

**О. О. Мельник**, канд. біол. наук  
**І. В. Ліскіна**, д-р мед. наук, ст. наук. співроб.  
**О. Л. Мельник**, наук. співроб.

## **ЗАГАЛЬНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ГРИБКОВУ ІНФЕКЦІЮ ТА МОЖЛИВОСТІ ЇЇ МОРФОЛОГІЧНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ В УРАЖЕНІЙ ТКАНИНІ**

Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г.  
Яновського НАМН України»

Грибкові ураження (мікози) відносяться до одних із найбільш поширених інфекцій людини. За даними ВООЗ, кожен п'ятий житель Землі інфікований грибами, а кожен десятий має клінічні прояви інфекції. Частота грибкових захворювань по всьому світу складає до 20-70 % усього населення. З кожним днем число пацієнтів з грибковою інфекцією, незважаючи на очевидні успіхи та досягнення медицини, значно збільшується. Цьому значною мірою сприяли соціальні, медичні та фармакологічні фактори цивілізації. Зокрема, до медичних факторів можна віднести загальне погіршення показників імунітету серед населення, використання інвазивних методів діагностики, зростання кількості випадків різних захворювань, що часто супроводжуються грибковими інфекціями (цукровий діабет, онкологічні захворювання, ВІЛ-інфекція, тощо) [12].

Мікози – досить поширена група інфекцій, які викликаються великою кількістю видів (більше 500) різноманітних як патогенних, так і умовно-патогенних грибів. Мікози займають сьоме місце в структурі причин летальних наслідків від інфекцій. Останнім часом список хвороботворних грибів поповнюється в середньому на 10 видів у рік. Зростання випадків мікозів в цілому серед населення пов'язане з погіршенням екологічних умов, порушенням антиінфекційної резистентності людини, порушенням балансу між нормальною флорою і імунною реакцією організму, різкою активацією умовно-патогенних грибів, розширенням спектру збудників, що викликають ураження шкіри і внутрішніх органів.

Гриби – це багатоклітинні або одноклітинні нефотосинтезуючі еукаріотичні мікроорганізми з товстою клітинною стінкою (оболонкою). Клітина має ядро з

ядерною оболонкою, цитоплазму з органелами та цитоплазматичну мембрану [12, 16].

Клітинна оболонка визначає природну стійкість форми гриба, оскільки являє собою щільну пружну полімерну структуру, що виконує опорно-механічну функцію, захищає клітини від впливу зовнішніх факторів, має вибіркочувачу проникність для речовин різної хімічної природи. Клітинна стінка у грибів на 80-90 % складається з полісахаридів (манани, глюкани, целюлози), азотовмісних (хітин) і безазотистих сполук. У клітинній стінці також містяться білки, ліпіди, поліфосфати, нуклеїнові кислоти. Зовнішні шари оболонки часто містять пігменти, які надають клітинам грибів різного специфічного забарвлення [16].

Гриби умовно поділяють на нижчі і вищі. Вегетативне тіло грибів називається грибницею, або міцелієм, воно складається з окремих «ниток» – гіфів. Через міцелій відбувається всмоктування поживних речовин осмотичним шляхом. Гриби з найпримітивнішою будовою міцелію не мають, їхнє тіло складається з однієї клітини (дріжджі та внутрішньоклітинні паразитичні гриби). У грибів із більш складною будовою міцелій часто буває добре розгалужений, одноклітинний, багатоядерний. У вищих грибів міцелій багатоклітинний [16].

Гіфи здатні рости в довжину і розвиваються на поверхні або всередині живильного субстрату [12]. Гіфи грибів бувають одноклітинними з великою кількістю ядер, тобто однією гігантською клітиною, та багатоклітинними, або септованими, тобто розділеними перетинками (септами) на окремі клітини, містять від одного до значної кількості ядер. Гіфи можуть мати довжину до 10 см і більше, діаметр їх коливається від 1 до 25 мкм. Поверхня гіфів може бути гладкою, волокнистою, місцями складчастою, з шипами або сітчастою. За формою гіфи можуть бути прямими, зігнутими, спіралеподібними, із здуттям і заглибленнями, потовщеннями, короткими відростками-корінцями. Гіфи ростуть апікально, тобто верхівкою [16].

Таким чином, за будовою гриби розподіляються на дві групи – нитчасті (або плісняві, або міцелярні) і дріжджові.

