углом



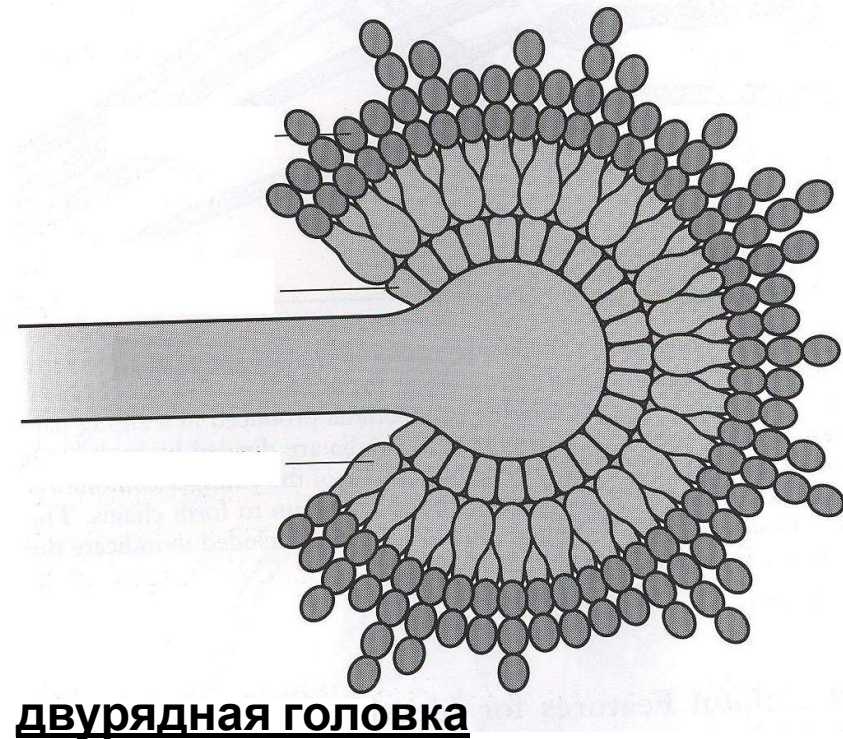
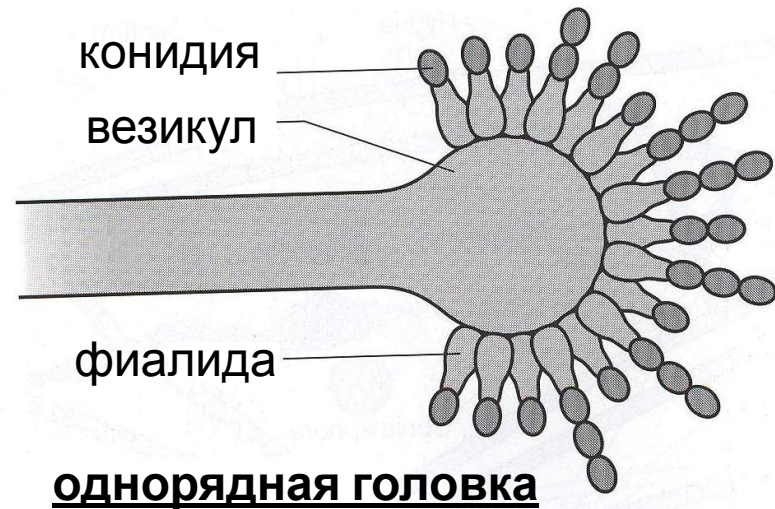


Lichtheimia spp.

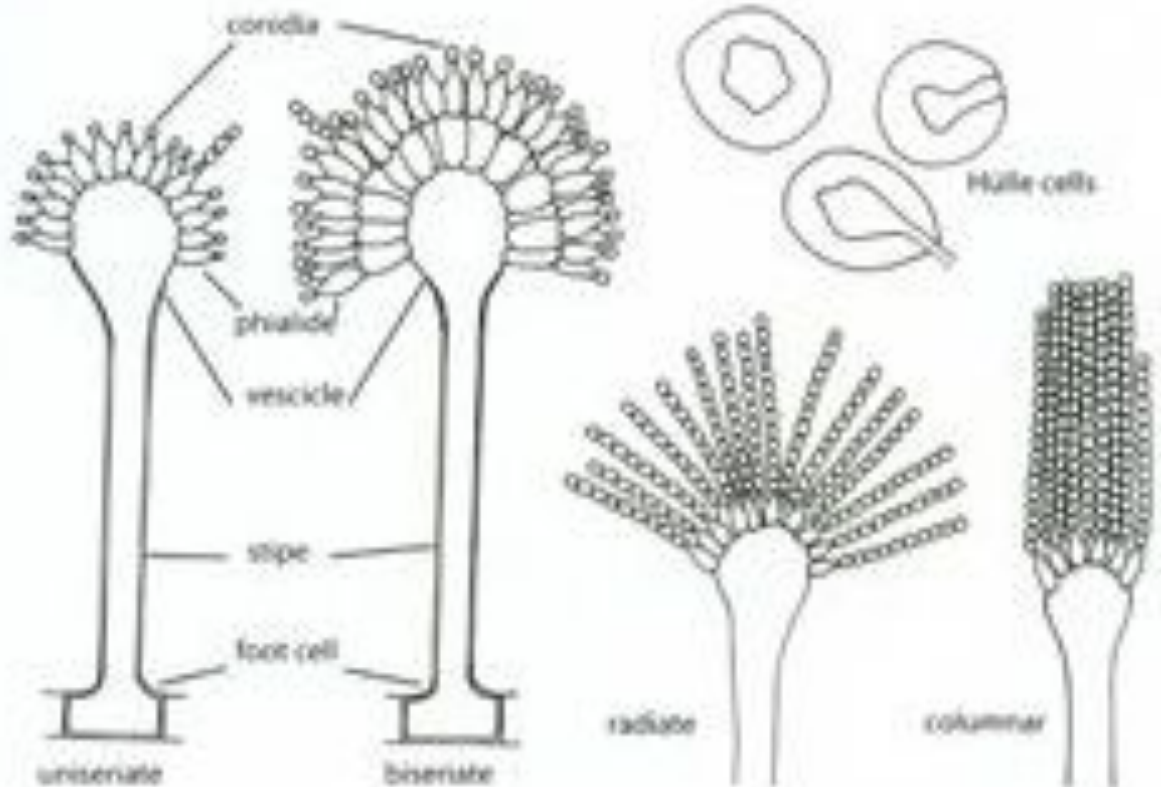
**Микроскопия: Типичные
головки и цепочки
конидий.**



Aspergillus spp.



Морфологические структуры р. *Aspergillus*



Микроскопия: Типичные головки и цепочки конидий.

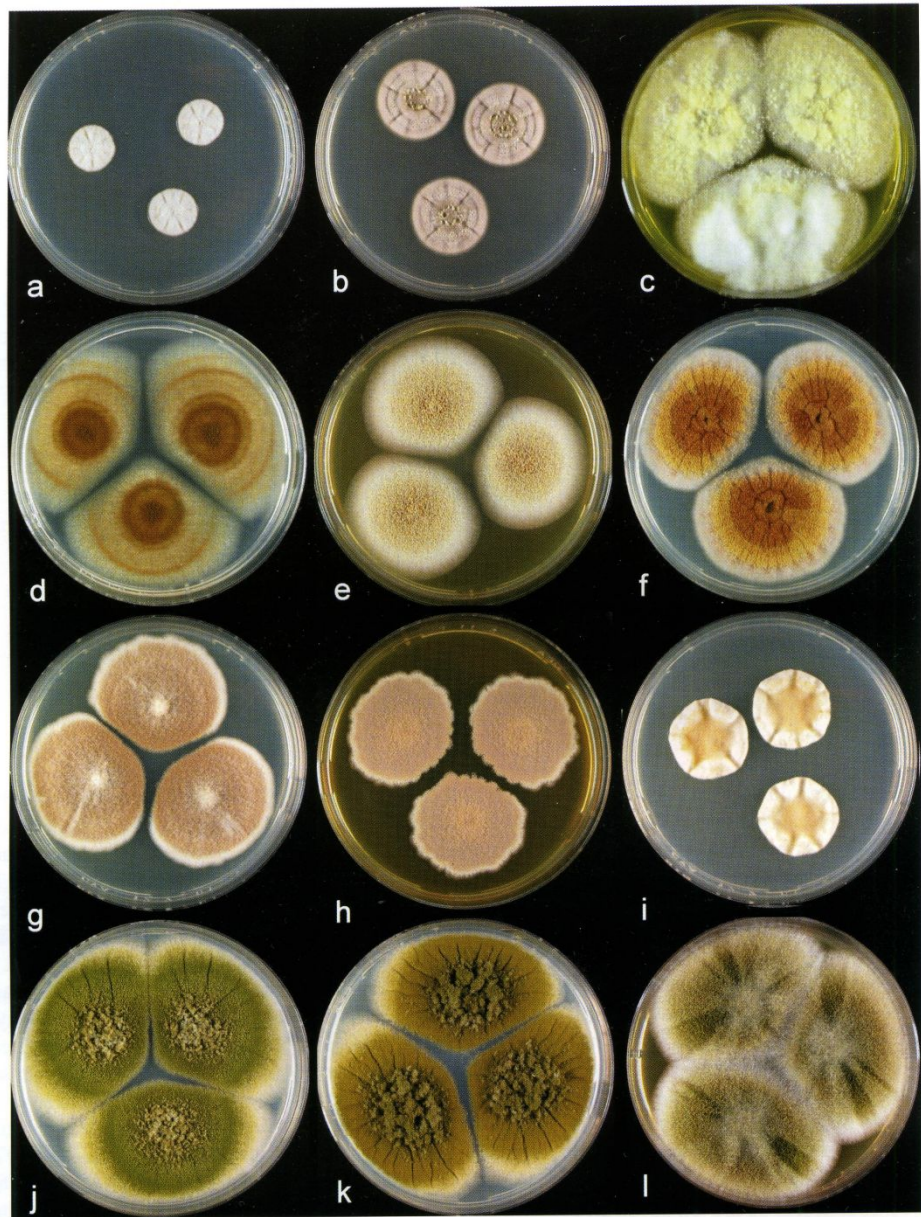


Fig. 3. Seven day old colonies on media indicated: a. *A. candidus* (CZ); b. *A. ustus* (CZ); c. *A. paradoxus* (CBS-MEA 2%); d. *Sclerocleista ornata* (CZ); e. *A. melleus* (CBS-MEA 2%); f. *A. ostianus* (CZ); g. *A. terreus* (CZ); h. *A. cervinus* (CBS-MEA 2%); i. *A. wentii* (CZ); j. *A. flavus* (CZ); k. *A. parasiticus* (CZ); l. *A. oryzae* (CBS-MEA2%). CBS-MEA 2% = 200 ml of malt extract diluted with water to 10% sugar content+ 800 ml water + 15 g agar (Samson *et al.*, 2000). Photos courtesy of Robert Samson, CBS.

