

Значение микологического культурального исследования в диагностике отомикоза

Д.м.н., асс. **О.В. МОРОЗОВА**, д.м.н., проф. В.Н. КРАСНОЖЕН¹, Н.И. ГЛУШКО², Е.В. ХАЛДЕЕВА²,
С.А. ЛИСОВСКАЯ²

¹Кафедра оториноларингологии (зав. — проф. В.Н. Красножен) Казанской государственной медицинской академии, Казань, Россия, 420059; ²Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии (дир. — проф. Р.С. Фассахов), Казань, Россия, 420015

The role of mycological culture studies in diagnostics of otomycoses

O.V. MOROZOVA, V.N. KRASNOZHEN, N.I. GLUSHKO, E.V. KHALDEEVA, S.A. LISOVSKAYA

Kazan State Medical Academy, Russian Ministry of Health, Kazan, Russia, 420059; Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia, 420015

Проведен анализ результатов культурального исследования 350 пациентов с диагнозом «отомикоз» и «отит» со сложным течением в возрасте от 14 до 75 лет. В 64,8% случаев (227 пациентов) были обнаружены грибы, способные вызывать клиническую картину отомикоза. Наиболее значимым возбудителем были грибы рода *Candida* (45,4%). Плесневые микромицеты встречались в 30,8%, из них в сочетании с бактериальной микрофлорой — в 11,5% случаев, в ассоциации с дрожжеподобными грибами — в 6,7% случаев. Чаше всего выделялись грибы рода *Aspergillus*. Таким образом, в сложных случаях отомикоза наряду с плесневыми грибами значимая роль принадлежит дрожжеподобным грибам, а также грибковым и бактериально-грибковым ассоциациям, что требует дифференцированного подхода к назначению лечения.

Ключевые слова: отомикоз, грибковые заболевания, дрожжеподобные грибы, плесневые грибы.

The present work was designed to analyze the results of themycological culture study involving 350 patients at the age varying from 14 to 75 years with the diagnosis otomycosis. The pathogenic fungi known to induce the clinical picture of otomycosis were identified in 227 (64.8%) patients. The majority of the pathogenetical most significant species belonged to the genus *Candida* (45.4%). The mold fungi occurred in 30.8% of the patients. In 11.5% of the cases, they occurred together with bacterial microflora and in 6.7% of the cases in association with the yeast fungi. The species of the genus *Aspergillus* prevailed among the mold fungi. It is concluded that the complicated forms of otomycosis develop as a result of infection caused not only by mold fungi but also by yeast fungi and/or associations of the two groups. These findings suggest the necessity of using the differential approach to the prescription of the adequate medications.

Keywords: otomycosis, fungal diseases, mold fungi, yeast fungi.

В последние десятилетия по данным статистики отмечен значительный рост заболеваний, вызванных грибковой флорой [1, 2]. У пациентов с ЛОР-патологией микотическое поражение встречается в 6—10% случаев [2, 3]. Анатомо-физиологические особенности ЛОР-органов обуславливают специфический состав грибов-возбудителей. Только у пациентов с заболеваниями дыхательных путей и уха одной из основных групп возбудителей являются плесневые грибы, которые при грибковых поражениях других систем организма играют роль комменсалов.

Микотическое поражение ушей — отомикоз является распространенным заболеванием, наблюдающимся во всех странах мира. Большую роль в патогенезе отомикоза играют климатические условия. По данным литературы [1], частота отомикозов в странах с умеренным климатом колеблется от 6 до 26%, тогда как в странах с жарким климатом 70—80% всех норм наружного отита вызвано грибковыми возбудителями.

Микотическое поражение может затрагивать различные отделы уха. Исследованиями В.Я. Кунельской установлено, что у 58% больных отомикозом выявляется ми-

котический наружный отит, у 15% — микотический средний отит, у 27% — микоз послеоперационной полости среднего уха [2]. Развитию отомикоза способствуют состояние локальной или системной иммунологической недостаточности, нарушение углеводного обмена (сахарный диабет), длительное применение антибиотиков, кортикостероидных препаратов, причем как системных, так и местных в виде капель и мазей.