У класифікації грибів особливе місце займають дріжджі – одноклітинні гриби, що належать до класу аскоміцетів (*Ascomycetes*). Клітини дріжджів нерухомі, іноді утворюють так званий псевдоміцелій. Клітини дріжджів мають найрізноманітнішу форму: округлу, овальну, овально-яйцеподібну, еліптичну, циліндричну, лимоноподібну, серпоподібну тощо. Дріжджові клітини значно більші, ніж бактеріальні, їх довжина становить 5-12 мкм, ширина – 2-6 мкм. Форма та розміри дріжджів можуть змінюватися залежно від умов розвитку та віку. Більш постійну форму мають молоді культури дріжджів [16].

Більшість грибів за способом живлення є сапрофітами (розвиваються на різних неживих органічних субстратах). Вони живляться органічними речовинами відмерлих організмів. Поселяючись на харчових продуктах, гриби можуть викликати їхнє псування. Розвиваючись на промислових матеріалах і виробках, шкірі, деревині, вони спричиняють їхнє руйнування. Деякі гриби використовують у технологічному процесі виробництва спирту, вина, пива, сирів, хліба, ковбасних виробів, лимонної кислоти, для отримання антибіотиків, ферментних препаратів тощо [16].

Гриби-паразити розвиваються на живих організмах та живляться органічними речовинами. Вони здатні викликати захворювання людей, тварин, уражують рослини, завдаючи шкоди сільському господарству й лісовим насадженням [16].

Доволі часто гриби вступають у симбіоз з водоростями та вищими рослинами, у таких випадках їх називають гриби-симбіонти. Результатом такого співжиття є виникнення мікоризи (співжиття грибів з коренями рослин) та виокремлено особливу групу організмів – лишайники.

Гриби, які є збудниками різних захворювань людини та тварин, називають патогенними грибами. Відносяться вони переважно до класу *Deuteromycetes* (дерматофіти, дріжджоподібні гриби та ін.), рідше до нижчих грибів та актиноміцетів. Патогенні гриби паразитують в певних тканинах різних організмів. Ступінь патогенності грибів визначається станом захисних сил макроорганізму, факторами, що сприяють проникненню спор збудника в організм, а також наявністю

відповідних ферментів та здатністю до паразитування в тканинах і органах при температурі 35-37°C [2].

Деякі з грибів-сапрофітів можливо віднести до умовно-патогенних грибів, оскільки при певних несприятливих умовах для організму людини вони можуть слугувати чинником розвитку грибкового захворювання. Існують дві головні причини, які можуть створити умови, при яких в принципі безпечні для людини гриби викликають захворювання. Одна із них – зниження захисних властивостей органів і тканин людини, тобто стан імунодефіциту. Друга причина – властивості самих грибів, а саме, так звані фактори агресії. Зокрема це здатність деяких компонентів клітин грибів розчиняти органічні структури, в тому числі і живі тканини, призводячи до їх руйнування. В природі ця властивість грибів зазвичай реалізується на мертвому субстраті. В організмі людини в умовах імунодефіциту в якості живильного середовища можуть використовуватися живі тканини. Іншими словами, виникає паразитування грибів в живому організмі. Особливо часто це трапляється при повторному або масовому надходженні клітин грибів в організм. У нормальних умовах організм людини встигає вивільнитися від клітин грибів по мірі їх надходження в порожнини, що з'єднані із зовнішнім середовищем, а саме, в органи травлення і дихання [5].

Ґрунтуючись на прийнятих світових стандартах та згідно санітарних норм, широко використовуються поняття «груп патогенності» – від першої групи, самої небезпечної, куди гриби не входять, до четвертої, яка включає умовно-патогенні мікроміцети або «рівня біологічного ризику» (biosafety level, BSL) – від BSL 4, найвищого, до BSL 1, здатних викликати захворювання у випадках значного зниження імунного статусу [5, 10].

Захворювання, що викликаються патогенними грибами, умовно можна поділити на дві групи: поверхневі мікози та системні, або глибокі мікози. Мікози, що викликаються умовно-патогенними грибами, можуть мати змішаний клінічний перебіг [12]. Поверхневі мікози обмежуються епідермісом, волоссям та нігтями і досить легко діагностуються за клінічними проявами та культурою. Глибокі мікози

зазвичай вражають шкіру, легені або можуть мати розповсюджений дисемінований характер [19]. Глибокі (вісцеральні) мікози (аспергильоз, кандидоз, геотрихоз, зигомікоз, криптококоз та ін.), як правило, зустрічаються в групах ризику: у хворих з ендокринними порушеннями, туберкульозом, бронхіальною астмою, хронічними процесами в легенях, онкологічними та гемобластичними захворюваннями, СНІДом, тощо [12].