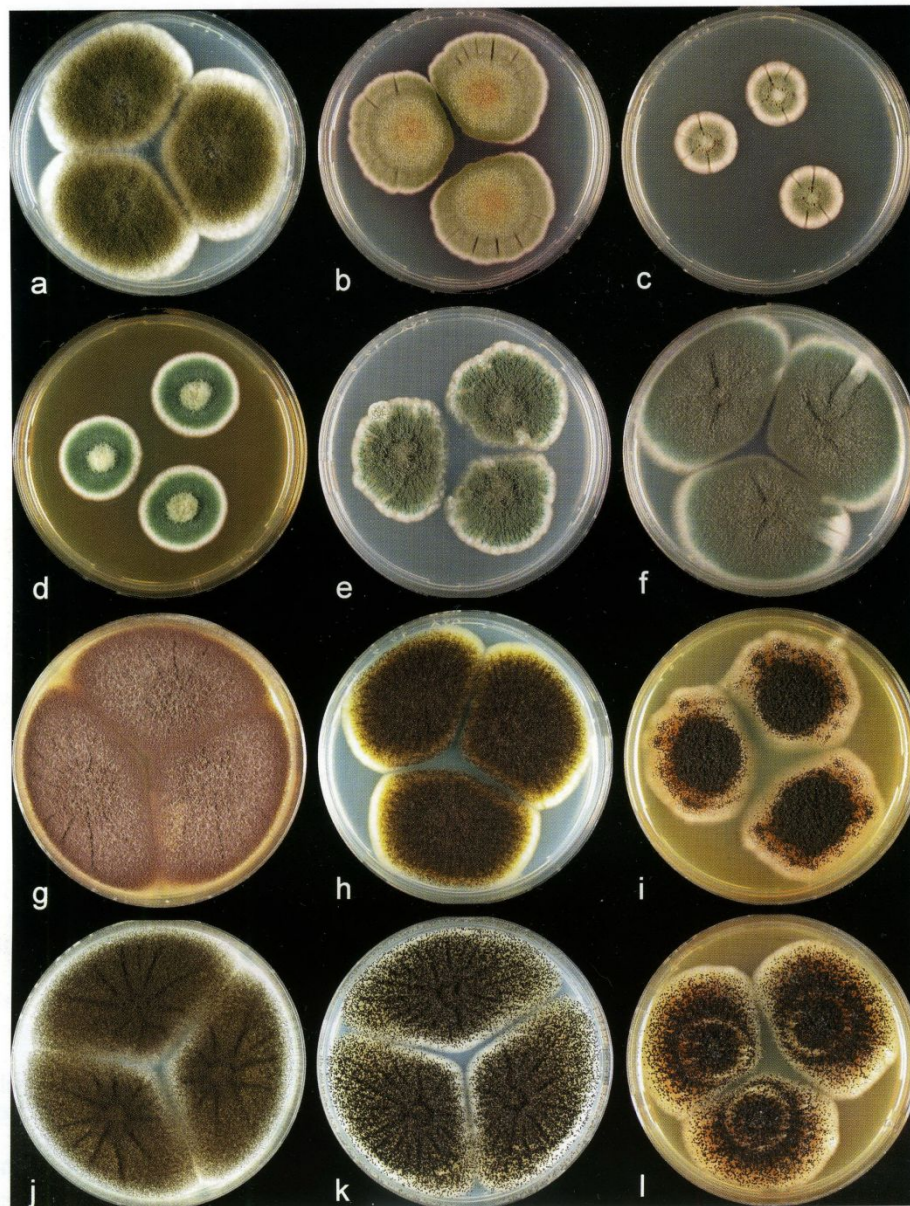


Fig 4. Seven day old colonies on media indicated: a. *A. sojae* (CBS-MEA2 %); b. *Emericella nidulans* (CZ); c. *A. versicolor* (CZ); d. *A. unguis* (CBS-MEA 2%); e. *A. clavatus* (CZ); f. *A. fumigatus* (CZ); g. *A. japonicus* (CBS-MEA 2%); h. *A. foetidus* (CZ); i. *A. niger* (CBS-MEA 2%); j. *A. awamori* (CZ); k. *A. carbonarius* (CZ); l. *A. carbonarius* (CBS-MEA 2%). CBS-MEA 2% = 200 ml of malt extract diluted with water to 10% sugar content+ 800 ml water + 15 g agar (Samson *et al.*, 2000). Photos courtesy of Robert Samson, CBS.

Identification of common *Aspergillus* species

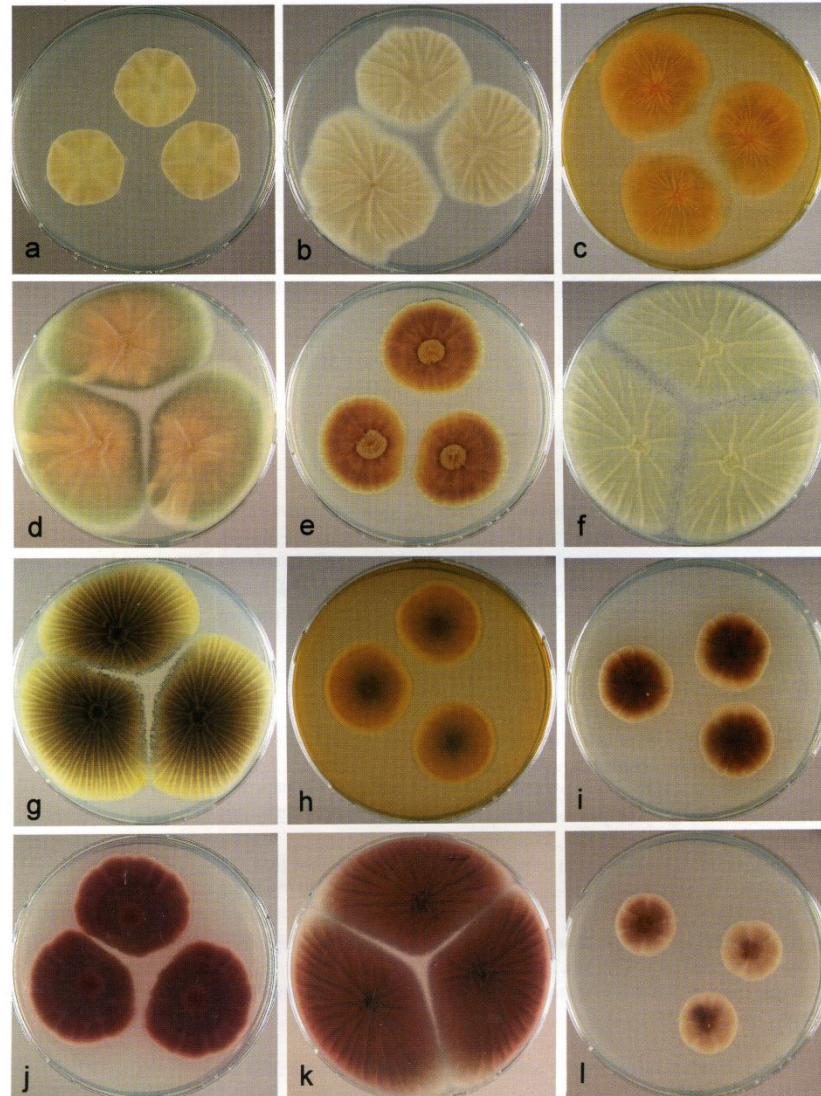
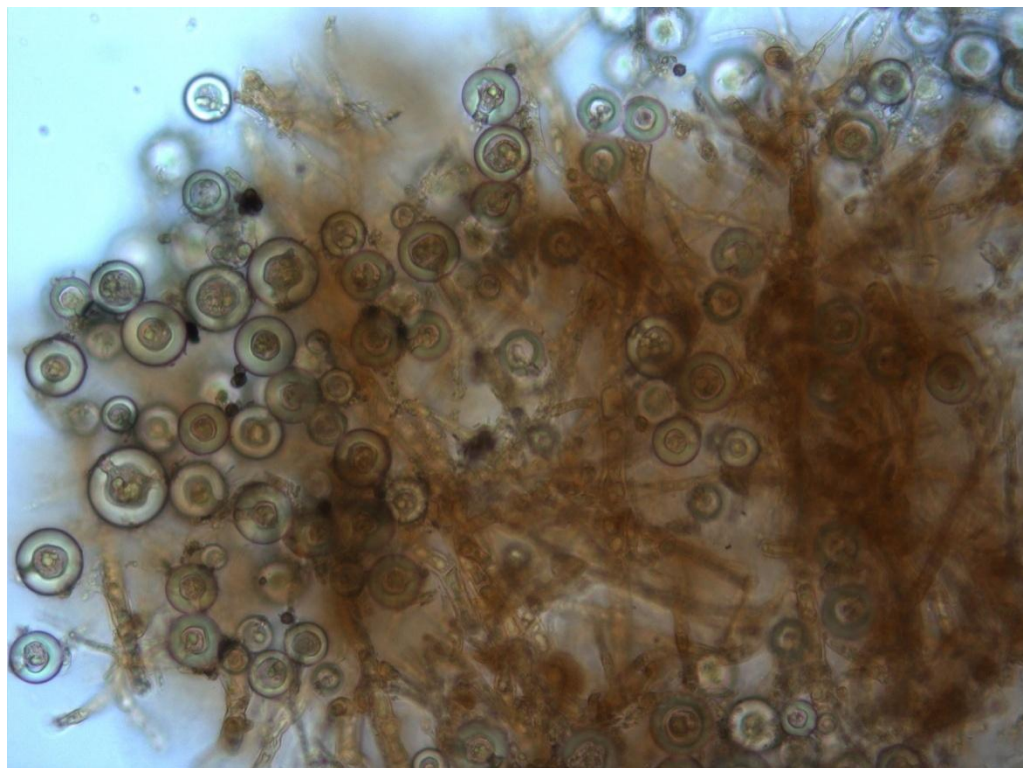
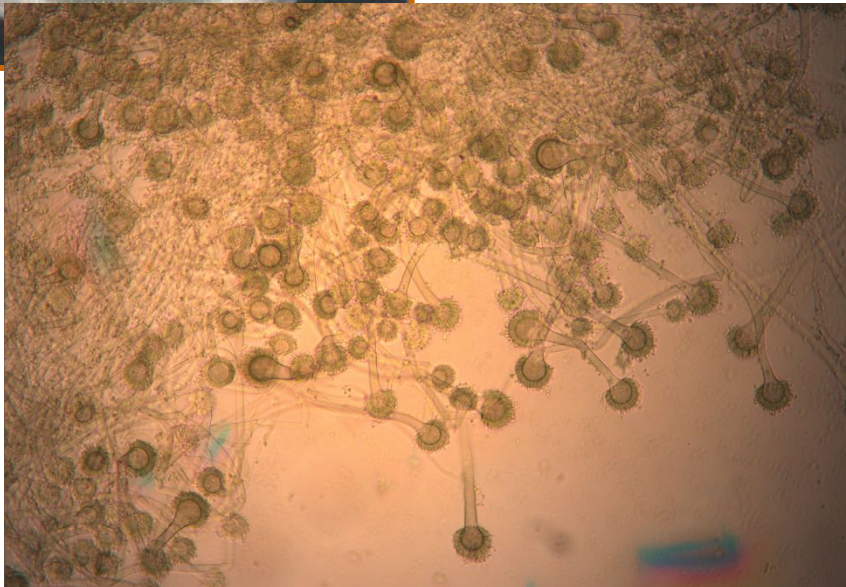
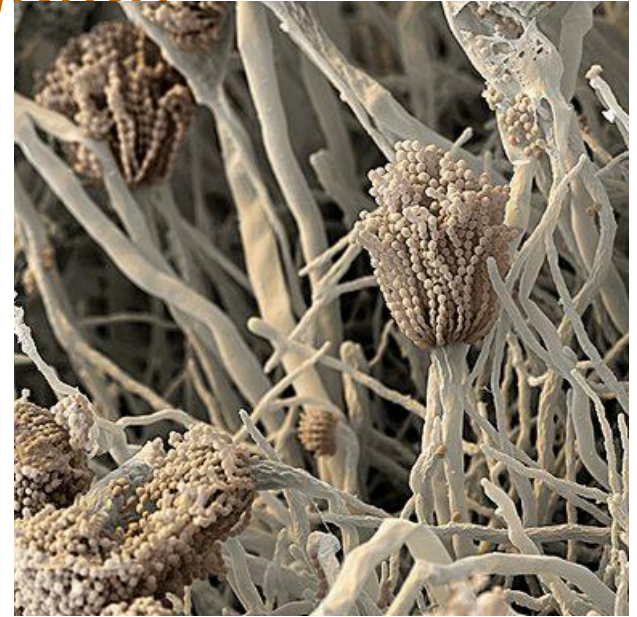