Жизнедеятельность грибов в ушах обеспечивается благоприятной температурой, отсутствием прямых солнечных лучей, свободным доступом влаги. Поэтому чаще других этими заболеваниями страдают любители купаться в бассейне, море [3]. Также одним из ведущих факторов является травматизация эпителиального покрова наружного слухового прохода различными предметами.

В настоящее время известно более 150 видов патогенных грибов, которые могут являться причиной отомикоза, но наиболее часто встречаются плесневые грибы рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* и дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Основными возбудителями отомикоза принято считать грибы рода *Aspergillus*, среди которых доминирует *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*. Эти патогены являются при-

чиной микоза и в странах с тропическим климатом. На втором месте по частоте стоит отомикоз, обусловленный дрожжеподобными грибами рода *Candida*: *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. kruzei*, *C. guilliermondii* [4, 5].

Грибы содержат различные ферменты (протеазы, липазы и амилазы), а также обладают рядом физиологических факторов, благодаря которым они способны воздействовать на макроорганизм (табл. 1).

Основными факторами патогенности дрожжеподобных грибов признаны внеклеточные аспарагиновые протеиназы, максимум активности которых проявляется в кислой среде (рН около 4) [6], у плесневых грибов основными раздражающими факторами служат выделяющиеся в процессе жизнедеятельности органические кислоты, а также другие низкомолекулярные метаболиты, включая микотоксины [2].

Обычно диагноз отомикоза ставится врачом при отоскопии на основании клинических признаков. По возможности производится микроскопия патологического отделяемого. Во многих случаях этих процедур бывает достаточно для правильной постановки диагноза и эффективно лечения. Однако у некоторых больных со сложным течением заболевания возникает необходимость расширенного культурального исследования в специализированной лаборатории. Лабораторная культуральная диагностика грибковых поражений представляет известные трудности, связанные, с одной стороны, с особенностями забора материала, с другой — с интерпретацией результатов. При отомикозах часто выявляются грибы, широко распространенные в окружающей среде, поэтому особенно важно разграничить истинного возбудителя от случайного контаминанта. Опыт работы авторов позволил выработать ряд приемов культуральной диагностики микозов ЛОР-органов, в том числе и отомикозов, позволяющих определить вид гриба и дать количественную оценку интенсивности обсеменения, а в необходимых случаях определить чувствительность грибкового штамма к антимикотикам.

Цель исследования — улучшение результатов диагностики отомикозов с использованием культурального микологического исследования.

Пациенты и методы

За последние 3 года были обследованы 350 пациентов с диагнозом «отомикоз» и «отит» со сложным течением заболевания в возрасте от 14 до 75 лет (23 мужчины и 52 женщины) и длительностью заболевания от 3 нед до 5 лет.

Для верификации возбудителей отомикоза были использованы следующие приемы:

— забор материала проводили только у предварительно подготовленных больных (исключалась локальная об-

работка антимикотическими и антисептическими препаратами, прием системных антибиотиков и фунгицидов) непосредственно из очага в стандартизованных условиях;

— посев и выращивание грибов проводили в помещениях, исключающих контаминацию сапрофитными видами грибов и бактерий;

— одновременный посев на бактериальную микрофлору проводили для выявления микст-инфицирования, а также определения содержания нормальной микрофлоры;

— в необходимых случаях проводили повторные исследования.

Для посева патологического отделяемого и смывов из наружного слухового прохода использовались следующие питательные среды: агаризованная обогащенная среда Сабуро; агаризованная среда Сабуро с добавлением антибиотиков (стрептомицин+левомицетин по 70 Ед/мл) для подавления роста бактерий; среда Чапека для плесневых грибов; тиогликолевая среда для бактерий.