В останні роки в царині глобальних проблем охорони здоров'я набули значної актуальності опортуністичні мікози, які є частими ускладненнями багатьох захворювань, що входять у компетенцію лікарів різного фаху.

Опортуністичними захворюваннями називають інфекційні захворювання, що спричиняють мікроорганізми, які зазвичай не здатні викликати хворобу у людини (тварини) із повноцінною імунною системою, але можуть розвиватися у організмів з ослабленою імунною системою.

Розвиток таких інфекцій частіше відбувається на фоні пригнічення антимікотичної резистентності організму людини. Основними збудниками опортуністичних грибкових інфекцій є цвілеві гриби роду *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* і дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Міцелярні мікроміцети широко поширені в природі і тільки при певних умовах можуть набувати патогенних властивостей та викликати ураження органів і систем людини. Зростання частоти і значимості опортуністичних інфекцій на сучасному етапі характерне для всіх країн світу. Поряд з цим на теперішній час значно виросла захворюваність глибокими мікозами [11]. За даними деяких авторів, кількість мікозів, що спричинені опортуністичними грибами, щорічно збільшується на 5-10 % і подвоюється кожні 10 років [6].

Воротами грибкової інфекції частіше всього є шкірні покриви та органи дихання [8, 9, 14, 18, 26].

Основними чинниками навколишнього середовища, що сприяють розвитку грибкових інфекцій шкіри, є вологе тепло і надмірне потовиділення, носіння закритого взуття із штучних матеріалів, або часте використання гумових рукавичок.

Ну і безумовно, потребує обережності контакт людини із потенційно інфікованими поверхнями або предметами. Поверхневі мікози уражують ділянки, багаті кератином, такі як волосся, нігті та шкіра. Викликаються головним чином дерматофітами (особливо це стосується *Trichophyton rubrum*) [14]. Вони проникають у шкіру в результаті руйнування кератину, що відбувається під дією ферменту гриба кератинази. Манани (полісахариди), що містяться у стінці збудника, здатні гальмувати імунні реакції; що робить його стійким до руйнування імунними клітинами. Гриб розмножується у роговому шарі епідермісу та волосяних фолікулах, спричинюючи запальні реакції шкіри, порушення живлення волосся. Запалення шкіри зазвичай супроводжується незначним випотом ексудату, розвитком невеликих вузликів і міхурців, з наступним утворенням кірочок та їх лущенням. Іноді гриби проникають углиб шкіри і зумовлюють утворення струпоподібних кірок, просякнутих клейким випотом, які щільно прилягають до шкіри. Інколи можливе поширення збудника в організмі лімфогенним і гематогенним шляхами з формуванням дисемінованих мікотичних процесів у легенях, печінці, селезінці та інших органах, порушенням обмінних процесів, що призводить до виснаження і навіть загибелі людини [13].

Під впливом грибів посилюється ріст і розвиток папілома-вірусів, які викликають утворення бородавок на долонях і підшвах. Також захворювання можуть бути викликані інтердигітальним трихофітоном (*Trichophyton interdigitale*), дріжджоподібними або пліснявими грибами. Наразі зросла частота виділення змішаної грибково-бактеріальної флори при мікозах; стали більш тяжкими їх ускладнення. Захворювання набувають поширеності й генералізованого характеру при наявності таких супутніх захворювань, як: 1) ендокринні порушення (особливо цукровий діабет); 2) імунодефіцит; 3) серцево-судинна патологія [13].

При інфікуванні органів дихання спори гриба з пилом потрапляють у бронхи та альвеоли, де вони трансформуються в паразитичні форми, проникають у тканини і зумовлюють виникнення первинного легеневого вогнища. З током лімфи збудник може проникати в лімфатичні вузли, викликаючи запальний процес. Наявність гриба

в тканині може зумовити формування гранульоматозного процесу, який завершується некрозом, виразкою або петрифікацією легеневої тканини і лімфатичних вузлів, рідше абсцедуванням. Така форма перебігу грибкової інфекції дуже подібна до первинного туберкульозу легень, але діагностичні можливості стосовно опортуністичних уражень залишаються обмеженими внаслідок відсутності патогномонічних клінічних симптомів і надійних лабораторних критеріїв [7, 17]. Таким чином, рання діагностика і своєчасний початок лікування мають ключове значення для успішного лікування хвороби [24].