Fig. 5. Reverse of seven day old colonies on media indicated: a. *A. wentii* (CZ); b. *Neosartorya fischeri* (CZ); c. *A. clavatus* (CBS-MEA 2%); d. *A. fumigatus* (CZ); e. *A. ochraceus* (CZ); f. *A. carbonarius* (CZ); g. *A. foetidus* (CZ); h. *A. ustus* (CBS-MEA 2%); i. *A. sydowii* (CZ); j. *Emericella nidulans* (CZ); k. *A. japonicus* (CZ); l. *A. versicolor* (CZ). CBS-MEA 2% = 200 ml of malt extract diluted with water to 10% sugar content+ 800 ml water + 15 g agar (Samson *et al.*, 2000). Photos courtesy of Robert Samson, CBS.



Клетки Хюле (Hülle cells)

Культуральные и морфологические признаки *A. fumigatus*



Видовая идентификация *Aspergillus spp.*

Традиционная

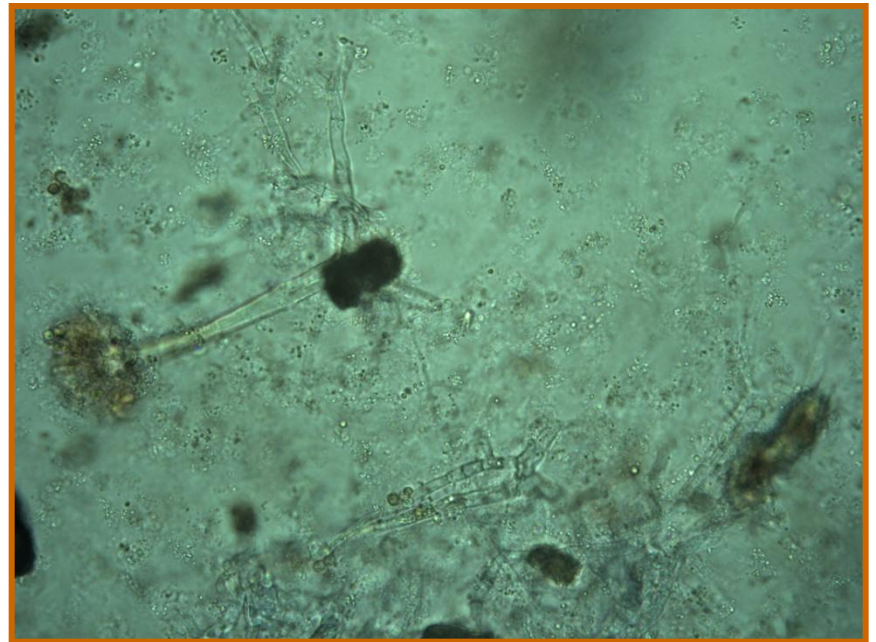
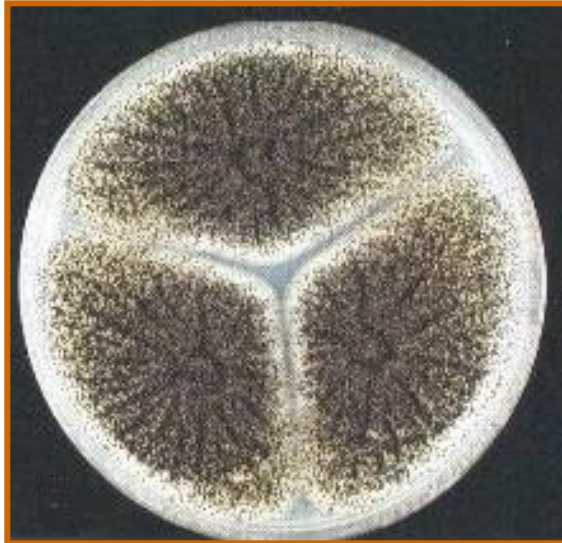
Aspergillus fumigatus

Молекулярно-биологическая



Aspergillus fumigatus
Aspergillus lentulus
Aspergillus fumigatiaffinis
Aspergillus novofumigatus
Aspergillus viridinutans
Aspergillus fumisynnematus

Культуральные и морфологические признаки *A. niger*



Aspergillus niger

1. Описание макрокультуры:

На среде Сусло-агар: колония темно-коричневого цвета, бархатистая, спороносная зона черного цвета, мицелий воздушный, субстратный; обратная сторона слегка складчатая, белого цвета.

На среде Чапека: колония черного цвета, бархатистая, хорошее спороношение, появляется на 4 сутки; обратная сторона гладкая, белого цвета.

2. Описание микрокультуры:

При микроскопии: конидиеносцы гладкие, бесцветные, или слегка шероховатые, шириной 20 мкм. Вздутия сферические, диаметром 50-55 мкм бурого цвета. Фиалиды на метулах располагаются радиально, по всей поверхности вздутия, цилиндрические, темно-бурого цвета:

метулы размером 12x4 мкм

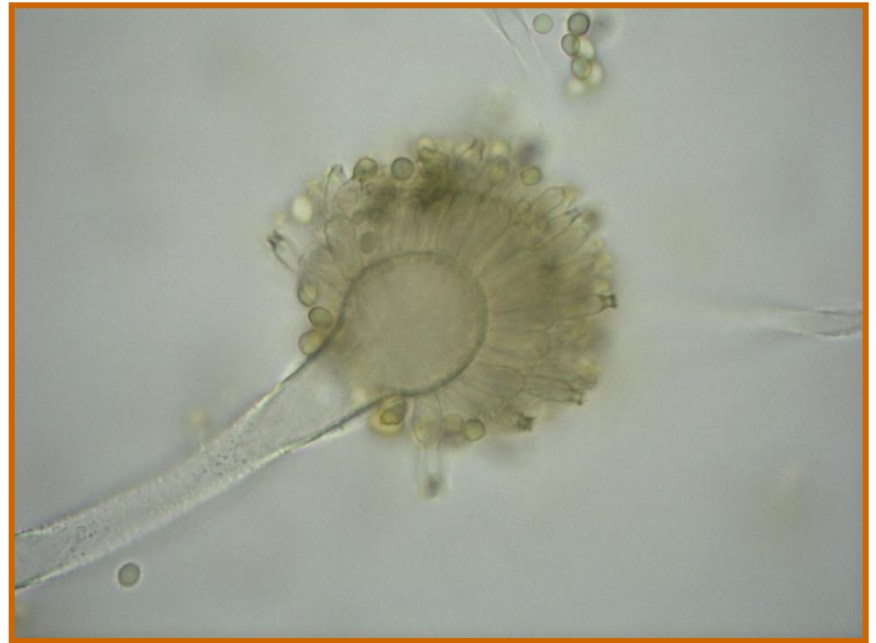
фиалиды размером 5x3 мкм

Конидии круглые, шероховатые, от светло-коричневых до темно-бурых, диаметром – 3,9 мкм. Скопления конидий черного цвета.