Выращивание грибов проводили при температуре 28—30 °С в течение 7 сут до полного образования вегетативных спорангиев плесневыми грибами. Бактериальную микрофлору инкубировали 48 ч при температуре 37 °С.

Таблица 2. Грибы, выявленные при культуральном исследовании содержимого наружного слухового прохода

| Род гриба | Количество случаев | |
|----------------------------------|--------------------|------|
| | абс. | % |
| <i>Candida albicans</i> | 61 | 26,9 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 3 | 1,3 |
| <i>Candida kruzei</i> | 8 | 3,5 |
| <i>Candida parakruzei</i> | 6 | 2,6 |
| Другие грибы рода <i>Candida</i> | 25 | 11 |
| <i>Rhodotorula rubra</i> | 5 | 2,2 |
| <i>Trichophyton</i> spp. | 9 | 4 |
| <i>Malassezia</i> spp. | 4 | 1,8 |
| <i>Penicillium</i> spp. | 22 | 9,7 |
| <i>Asp. niger</i> | 31 | 13,7 |
| <i>Asp. fumigatus</i> | 8 | 3,5 |
| <i>Asp. flavus</i> | 7 | 3 |
| <i>Asp. terreus</i> | 3 | 1,3 |
| <i>Aspergillus</i> spp. | 21 | 9,25 |
| <i>Rhizopus nigricans</i> | 6 | 2,6 |
| <i>Fuzarium</i> spp. | 2 | 0,9 |
| <i>Acremonium</i> spp. | 2 | 0,9 |
| <i>Neurospora</i> spp. | 2 | 0,9 |
| <i>Mucor</i> spp. | 2 | 0,9 |

Таблица 1. Факторы воздействия грибов на макроорганизм

| Группы грибов | Внеклеточные ферменты | Агрессивные метаболиты | Токсины | Аллергены | Иммуносупрессоры |
|---|-------------------------------|--|--------------------------|--------------|---|
| Дрожжевые и дрожжеподобные грибы: <i>Candida</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Malassezia</i> | Протеиназы, фосфатазы, липазы | Органические кислоты | Внутриклеточные белки | Присутствуют | Активируются при генерализованных процессах |
| Дерматофиты: <i>Trichophyton</i> , <i>Epidermophyton</i> | Кератиназы, протеиназы | Не отмечены | Не отмечены | Присутствуют | Не отмечены |
| Плесневые грибы: <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Mucor</i> | Не изучены | Органические кислоты, антибиотики, эргостерины | Внеклеточные микотоксины | Присутствуют | Не изучены |

Таблица 3. Ассоциации грибов и бактерий

| Ассоциации | Абс. | % |
|---|------|------|
| Дрожжеподобные грибы + бактерии | 45 | 19,8 |
| Дрожжеподобные + плесневые грибы + бактерии | 18 | 6,7 |
| Дрожжеподобные грибы + дерматофиты + бактерии | 4 | 1,8 |
| Плесневые грибы + бактерии | 26 | 11,5 |
| Плесневые грибы + дерматофиты + бактерии | 4 | 1,8 |
| Дерматофиты + бактерии | 3 | 1,3 |
| Дрожжеподобные + плесневые грибы + дерматофиты + бактерии | 2 | 0,9 |

Грибы и бактерии идентифицировали по общепринятым критериям (морфология, наличие трубок прорастания, хламидоспор, ферментация углеводов). Антибиотикограмму определяли методом дисков на агаризованной среде Сабуро с коммерческими и стандартизованными дисками, применяя для контроля чувствительные и устойчивые штаммы гриба *Candida albicans* [1, 6].

Результаты и обсуждение

В результате исследования у 227 пациентов (64,8%) были обнаружены грибы, способные вызывать клинические проявления отомикоза. Наиболее часто у обследованной группы больных выделялись грибы рода *Candida* (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*) — 45,4% случаев. Плесневые микромицеты, представленные в основном *Aspergillus* spp., встречались в 30,8%, грибы рода *Penicillium* — в 9,7% случаев (табл. 2).