Діагностика мікозів людини дотепер залишається досить непростим питанням. У діагностиці застосовуються мікроскопічні (у тому числі гістологічні), мікологічні (культуральні), алергічні, серологічні, експериментальні, молекулярно-біологічні та інші методи дослідження.

Дотепер застосування культурального методу для виявлення конкретних патогенів залишається найбільш ефективним, хоча грибкові організми можуть рости тижнями, якщо взагалі виростуть. Відповідно, досить часто грибкові інфекції діагностуються за допомогою звичайного патогістологічного дослідження зразків тканини, яке займає від 24 до 48 годин при максимально пришвидшеному процесі. Хоча патогістологічне дослідження корисне для диференціації між грибковою колонізацією та інфекцією, шляхом ідентифікації процесу проникнення чи запалення в тканині, проте встановлення роду та виду організму є досить обмеженим [24].

В таблиці 1 представлені різні барвники та альтернативні методи фарбування грибів у тканинах, які наразі застосовуються в медичній практиці. Фарбування за всіма цими методиками забезпечує більший і кращий контраст, виокремлюючи клітинну стінку гриба, однак потрібно пам'ятати, що і при використанні цих методів часто має місце помилкова ідентифікація, можна отримати несправжньо позитивні та несправжньо негативні результати. Зокрема, використання GMS може призвести до поганого фарбування при фрагментації або некрозі грибкових елементів [23]. Ще одним обмеженням є те, що забарвлення при GMS близьке до природного кольору

цвілі, ускладнюючи цим ідентифікацію гіалінових організмів із мертвих рослин, та не дозволяє у деяких випадках правильно інтерпретувати результати фарбування [29]. При використанні PAS структурні елементи фонові тканини також можуть забарвлюватися одночасно з клітинною стінкою гриба [19, 23].

Таблиця 1

**Барвники та альтернативні методи фарбування грибів у тканинах,  
цитується за [23]**

Барвники (методи фарбування)	Особливості застосування	Результати фарбування
1. Гематоксилін та еозин (HE)	Використовується в патології постійно для демонстрації морфології тканин, у випадку грибкових інфекцій, цей барвник дозволяє ідентифікувати запальну реакцію макроорганізму, а саме багатоядерні гігантські клітини, некротичний матеріал, крововиливи та феномен Splendore-Höerpli; з цими барвниками можна виявити більшість грибів, особливо ядра дріжджоподібних грибів або якщо грибок природно пігментований (проте, елементи грибів може бути важко відрізнити від фонового фарбування)	Усі гриби демонструють рожеву цитоплазму, сині ядра та безбарвні стінки
2. Барвник срібла (метамін срібла Грокота та Гоморі (GMS))	Стінка гриба виділяється за рахунок витіснення альдегідної групи сріблом, отже корисно для скринінгу зразка тканини, також може поєднуватися із GE таким чином, що можна чітко спостерігати реакцію між грибом та ураженою тканиною господаря-макроорганізму	Стінка гриба забарвлюється в чорний або темно-коричневий колір для всіх грибів, фонові тканини зазвичай зеленого кольору, слизова оболонка може фарбуватися дуже слабо
3. Періодична кислота Шиффа (PAS)	Виявляє глікоген в тканинах, оскільки стінки грибів містять велику	Клітинна стінка грибів набуває забарвлення від рожевого до червоно-