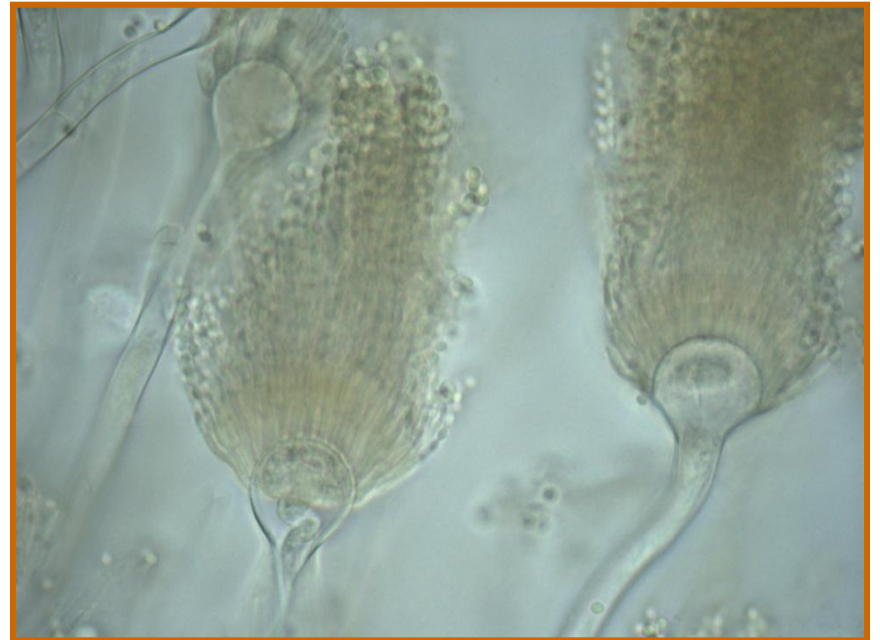
Мицелий септированный, бесцветный, шириной 4 – 4,3 мкм.

Растет при $t^{\circ}+28^{\circ}$ и $t^{\circ}+37^{\circ}$.

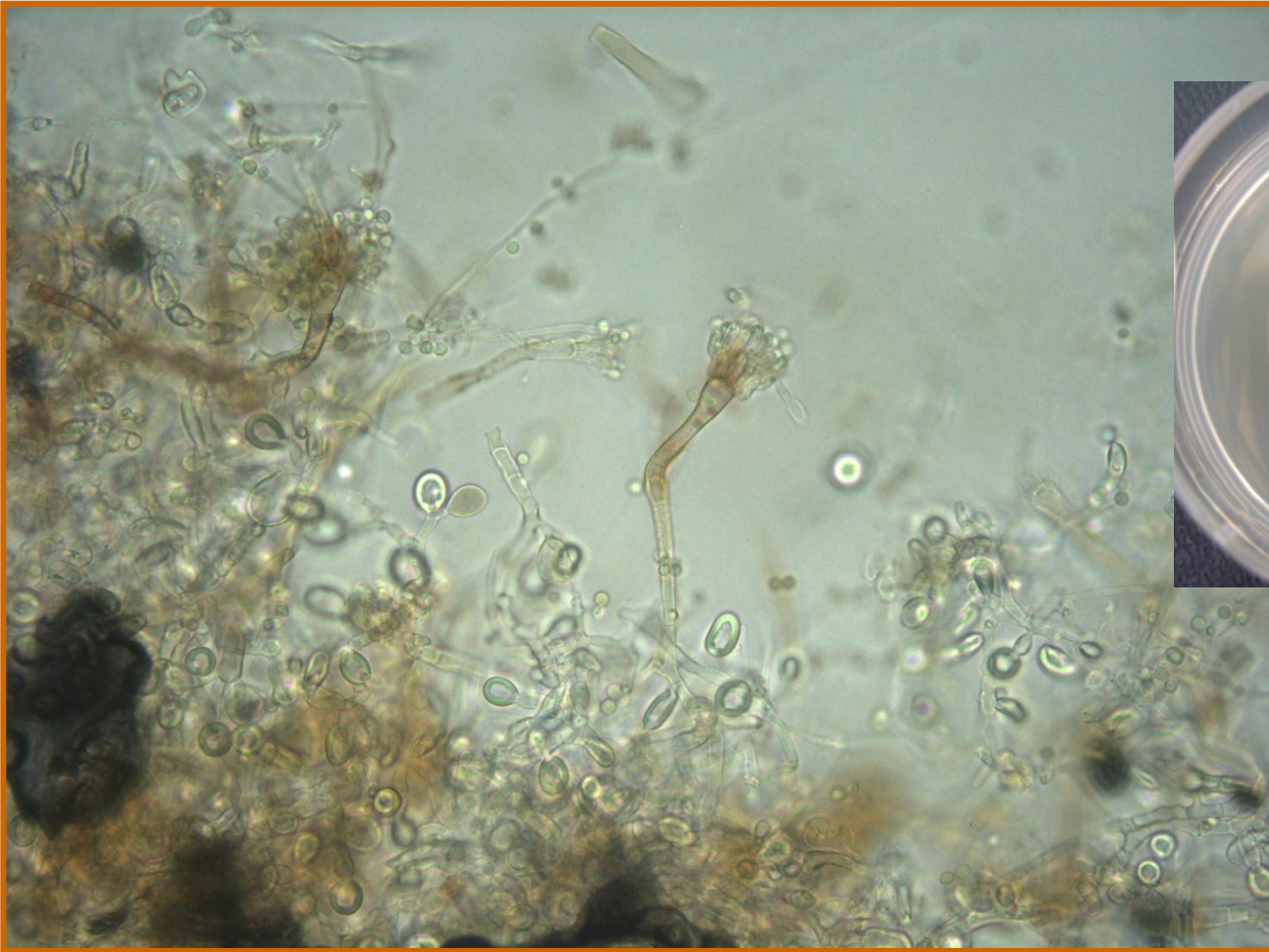
Культуральные и морфологические признаки *A. flavus*



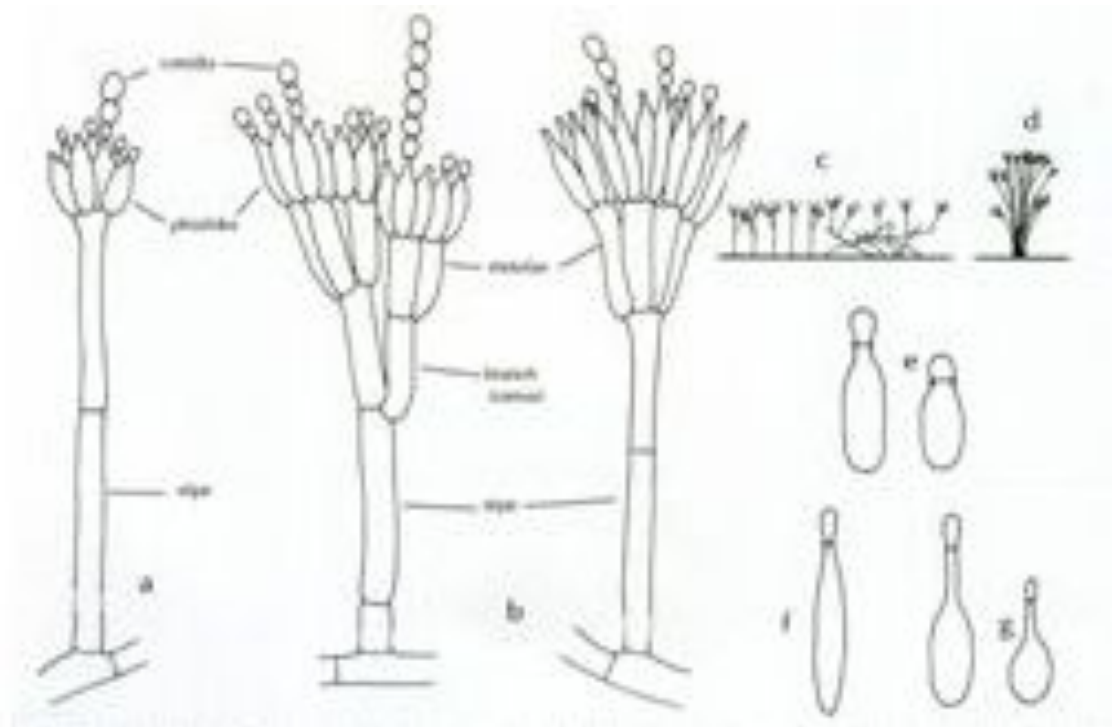
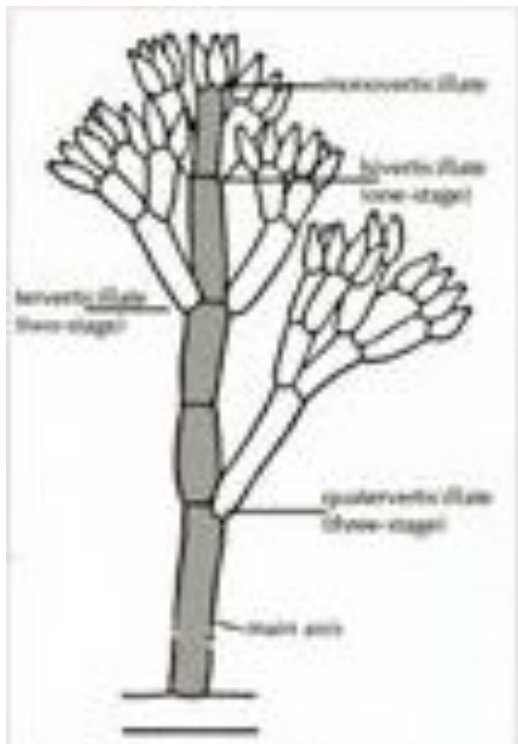
Культуральные и морфологические признаки *A. terreus*

