

ДИАГНОСТИКА ГРИБКОВОГО ПОРАЖЕНИЯ ГЛОТКИ

DIAGNOSTICS OF PHARYNX MYCOSIS

Решетникова В.П.
Барышевская Л.А.
Зелева О.В.
Попов М.Н.

Reshetnikova VP
Baryshevskaya LA
Zeleva OV
Popov MN

ФГБОУ ВО «Самарский государственный
медицинский университет» Минздрава России

Samara State
Medical University

Цель — дать характеристику различным методам диагностики микотического поражения глотки, используемым во врачебной практике.

Материалы и методы. В статье рассмотрены различные методы лабораторной диагностики тонзиллофарингомикозов, показания к ним, представлен анализ 117 случаев тонзиллофарингомикоза у взрослых, подтвержденных исследованием толстой капли после инкубации в термостате в сочетании с посевом на кровяной агар. Кроме того, метод включает и исследование флоры, которая в большинстве случаев хронического процесса сопровождается микотическое поражение глотки.

Результаты. Выявлены преимущества представленной диагностики микозов глотки, которые заключаются не только в обнаружении мицелия гриба и его морфологического состояния, но и в определении его участия в воспалительном процессе. Кроме того, метод включает и исследование флоры, которая в большинстве случаев хронического процесса сопровождается микотическое поражение глотки. Из 100% наблюдений только в 17,9% (21 пациент) были обнаружены *Candida* в паразитической фазе как моноинфекция, в остальных (82,1%) случаях отмечалось присутствие бактерий. Наиболее часто выявлялось сочетание грибов рода *Candida* и *Streptococcus* spp (в том числе пневмококков), которые составили 41,9% от общего числа наблюдений, обнаружены *Staphylococcus* spp — у 10,3% наших больных. У остальных пациентов определяли более двух видов микроорганизмов. Это были следующие сочетания: грибы, стрептококки и стафилококки — в 17,9%, грибы и стрептококки в сочетании с *Klebsiella*, или *Moraxella catarrhalis*, или другой условно патогенной микрофлорой — в 12% случаев.

Выводы. Наиболее информативным в отношении микозов верхних дыхательных путей является способ, позволяющий не только выявить присутствие грибов рода *Candida* и их концентрацию, но и с помощью микроскопии толстой капли определить их состояние (сапрофитическое или паразитическое) по отношению к организму больного человека. Ценность метода увеличивается одновременным определением сопутствующей бактериальной флоры и ее отношением к макроорганизму. Описанный сочетанный способ диагностики микозов верхних дыхательных путей — это простой, доступный и высокоинформативный метод, имеющий право на широкое распространение в практической медицине.

Ключевые слова: диагностика, микоз, глотка, миндалины.

Aim — to characterize different methods for diagnosis of mycotic lesions of the pharynx used in medical practice.

Materials and methods. This article describes various methods of laboratory diagnostics of tonsillopharyngeal mycosis and their indications; and presents the analysis of 117 adult cases of tonsillopharyngeal mycosis confirmed by the analysis of thick blood film after the incubation in thermoregulator combined with blood agar inoculation. In addition, this method includes a microflora test which in most chronic cases accompanies pharyngeal mycosis.

Results. The study revealed relevant advantages of the presented methods of pharynx mycosis diagnostics, which not only detect the presence of mycelium and its morphology, but also evaluate its role in the inflammatory process. In addition, this method includes bacterial culture test that in most chronic cases accompanies pharynx mycosis. Out of 100% only 17.9% of observations (21 patients) showed *Candida* fungus in parasitic phase as mono-infection, the other 82.1% of cases proved bacterial presence. The most frequent combination was *Candida* and *Streptococcus* spp (including pneumococcus) that made up 41.9% of total observations. In 10.3% of cases *Staphylococcus* spp was detected. Other patients had more than two kinds of microorganisms. The following combinations were revealed: fungi, streptococci and staphylococci in 17.9% cases; fungi and streptococci with *Klebsiella* and/or *Moraxella catarrhalis* or other opportunistic pathogenic microflora in 12% cases.