	кількість глікогену, тому PAS може використовуватися для скринінгу окремих видів грибкових організмів	пурпурового, в залежності від використаного контрастного барвника, ядра можуть бути синіми
4. Метод Грідлі	Фарбує стінки більшості грибів	Клітинна стінка грибів набуває пурпурово-червоного кольору, фон зазвичай жовтий
5. Барвник муцину (муцикармін Майєра або Саутгейта, альціановий синій)	Виявляє мукополісахариди, в тому числі в капсулі різних організмів, також фарбує слиз, який може бути присутнім в різних клітинах організму людини	Корисно для виділення капсул криптококів, які набувають червоного або синього кольору залежно від використаного барвника
6. Барвник меланіну (Фонтана-Массон)	Забарвлює меланін, який присутній у деяких грибів; також фарбує меланін, який присутній в тканинах людини, наприклад, в епідермісі шкіри	Криптококи та група дематіасових* грибів набувають забарвлення від чорного до темно-коричневого
7. Бактеріальний барвник (фарбування тканин по Граму або кислотостійкі барвники)	Деякі гриби забарвлюються бактеріальним барвником, крім того, деякі нитчасті бактерії (актиноміцети і нокардії) необхідно диференціювати від грибів	Кандиди набувають пурпурного/синього (грампозитивні) забарвлення по Граму; Бластоміцети й гістоплазма можуть бути кислотостійкими (набувають червоного забарвлення)
8. Імуногістохімія (ІНС)	Використовує антитіла проти різних грибів, вони можуть бути моноклональними або поліклональними, дослідження не схвалені FDA** і вимагають перевірки іншою лабораторією	У літературі опубліковані дослідження на виявлення <i>Blastomyces</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Pneumocystis</i> , <i>Sporothrix</i> , <i>Paracoccidioides</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> та <i>Mucorales</i> ; залежно від розробника, гриби можуть забарвлюватися в темно-коричневий або червоний колір
9. Гібридизація in situ (ISH)	Використовує молекулярні зонди для різних грибів, зонди, як правило, є рибосомними, оскільки в кожній клітині гриба є кілька копій рибосомних	Результати, опубліковані в літературі, включають дослідження для <i>Blastomyces</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Pneumocystis</i> , <i>Sporothrix</i> ,

	генів, аналізи не схвалені FDA** і вимагають підтвердження іншою лабораторією	<i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Mucorales</i> , <i>Fusarium</i> та <i>Pseudallescheria</i> ; залежно від розробника, гриби можуть забарвлюватися в темно-коричневий або червоний колір; чутливість і специфікація зондів різняться
--	---	---

*Примітка.* \* – дематіасові гриби (“dematiaceous or phaeoid moulds”) – це гетерогенна група організмів, що включає в себе гіфоміцети, целоміцети та аскоміцети. Для цих грибів спільна риса – наявність темної пігментації, яка обумовлена наявністю в їх клітинній стінці – дегідроксинафталін меланіну [20, 22]; \*\* - FDA («Food and Drug Administration») – управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів.

Одним із методів, що застосовуються при патогістологічному дослідженні, є швидка заморозка шматочків тканини (біопсії) в кріотомі – frozen section, що дозволяє отримати результат набагато швидше, ніж при виготовленні парафінових блоків. Цей метод включає в себе заморожування частини або всього зразка тканини, що забезпечує зручність при його мікротомії (отриманні тонких зрізів тканини), розміщення зрізу на предметне скельце та етап забарвлення. Зазвичай результати можна отримати протягом 20-30 хвилин після отримання фрагменту ураженої тканини із операційної. Проте цей метод досить дороговартісний, оскільки сам кріотом – дорогий апарат і наявний лише у поодиноких лабораторіях. Також особливості замороженої тканини не дозволяють отримувати досить тонкі зрізи (в середньому товщина зрізу, зробленого на кріотомі, складає від 15 до 25 мкм), через що значно погіршується якість як самих зрізів, так і знижується можливість поставити правильний точний діагноз [27].

Патогістологічне дослідження тканин для виявлення грибів є та залишається одним із важливих інструментів для визначення діагностичної значущості позитивних культуральних ізолятів, включаючи грибкове проникнення в тканини та судини, а також реакцію організму-господаря на грибок. Патогістологічне дослідження може забезпечити швидку передбачувану діагностику грибів під час

очікування результатів посіву на гриби, або ж може надати єдиний доступний результат діагностики, коли не відбувається зростання культури або посів на культуру не було зроблено. Морфологічне дослідження біопсійного, хірургічного або автопсійного матеріалу завжди має починатися із традиційного гістологічного забарвлення (гематоксилін-еозин (ГЕ)) [1, 4, 23]. Хоча ГЕ і здатний фарбувати клітинну стінку грибів, проте виявити самі структури гриба в зрізах тканини далеко не завжди буває просто, через обмежене фарбування стінки грибів та їх слабкої відмінності від структур фонової тканини [24]. Більш того, навіть якщо грибкові організми і будуть спостерігатися при традиційному забарвленні, досить важко може бути визначити характеристики, корисні для класифікації (наприклад, септат в порівнянні з асептатом) [23]. Саме тому у лабораторній практиці, якщо виникає підозра на грибкову інфекцію, але мікроорганізми або не ідентифікуються, або погано візуалізуються при традиційному забарвленні ураженої тканини, часто використовують додаткові специфічні барвники [3, 15, 17] для того, щоб виключити грибкову інфекцію або навпаки, визначити її морфологічні характеристики [24].