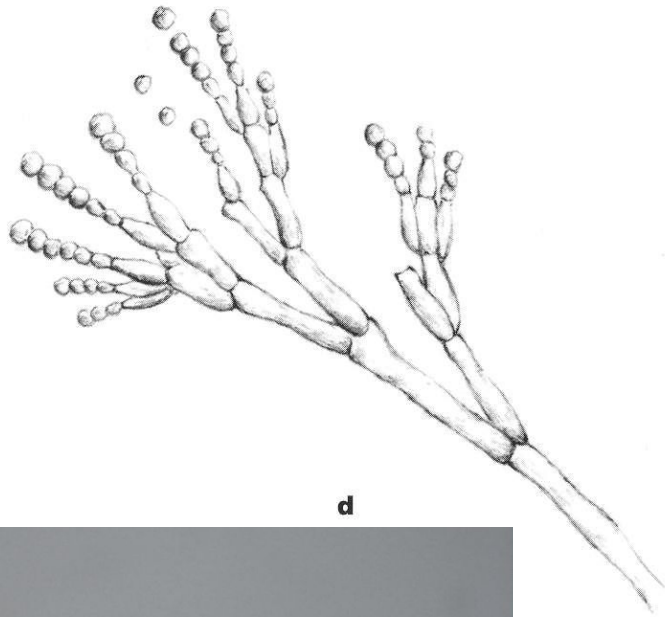


A. nidulans



Морфологические структуры р. *Penicillium*

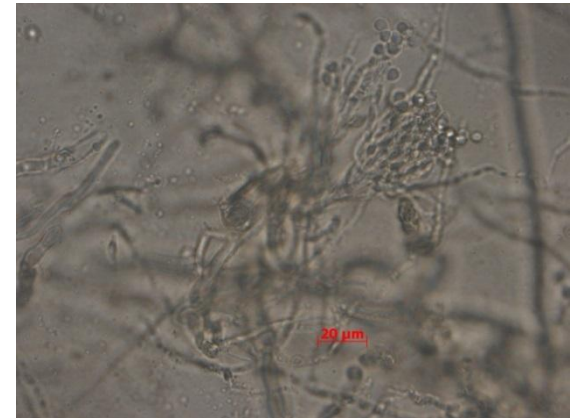
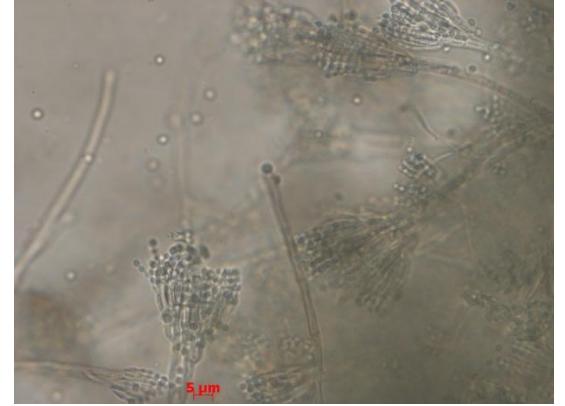




d



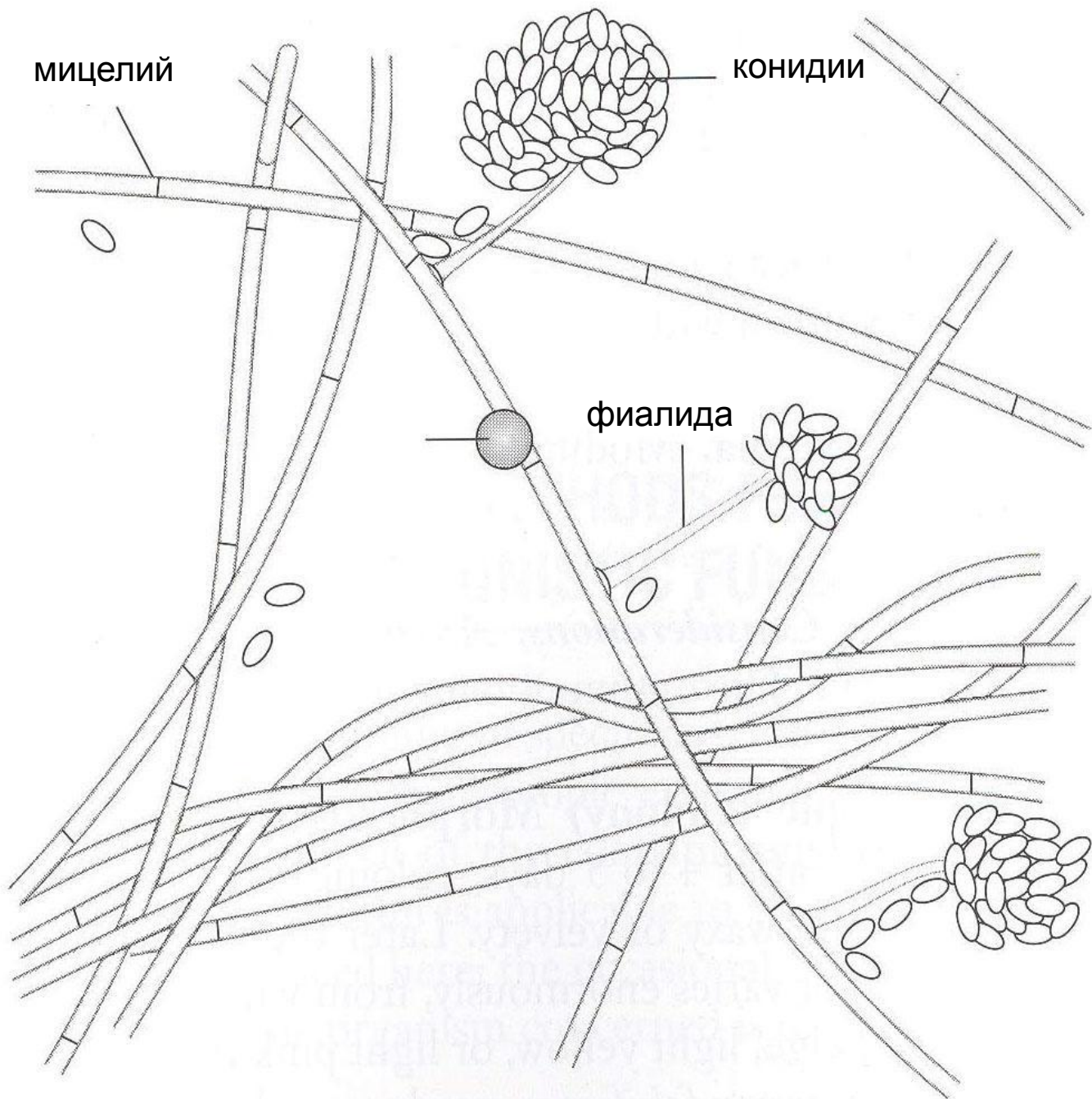
Penicillium sp.



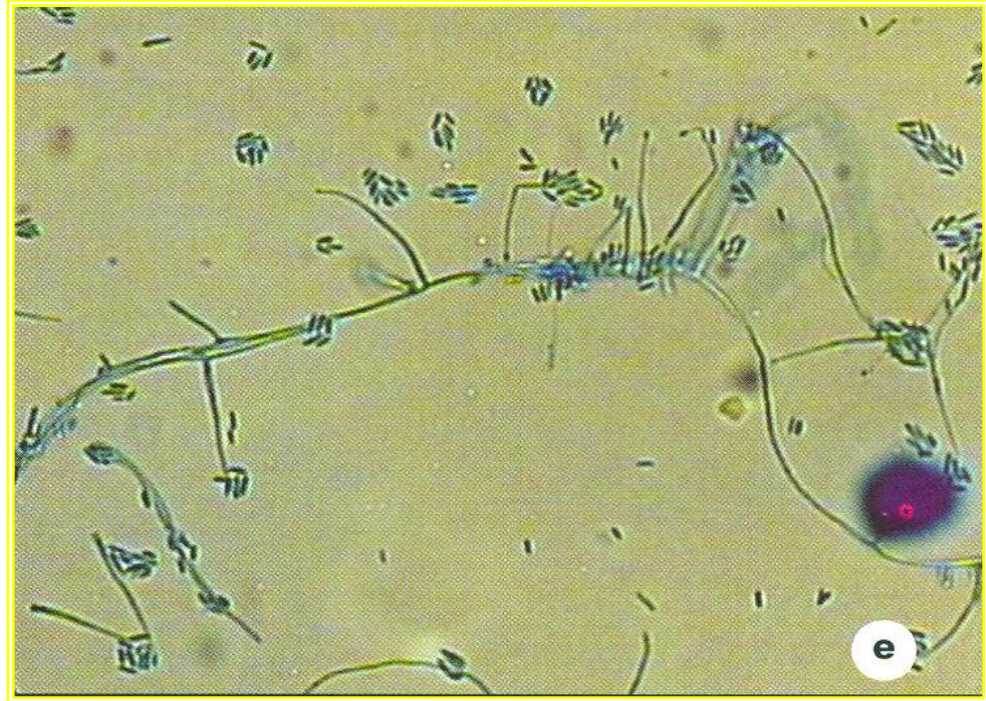
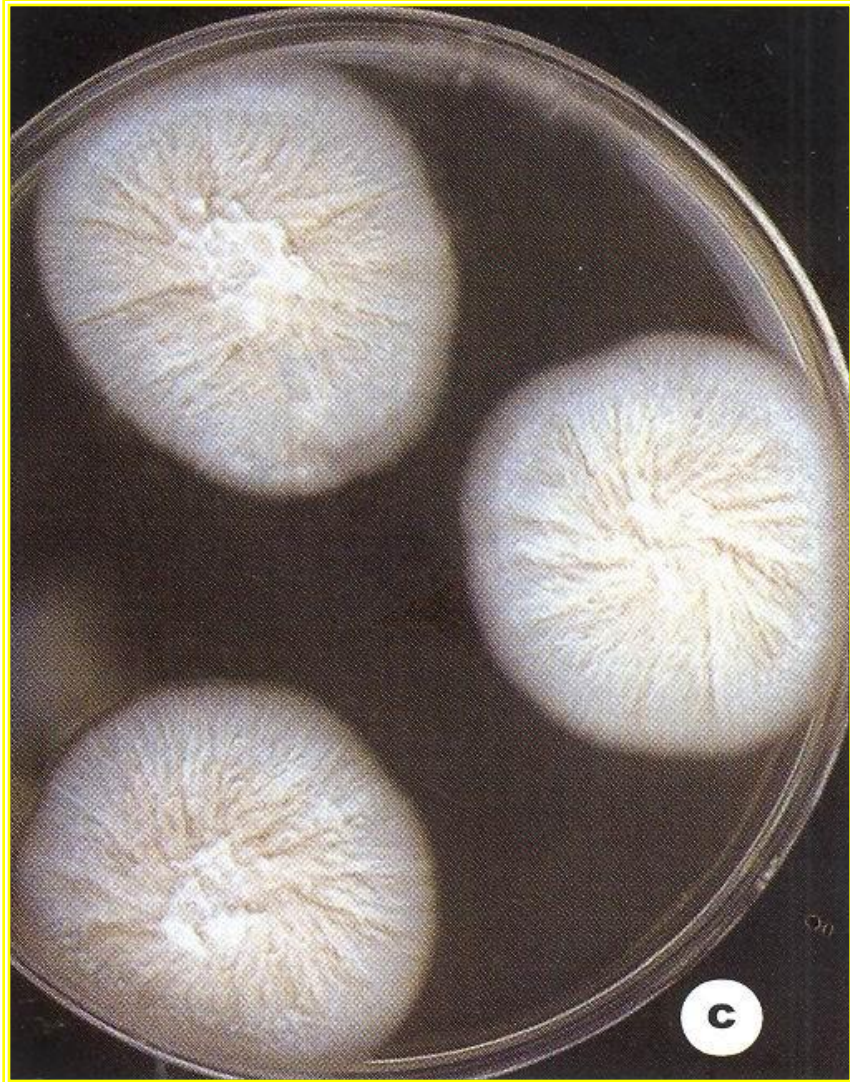
Растут на среде с циклогексимидом и без него. На среде без циклогексимида образуют белорозовые бархатистые колонии в течение одной недели.