Conclusions. The most effective method of research of upper airway mycosis is the one that enables to reveal *Candida* fungi presence and concentration as well as to identify their status (saprophytic or parasitic) in the patient's body using thick blood microscopy. The value of this method increases with simultaneous evaluation of associated microflora and its relation to macroorganism. Being simple, cost-effective and highly informative, complex method of diagnostics of upper airway mycosis can be widely used in medical practice.

Keywords: diagnostics, mycosis, pharynx, tonsils.

■ АКТУАЛЬНОСТЬ

Грибковая патология глотки занимает второе место среди микозов ЛОР-органов [1]. В последние десятилетия проблема грибкового поражения глотки и ее структур стала очень актуальной. Увеличение частоты тонзиллофарингомикозов связано с несколькими факторами. Одним из таких факторов, способствующих развитию грибкового поражения глотки, является использование антибактериальных средств. До широкого применения антибиотиков и антисептиков грибы рода *Candida* выявлялись в полости рта у 5,5% населения [1], а в настоящее время они есть у 30% [2]. Существенную роль в этом играет, на наш взгляд, широкое применение не только системных антибиотиков, но и неконтролируемое использование топических антибактериальных средств, антисептиков. Местные антибактериальные средства, имеющие безрецептурный отпуск, зачастую применяющиеся одновременно с несколькими другими схожими препаратами, становятся все более частой причиной развития дисбиоза глотки и как следствие — тонзиллофарингомикоза. Увеличение числа пациентов, страдающих бронхиальной астмой и использующих топические глюкокортикостероиды, также приводит к росту данной патологии. Травматические повреждения слизистой оболочки глотки, вызванные различными стоматологическими вмешательствами (зубопротезирование, имплантация зубов и т.п.) и даже тонзиллэктомия, удаление новообразования глотки могут способствовать развитию грибкового поражения глотки. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, изменяющая pH слизистой оболочки глотки, также считается предрасполагающим фактором развития тонзиллофарингомикозов [3].

В оториноларингологии грибковые поражения миндалин, задней стенки глотки, гортани относят к поверхностным микозам, и развиваются они зачастую на фоне уже имеющихся хронического воспалительного процесса в задней стенке глотки, миндалинах. В настоящее время, когда говорят о микотическом поражении глотки, обычно подразумевают патологию, вызванную грибами рода *Candida*.

Диагноз грибкового поражения глотки и гортани ставится на основании клинических данных, выявления грибов при микроскопии мазков со слизистой оболочки, положительных результатов при посевах на селективные питательные среды и верификации возбудителя [2]. При тонзиллофарингомикозе у пациента могут возникнуть боль, дискомфорт в горле, ощущение жжения, сухости, саднения, першения; иногда они возникают или усиливаются при приеме раздражающей пищи. Больные отмечают иррадиацию боли в зачелюстную область, на переднюю поверхность шеи и в ухо. Перечисленные жалобы не являются патогномоничными для тонзиллофарингомикоза, они могут сопровождать и бактериальное воспаление. Данные анамнеза могут позволить заподозрить грибковую природу процесса. К ним относятся длительные или неадекватные курсы антибактериальной, кортикостероидной, лучевой те-

рапии, контакт с вредными веществами (кислоты, аэрозоли), контакт с пылью, работа в помещениях с сухим воздухом и в условиях повышенной температуры, отсутствие вентиляции в помещении. Сахарный диабет, иммунодефицитные состояния, патология желудочно-кишечного тракта также увеличивают вероятность грибкового поражения слизистой оболочки глотки и миндалин [2].

Микотическую природу заболевания можно предположить и в тех случаях, когда обычные курсы лечения фарингитов и тонзиллитов не дают результатов или они кратковременны. Диагноз грибкового поражения глотки выставляется только после определения природы заболевания, то есть после получения результатов микробиологического исследования.