У лабораторній практиці для виявлення можливої наявності структур гриба наразі найбільш часто використовуються наступні методики:

- 1) фарбування метамін сріблом за Гоморі (Methenamine silver plating kit acc. to Gomori);
- 2) фарбування метамін сріблом за Грокотом (Modified Grocott's methenamine silver stain);
- 3) фарбування періодичною кислотою Шиффа (PAS staining kit);
- 4) фарбування періодичною кислотою Шиффа з альціановим синім (Alcian blue-PAS staining).

Фарбування метаміном срібла (GMS) чи періодичною кислотою Шиффа (PAS) слід проводити при підозрі на гриби за результатами дослідження зрізів тканини (забарвлення гематоксиліном і еозином) на наявність запальної реакції тканини або при значній клінічній підозрі, навіть якщо ГЕ не виявляє елементів грибів.

Важливо пам'ятати, що деякі грибкові інфекції, особливо під час гострої фази, викликають нейтрофільне або гнійне запалення, тому епідеміологічні показники та дані історії хвороби також можуть наштовхнути на необхідність використання специфічних барвників. У пацієнтів зі зниженим імунітетом запалення може бути відсутнім, проте може бути наявний некроз внаслідок пошкодження судин грибами й пов'язаного з ним тромбозу. Пошкодження кровоносних судин грибом призводить до руйнації їх стінок, що викликає кровотечу. Активне спілкування між клініцистами і патологами є безцінним для визначення випадків, в яких фарбування тканини на виявлення грибів може бути корисним. Оскільки використання міні-інвазивних діагностичних процедур набуло значного поширення в медицині за останні десятиріччя [23].

Усі методи, які використовуються в лабораторії патоморфології НІФП НАМНУ, ґрунтуються на використанні періодичної кислоти, яка окислює полісахариди (оболонка гриба багата на полісахариди) до альдегідів, тим самим створюючи передумову для зв'язування іонів реактиву Шиффа або іонів срібла і, таким чином, досягти візуального виявлення клітинних оболонок грибів.

Фарбування метаміном срібла, ймовірно, є найбільш широко розповсюдженим у практичному використанні методом, однак цей барвник є дещо примхливим, що може кинути виклик навіть найдосвідченішим спеціалістам в області гістології. Недостатнє просочення сріблом, надмірне фарбування або небажаний осад сприяють ускладненому виявленні грибкових структур [28]. Модифікований спосіб фарбування метаміном срібла за Грокотом дозволяє виявляти гістоплазму, інкубуючи тканину з періодичною кислотою 1 годину при температурі 56-60° С.

У деяких патогістологічних лабораторіях регулярно використовують реактив Шиффа у розрахунку на швидке і надійне фарбування. Цей метод є одним із найбільш розповсюджених у гістологічних лабораторіях. Реактив Шиффа надійно демонструє стінку гриба. Проте до його недоліків можна віднести той факт, що цей реактив фарбує усі полісахариди, які містяться у різних тканинах в нормі (глікоген, нейтральні слизові речовини, деякі епітеліальні сульфомуцини та сіаломуцини,

сітчасті волокна, нейронні гліколіпіди, афібрилярні клітини артеріол нирок і тд.). Фарбування цих елементів може відволікати увагу при спробі виявити грибкові організми [28]. Тому при фарбуванні PAS використовують фермент діастазу, щоб мінімізувати фарбування вищеперерахованих гістологічних структур та речовин. А також обробляють тканину сульфідною водою, після реакції з періодичною кислотою, що, в свою чергу, збільшує і оптимізує специфічність фарбування саме грибкових елементів. Якщо застосовувати комбіновану PAS реакцію з альціановим синім, то методика дозволяє виявляти мукосубстанції (глікоаміноглікани) в грибкових структурах.