Микроскопия:
Эллиптические конидии, собранные в группы у верхушек длинных фиалид.

***Acremonium* spp.**



Acremonium spp.

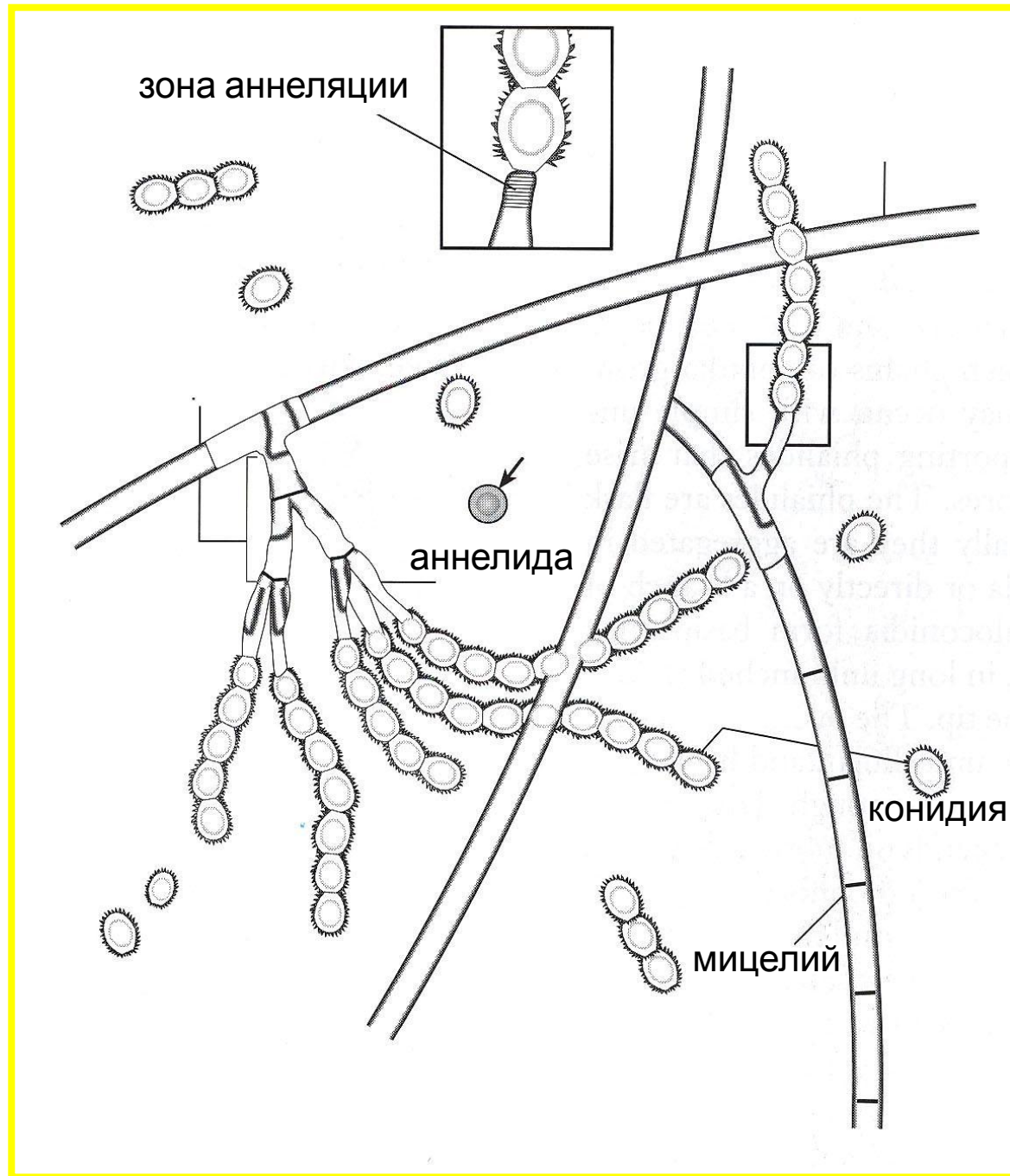


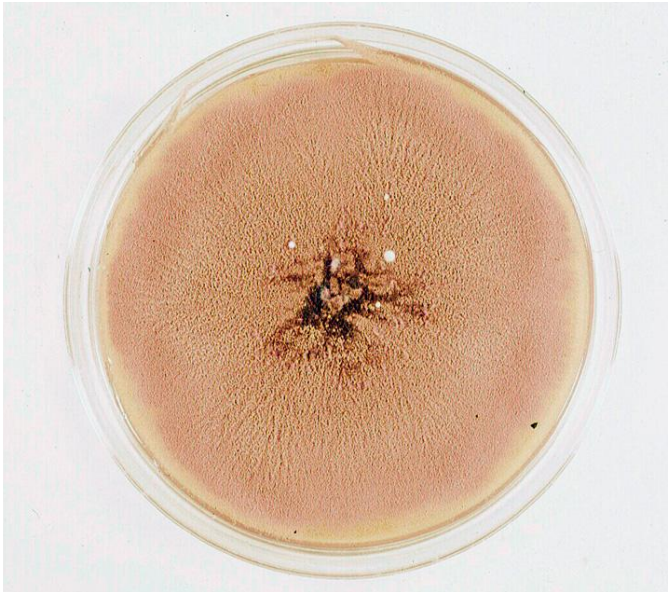
Растет на среде с циклогексимидом и без него. Образует в течение одной недели коричневые колонии с мучнистой поверхностью и светло-коричневой обратной стороной.

Микроскопия:

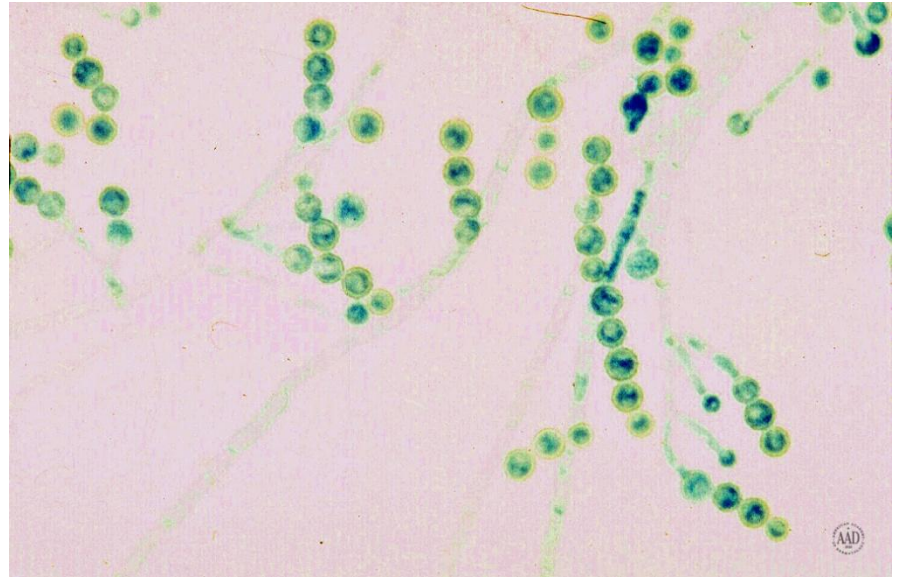
Многочисленные разветвленные конидиеносцы с цепочками конидий, имеющих лимоновидную форму.