■ ЦЕЛЬ

Дать характеристику различным методам диагностики микотического поражения глотки, используемым во врачебной практике.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В современной медицине применяют трехэтапное лабораторное исследование патологического материала.

Первый этап включает микроскопию нативного препарата.

Второй этап предполагает культуральное изучение полученного биологического субстрата на плотных и жидких питательных средах.

Третий этап состоит из видовой идентификации выделенных штаммов грибов [1, 5 — 10].

Первые два этапа принято использовать как в практическом здравоохранении, так и в научных целях, третий же этап больше интересен в исследовательских целях.

На первом этапе материал изучается в неокрашенных или окрашенных препаратах. В первом случае предмет исследования помещают в каплю растворов едких щелочей или раствор Люголя двойной крепости [7]. Для окраски препаратов используют методы по Граму, Цилю—Нильсену, Романовскому—Гимзе, калькофлюором белым и др. Микроскопия мазков-отпечатков является методом экспресс-диагностики микоза, который может применяться при острых или хронических процессах, когда имеется ярко выраженная клиническая картина (как правило, это тяжелые онкологические пациенты, больные СПИДом).

При хроническом течении заболевания, когда зачастую нет четкого анамнеза, характерных признаков грибкового поражения, исследование мазка под микроскопом бывает недостаточным и может приводить к гипердиагностике и как следствие — к неправильному лечению. Предполагая грибковую природу заболевания, нельзя забывать о таких состояниях, как носительство, колонизация, контаминация. Названные состояния нельзя отнести к патологическим процессам. Скорее, это разновидности комменсализма или предзаболевание, но не патологический процесс. О.К. Хмельницкий [11, 12] указывает, что наличие на

поверхности слизистых оболочек одних дрожжевых форм гриба нельзя расценивать как этиологический фактор заболевания. А.Ю. Сергеев и Ю.В. Сергеев [8] подтверждают, что «обнаружение почкующихся клеток, псевдогиф ... не является критерием положительной микроскопической диагностики», а рассматривается как вариант фенотипической формы сапрофитного существования.

Культуральное исследование позволяет дать количественную оценку содержащихся в полученном материале микроорганизмов. Исследования на средах позволяют также определить чувствительность грибов к тем или иным антимикотикам, что содействует получению более эффективных результатов при лечении микозов. Повышенный титр в данном случае также зачастую не может расцениваться как микотическое поражение по тем же вышеперечисленным возможным состояниям.

Присутствие грибов рода *Candida* как патогенного агента сопровождается ростом и развитием гриба, о чем свидетельствует не только почкование и формирование псевдомицелия. Фактором, позволяющим четко определиться с этиологией заболевания, является сопутствующая воспалительная реакция, при которой в материале от пациента обнаруживаются нейтрофильные лейкоциты и макрофаги, активно фагоцитирующие элементы гриба.

Исследование материала в таких случаях проводится по следующей методике. Стерильным ватным тампоном, смоченным 1% сахарным мясо-пептонным бульоном, аккуратно протираются задняя стенка глотки, слизистая оболочка гортани, и получается содержимое лакун небных миндалин. Тампон сразу помещается в пробирку с 1% сахарным мясо-пептонным бульоном и инкубируется в термостате при температуре 37°C в течение суток. После этого делается пересев на кровяной агар методом газона. Посевы на чашках Петри инкубируются в термостате при температуре 37°C в течение 24–48 часов. Из выросших колоний готовятся препараты для изучения под микроскопом с использованием окрасок по методу Грама и Романовского—Гимзе. Кроме того, из бульонного посева после суток инкубирования в термостате готовится «толстая капля», которая окрашивается по методу Романовского—Гимзе. В этих препаратах хорошо видны клетки слущенного эпителия, нейтрофилы, макрофаги, клетки грибов, а также взаимоотношения всех перечисленных элементов. Активный фагоцитоз, наличие развитого псевдомицелия, активное почкование дрожжевых клеток, находящихся на поверхности клеток эпителия, дают основание говорить о паразитической фазе развития гриба и его причастности к возникновению патологического процесса. Если в препарате обнаруживаются округлые и /или овальные клетки гриба, располагающиеся между клетками эпителия, отсутствует развитый псевдомицелий и фагоцитоз гриба, то такая картина расценивается как сапрофитическая фаза *Candida*.