В 8% случаев дрожжеподобные грибы выделялись в незначительном количестве, что затрудняло их видовую идентификацию. Ассоциации дрожжеподобных грибов с бактериальной флорой обнаруживались у 19,8% больных (табл. 3).

Среди бактерий-ассоциантов наиболее важную роль в развитии инфекций играют стрептококки, нейссерии и синегнойная палочка. Эпидермальные стафилококки, являющиеся нормальной микрофлорой кожи, в некоторых случаях также вносят вклад в инфекционный процесс.

Значительное место в возникновении сложных отомикозов, по нашим данным, отведено плесневым микромицетам. Так, в сочетании с бактериальной микрофлорой они встречались в 26 случаях (11,5%), а в ассоциациях с дрожжеподобными грибами — в 18 случаях (6,7%). При этом чаще всего выделялись грибы рода *Aspergillus*: *Asp. niger* (13,7%), *Asp. fumigatus* (3,5%), *Asp. flavus* (3%), *Asp. terreus* (1,3%), а также *Penicillium* spp. (9,7%). В некоторых случаях в ассоциациях с дрожжеподобными грибами вы-

являли плесневые грибы, характерные для окружающей среды: *Rhizopus nigricans* (2,6%), *Fusarium* spp. (0,9%), *Acremonium* spp. (0,9%), *Neurospora* spp. (0,9%), *Mucor* spp. (0,9%), что может рассматриваться как вторичная контаминация. Присутствие данного вида грибов может быть также связано с особенностями жизни пациента. Так, *Fusarium* spp. (грибы, широко распространенные в природе) были выделены у больной, работающей на элеваторе, а *Acremonium* spp. — у штукатура-отделочника.

Следует отметить, что в 9 случаях (4%) в посевах определялись грибы — дерматомицеты *Trichophyton* spp., в основном в ассоциациях с плесневыми и дрожжеподобными грибами. В ряде случаев такое сочетание объяснялось наличием грибкового поражения ногтей и кожи рук. В то же время при лабораторной диагностике отомикоза нередко не обращают внимания на грибы, вырастающие на поздних (5—7 дней) сроках культивирования, хотя наличие на коже слуховых проходов дерматомицета вносит существенный вклад в симптоматику заболевания (зуд, шелушение), и, учитывая его длительный характер, снижает качество жизни пациента.

Заключение

Таким образом, микологическое культуральное исследование показало, что наряду с плесневыми грибами, наиболее часто упоминающимися в литературе в качестве возбудителей отомикозов (в частности, *Aspergillus niger*), в сложных случаях отомикозов большое значение имеют и дрожжеподобные грибы, а также грибковые и бактериально-грибковые ассоциации. Такие ситуации требуют проведения дифференциальной диагностики возбудителя заболевания и более тщательного подхода к назначению препаратов с учетом их активности по отношению как к плесневым, так и дрожжеподобным грибам, а также бактериальной флоре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Васильева Н.В. *Диагностика микозов*. СПб.: Издательский дом СПбМАПО; 2004.
2. Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И. *Проблемы и перспективы развития современной ЛОР-микологии. Успехи медицинской микологии*. М.: Национальная академия микологии. 2007; Том X: 218-220.
3. Rippon JW. *Pathogenic fungi and pathogenic actinomycetes*. Medical mycology. London: W.B. Saunders company; 1988.
4. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartil proteinases in virulence and pathogenesis. *Microb Molec Biol Rew*. 2003;67:400-428.
5. Куцевалова О.Ю., Вагнер В.П., Хабарова Т.Л. Микробиота наружного и среднего уха. *Проблемы медицинской микологии*. 2005;7:2:83.
6. Билай Т.И. *Термофильные грибы и их ферментативные свойства*. Киев: Наукова думка; 1985.