Scopulariopsis brevicaulis



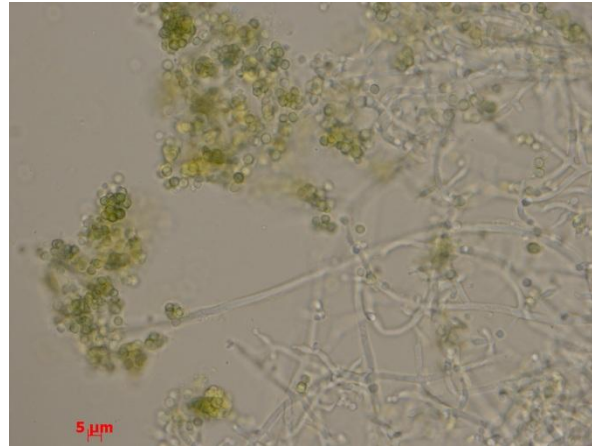


Культура
Scopulariopsis



Микроскопия культуры
Scopulariopsis

Trichoderma viride

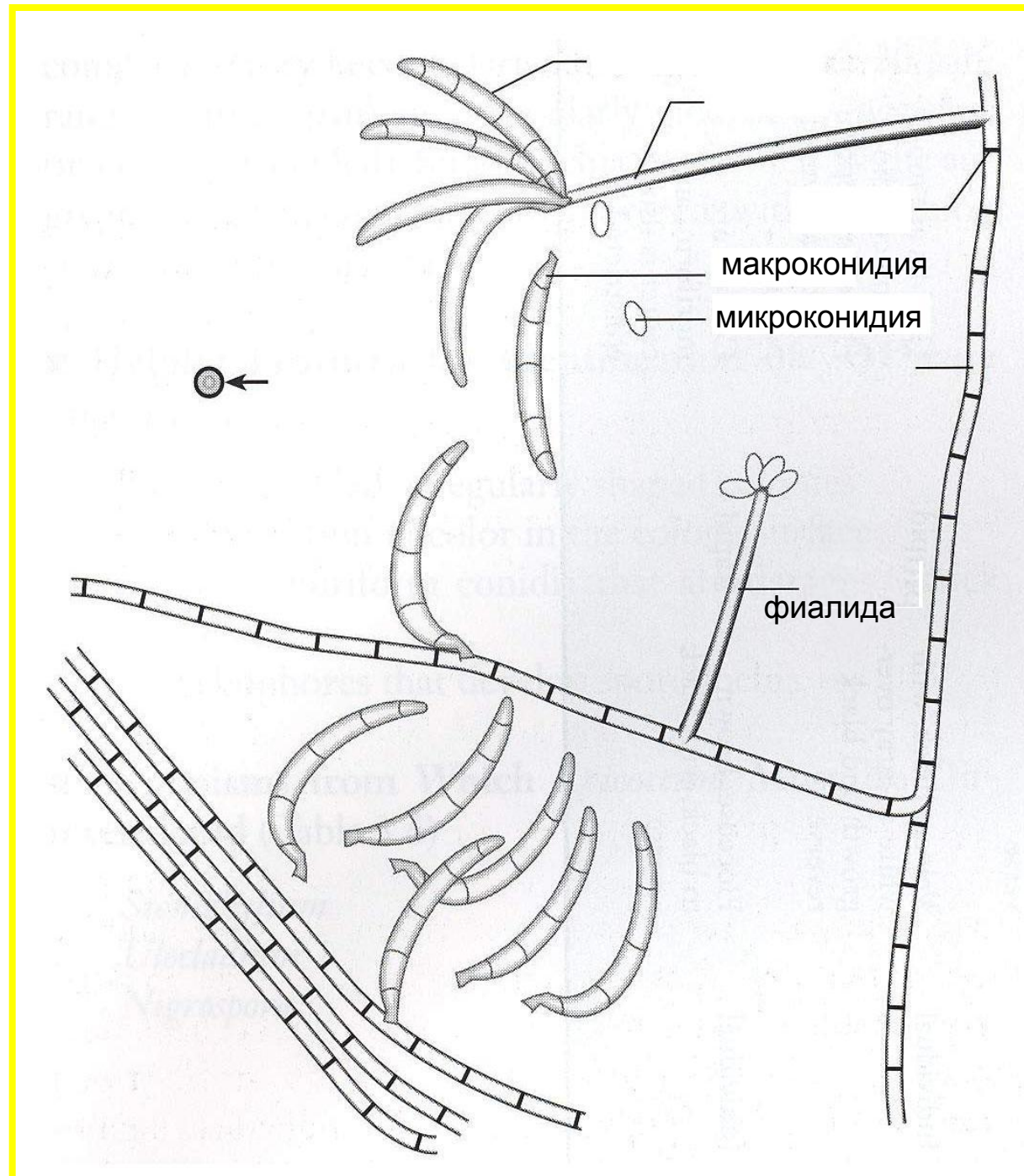


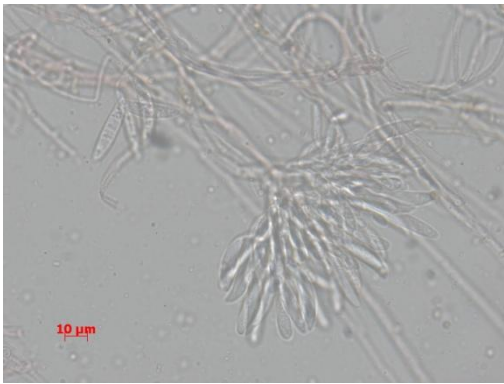
Trichoderma sp.

Растут только на среде без циклогексимида. В течение недели образуют плоские колонии, которые окрашены в бледно-розовый или коричневатый цвет.

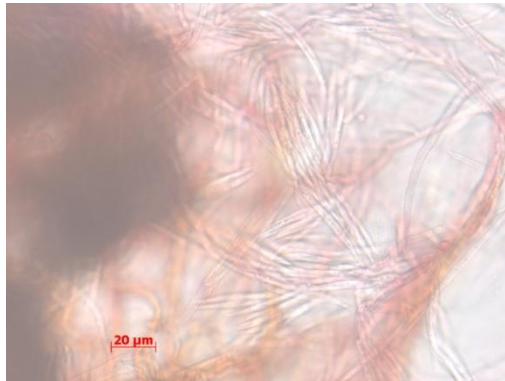
Микроскопия:
Многочисленные серповидные макроконидии и эллиптические или овальные микроконидии.

Fusarium spp.

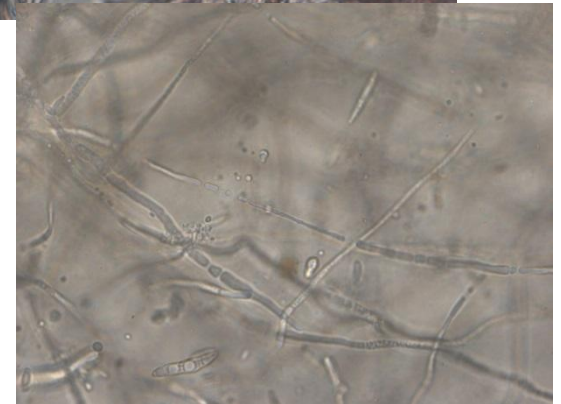
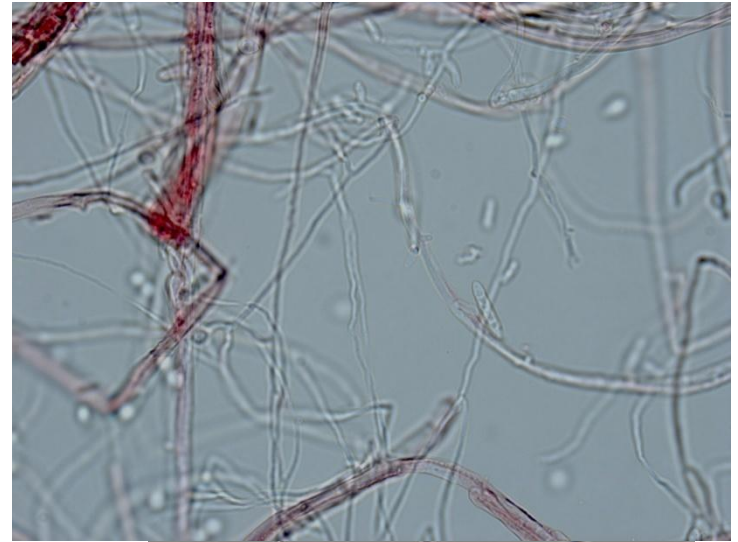




Fusarium (culmorum)



Fusarium (gibbosum)



Fusarium sp.

ОПАКО(ФЕО)ГИФОМИЦЕТЫ

Феоидные (демациевые) грибы – это грибы, окрашенные в цвета от бурого до черного за счет содержания в клеточных стенках **меланина**. У многих феоидных (демациевых) грибов в начале роста окраска бледная, а по мере созревания все более темная.

Феогифомицеты, как тёмно-окрашенные грибы могли бы быть названы опакомицетами или фускомицетами (по-лат. *opacus* и *fuscus* - тёмный).

Представители

Alternaria spp.

Aureobasidium pullulans

Bipolaris sp.

Exerohilum sp.

Cladophialophora spp.

Cladosporium spp.

Curvularia sp.

Drechslera sp.

Exophiala spp.

Fonsecaea sp.

Hormonema dematioides

Phialophora spp.

Phoma sp.

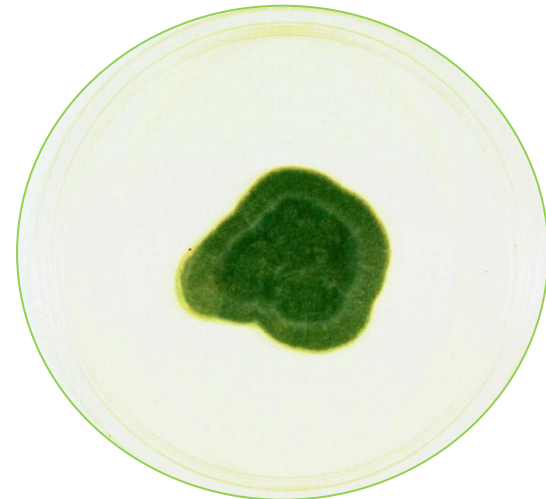
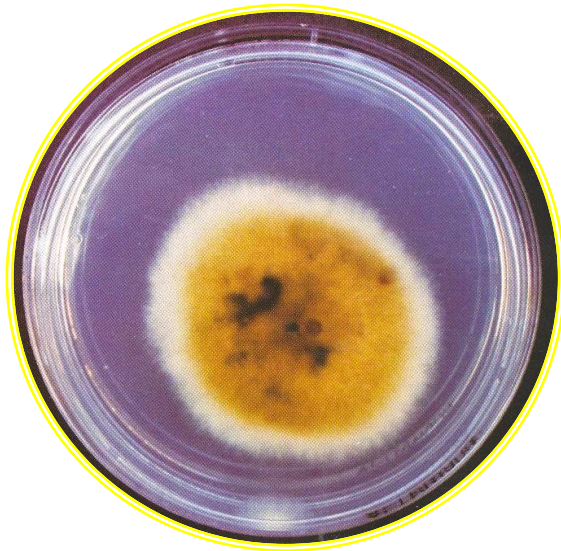
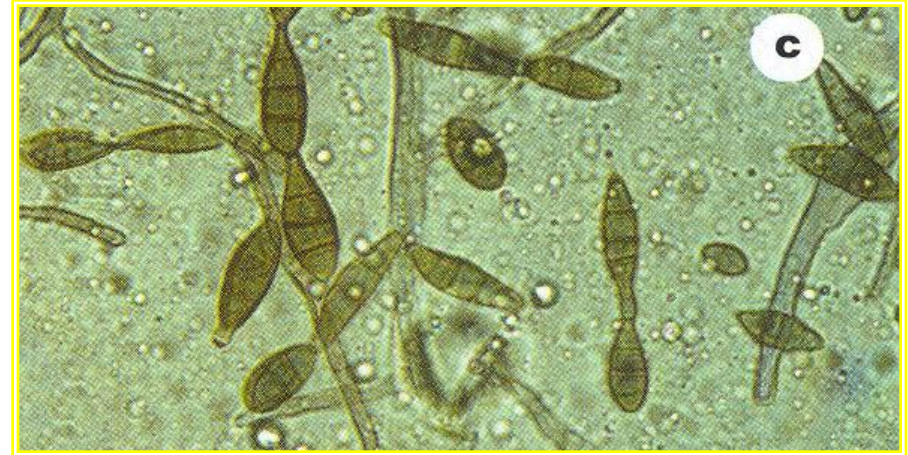
Xylohypha sp.