Количество грибов в 1 мл материала от пациента определяется следующим образом. Тампон после взятия материала помещается в пробирку с 1 мл стерильного физиологического раствора. Пробирку вместе с тампоном встряхивают в течение 10 минут, после чего содержимое пробирки засеивается методом газона на агар Сабуро с добавлением антибиотика в чашку Петри. Посевы инкубируются также при температуре 37°C в течение 48 часов, после чего подсчитывается число колоний дрожжеподобных грибов. Число дрожжевых клеток в 1 мл материала определяется с учетом объема взятого для исследования материала (0,1 мл на каждый тампон).

Однако зачастую не учитывается то, что микоз открытых систем, к которым относится глотка, есть проявление нарушения равновесия между представителями сапрофитной и условно-патогенной флоры (дисбиоза) слизистых оболочек, который развивается на фоне уже имеющихся хронических воспалительных заболеваний. В большинстве случаев микозов открытых систем обнаруживается сопровождающая грибы бактериальная условно-патогенная флора, которая тоже приобретает черты патогенности и влияет на клинические проявления и результаты лечения [2, 6, 8, 11, 12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 100% наблюдений только в 17,9% (21 пациент) были обнаружены *Candida* в паразитической фазе как моноинфекция, в остальных 82,1% случаев отмечалось присутствие бактерий. Наиболее часто выявлялось сочетание грибов рода *Candida* и *Streptococcus* spp (в том числе пневмококков), которые составили 41,9% (49 человек) от общего числа наблюдений, обнаружены *Staphylococcus* spp у 10,3% (12 человек) наших больных. У остальных пациентов определяли более двух видов микроорганизмов. Это были следующие сочетания: грибы, стрептококки и стафилококки — в 17,9% (21 пациент), грибы и стрептококки в сочетании с *Klebsiella*, или *Moraxellacatarrhalis*, или другой условно-патогенной микрофлорой — в 12% случаев (14 человек).

ВЫВОДЫ

Наиболее информативным в отношении микозов верхних дыхательных путей является способ, позволяющий не только выявить присутствие грибов рода *Candida* и их концентрацию, но и с помощью микроскопии толстой капли определить их состояние (сапрофитическое или паразитическое) по отношению к организму больного человека. Ценность метода увеличивается одновременным определением сопутствующей бактериальной флоры и ее отношением к макроорганизму. Описанный сочетанный способ диагностики микозов верхних дыхательных путей — это простой, доступный и высокоинформативный метод, имеющий право на широкое распространение в практической медицине. ■

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кунельская В.Я. Микозы в оториноларингологии. М.: Медицина, 1989. [Kunelskaya VYa. Mikozy v otorinologologii. M.: Meditsina, 1989. (In Russ.)].
2. Грибковые поражения глотки и гортани. Клинические рекомендации. Минздрав РФ, 2014:27. [Gribkovye porazheniya glotki i gortani. Klinicheskie rekomendatsii Minzdrav RF, 2014:27. (In Russ.)].
3. Блоцкий А.А., Карпищенко С.А., Катинас Е.Б. Грибковые заболевания ЛОР органов. СПб, 2014. [Blotsky AA, Karpischenko SA, Katinas EB. Gribkovye zabolevaniya LOR organov. SPb, 2014. (In Russ.)].
4. Кулага В.В., Романенко И. М., Черномырдин А. Б. Кандидозы и их лечение. Киев, 1985. [Kulaga VV, Romanenko IM, Chernomirdin AB. Kandidozy i ikh lechenie. Kiev, 1985. (In Russ.)].
5. Лещенко В. М. Лабораторная диагностика грибковых заболеваний. М.: Медицина, 1977. [Leschenko VM. Laboratornaya diagnostika gribkovykh zabolevanii. M.: Meditsina, 1977. (In Russ.)].
6. Фейер Э., Олах Д., Сатмари Ш. и др. Медицинская микология и грибковые заболевания. Будапешт: Изд-во акад. наук Венгрии, 1966. [Feier E, Olach D, Satmari S. et al. Meditsinskaya mikologiya i gribkovye zabolevaniya. Budapesht: Izd-vo akad. nauk Vengrii. 1966. (In Russ.)].
7. Мороз Е.Я. Кандидозы у детей. Л.: Медицина, 1971. [Moroz EYa. Kandidozy u detei. L.:Meditsina, 1971. (In Russ.)].
8. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Кандидоз. М.: Триада - X, 2000. [Sergeev AYU, SergeevYuV. Kandidoz. M.: Triada - X, 2000. (In Russ.)].
9. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. М.: Бином, 2003. [Sergeev AYU, SergeevYuV. Gribkovye infektsii. M.: Binom, 2003. (In Russ.)].
10. Соколова Г.А. Яробкова Н.Д., Мирзабалаева А.К. Кандидоз у больных сахарным диабетом: метод, рекомендации. СПб. МАПО, 1998. [Sokolova GA Yarobkova ND, Mirzabalaeva AK. Kandidoz u bol'nykh sakharnym diabetom: metod, rekomendatsii. SPb, 1998. (In Russ.)].
11. Хмельницкий О. К. Патологическая анатомия заболеваний, вызываемых патогенными грибами. *Многотомное руководство по патологической анатомии*. М.: «Медицина», 1964;(Т.9):625-662. [Khmel'niyskiy OK. Patologicheskaya anatomiya zabolevanii, vyzyvaemykh patogennymi gribami. *Mnogotomnoe rukovodstvo po patologicheskoy anatomii*. M.: «Meditsina», 1964;(Vol.9):625—662. (In Russ.)].
12. Хмельницкий О. К. Гистологическая диагностика поверхностных и глубоких микозов. Л.: «Медицина», 1973. [Khmel'niyskiy OK. Gistologicheskaya diagnostika poverkhnostnykh i glubokikh mikozov. L.: «Meditsina», 1973. (In Russ.)].

Участие авторов

Концепция исследования, написание и редактирование статьи: Барышевская Л.А.

Сбор и обработка материала: Решетникова В.П., Зелева О.В., Родионова С.В.

Конфликт интересов отсутствует.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Решетникова В.П. — к.м.н., доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии СамГМУ.

Барышевская Л.А. — к.м.н., доцент кафедры оториноларингологии им. академика И.Б. Солдатова СамГМУ.
E-mail: baryshevskaya.ludmila@gmail.com

Зелева О.В. — врач отделения оториноларингологии Клиник СамГМУ.
E-mail: olesyalorik@gmail.com

Попов М.Н. — к.м.н., ассистент кафедры оториноларингологии им. академика И.Б. Солдатова СамГМУ.
E-mail: mixa63@bk.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Reshetnikova VP – PhD, associate professor of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University.

Baryshevskaya LA – PhD, associate professor of the Otorhinolaryngology Department named after academician I.B. Soldatov, Samara State Medical University.
E-mail: baryshevskaya.ludmila@gmail.com

Zeleva OV – doctor of the Otorhinolaryngology Department of Samara State Medical University Clinics.
E-mail: olesyalorik@gmail.com

Popov MN – PhD, assistant of the Otorhinolaryngology Department n.a. academician I.B. Soldatov, Samara State Medical University.

Контактная информация

Барышевская Людмила Андреевна

Адрес: Самарский медицинский университет, улица Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.
E-mail: Baryshevskaya.Ludmila@gmail.com
Тел.: +7 (906) 345 10 08.

Contact information

Baryshevkaya Ludmila Andreevna

Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.
E-mail: Baryshevskaya.Ludmila@gmail.com
Tel.: +7 (906) 345 10 08.