р. *Alternaria*

Alternaria alternata

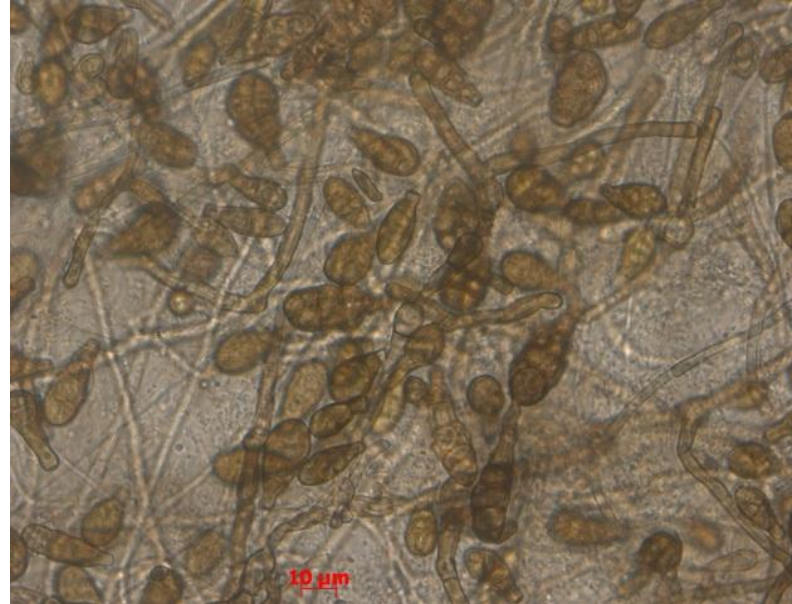
Признаки рода:

темные распростертые
колонии
мицелий и конидии
пигментированы
конидии многоклеточные с
продольными и поперечными
перегородками,
преимущественно в цепочках



Окраска обратной стороны колонии *Alternaria* sp.

Микроскопия
культуры
Alternaria sp.:
конидии с
поперечными и
продольными
перегородками.



Alternaria sp.

р. *Alternaria*

В культуре –
акропетальное
образование
муральных
конидий в
цепочках.



Муральная спора – это спора
(аскоспора или конидия),
имеющая вертикальные и
горизонтальные септы

р. *Alternaria*

Представители рода распространены широко – в почве, на деревьях, на стенах в сырых помещениях



Колонизация *Alternaria sp.* кожицы томата с типичной темной пигментацией

р. *Alternaria*

Колонии быстрорастущие серые до оливковых, мучнистые до шерстистых.

Конидиеносцы прямые коричневые многоклеточные.

Конидии коричневые, гладкостенные или бородавчатые с закругленным основанием и сужающейся верхушкой, перегородки продольные и поперечные.

Аскомицет. Порядок *Pleosporales*.

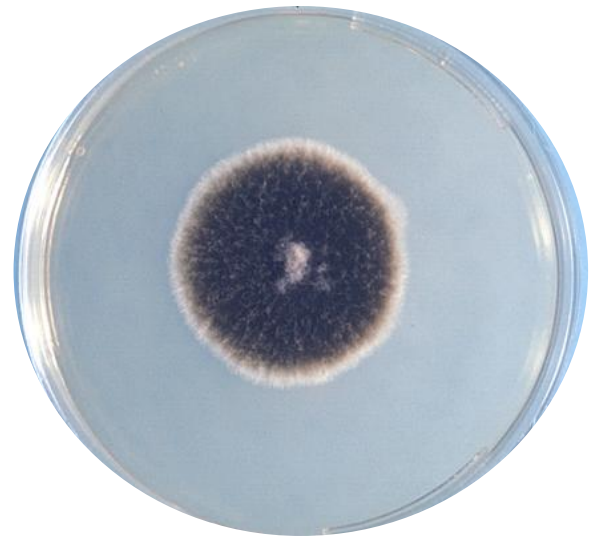
Род представляет собой большое число видов.

Преимущественно - сапротрофных или патогенных.

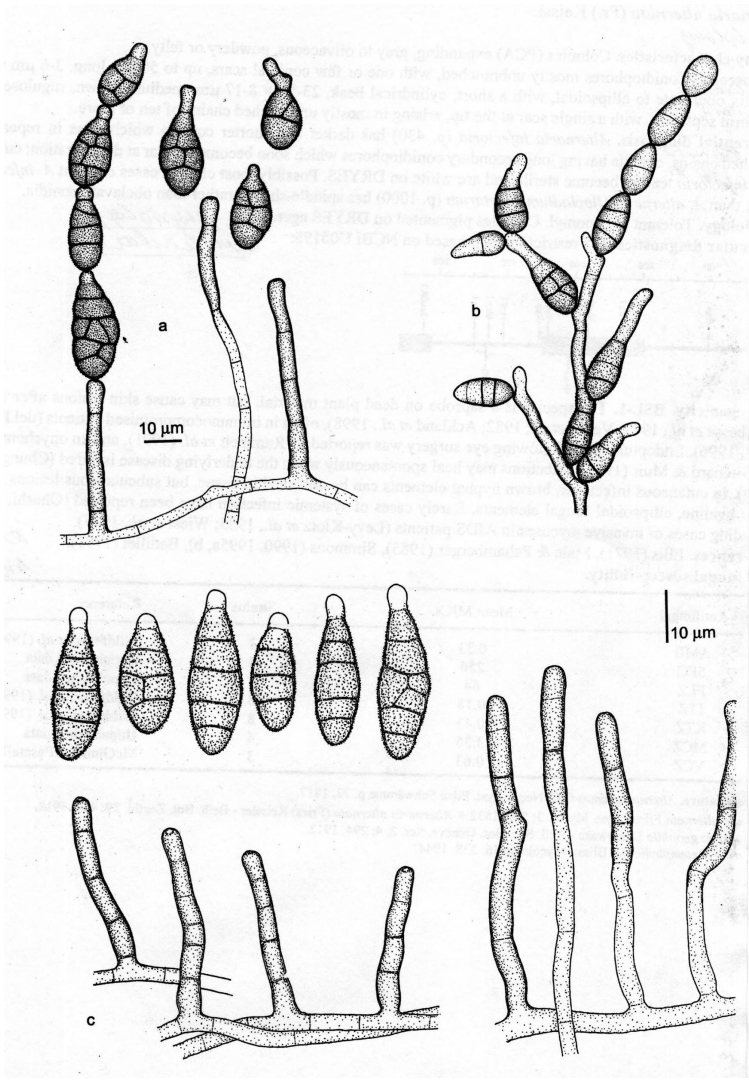
Большинство клинических случаев – поражение кожи после травм. Онихомикозы. Синуситы. Микотический кератит.

р. *Alternaria*

Alternaria sp. выделен из соскоба с роговицы
глаза на агаре Сабуро



p. *Alternaria*



Дерматомицеты

Грибы родов:

Trichophyton

Microsporum

Epidermophyton

Возбудители онихомикоза



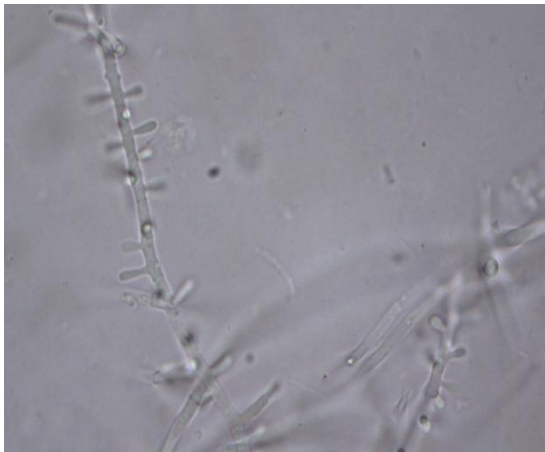
Первичные патогены

Условные патогены

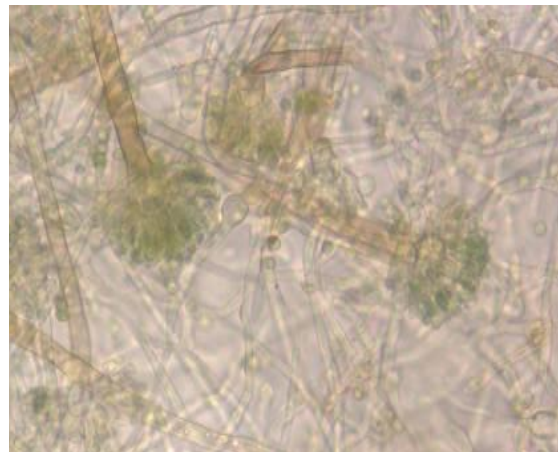
Дерматомицеты

Нитчатые
недерматомицеты

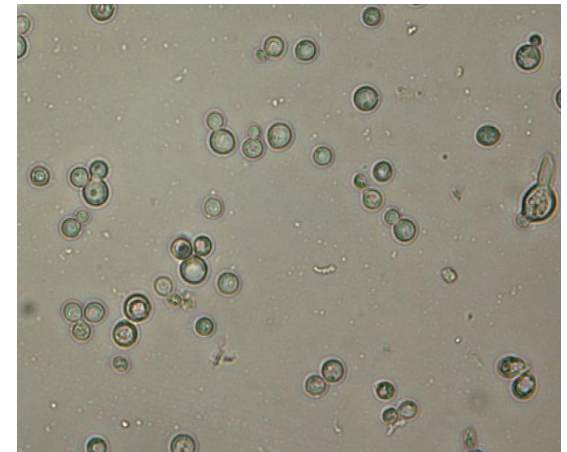
Дрожжи



Trichophyton rubrum



Aspergillus nidulans



Candida parapsilosis