Принципове значення має аналітичний етап, тобто власне мікроскопічне дослідження забарвленого зрізу ураженої тканини з метою встановлення наявності або відсутності грибової інфекції. Навіть при повністю правильно проведеному технологічному процесі обробки гістопрепаратів, патолог часто стикається з труднощами інтерпретації мікроскопічної картини. Перш за все, слід зазначити, що такі тканини, як шкіра та легенева паренхіма (які найбільш часто є об'єктами нашого дослідження) містять значну кількість еластичних волокон у складі сполучнотканинного каркасу. Та практично будь-яка тканина має судинну сітку, і відомо, що один із структурних компонентів стінок судин – еластичні волокна. Останні є типовими гістологічними структурами, спорідненими до срібла та набувають забарвлення, подібного до структур гриба. Такі обставини вимагають для більш правильного і реалістичного виявлення мікроміцетів спостерігати та ідентифікувати останні у ділянках тканини з некрозом-некробіозом, тобто з максимальною відсутністю збережених тканинних структур. Також досить часто фонового забарвлення набуває вміст ядер клітин тканини, яка досліджується. Знову-таки, саме в ділянках тканини, які піддалися руйнуванню, такі псевдо-артефакти практично відсутні або представлені мінімально. У деяких випадках досить важко диференціювати забарвлені фрагменти клітин ураженої тканини (клітинний детрит та спори грибів).

Таким чином, для отримання правильного патогістологічного висновку слід намагатися досліджувати ділянки тканини з деструкцією у вигляді некрозу-некробіозу і саме в них виявляти структури грибів. Про такий підхід опосередковано свідчать і численні мікрофотографії у відповідних за тематикою наукових статтях [20, 21, 27].

При наявності грибкової інфекції перш за все гістологічно можна встановити групову належність грибів – вони гіфові (міцелярні) або дріжджоподібні (кокові). Враховуючи особливості морфології мікроміцетів, та при наявності певного практичного досвіду, гістологічно можна диференціювати аспергили з мукором (представники нитчастих грибів). Досить рідко в царині фтизіатрії та пульмонології зустрічаються актиноміцети (за таксономічною класифікацією їх відносять до бактерій), але вони також мають своєрідну морфологію та забарвлюються при застосуванні методу Гоморі-Грокота, що надає змогу визначати їх у тканині при гістологічному дослідженні.

До розповсюджених грибкових інфекцій людини відносять кандиди, гістоплазму. При імунодефіцитних станах можна виявити аспергильоз, криптококоз, пневмоцистоз тощо. Досить непросто за гістологічним дослідженням диференціювати саме кандиди та гістоплазмоз, навіть при спеціальному забарвленні. Їх розміри та форма часто близькі до ядер клітин ураженої тканини, часточок пилу, що може спричинити помилки діагностики.

В таблиці 2 представлено основні морфологічні характеристики та особливості виявлення деяких грибів та недоліки діагностики.

Таблиця 2

**Морфологічні характеристики та особливості деяких грибів [23, 25]**

№	Назва гриба	Розміри та характеристика гриба	Особливості виявлення	Недоліки	Методи виявлення в тканині
1.	Криптококи	інкапсульовані дріжджі сферичної або овальної будови,	товста полісахаридна капсула надає цим організмам характерний вигляд	дріжджі можуть продукувати меншу кількість характерної полісахаридної	муцикармін Майєра або Саутгейта, альціановий синій, GMS,

		діаметром від 4 до 10 мкм	прозорого простору навколо них	капсули, таким чином ці організми можуть нагадувати інші дріжджі аналогічного розміру, наприклад кандиди або гістоплазма	PAS, фарбування Фонтана-Массон (оскільки містять меланін)
2.	Гістоплазма	дріжджі овальної будови, діаметром 2-4 мкм	оскільки дріжджі першочергово поглинаються макрофагами, вони, скоріше за все, згруповані, і деякі автори припустили, що це є важливою діагностичною ознакою	деякі гриби можна переплутати з гістоплазмою: маленькі форми бластоміцетів, криптококи з дефіцитом капсули, ендоспори кокцидіоїдів, пневмоцисти, кандиди	GMS (модифікована Грокотом), PAS
3.	Кандіди	округлі дріжджі діаметром від 3 до 5 мкм	мають псевдогіфи (так звані філаменти)	можуть продукувати псевдогіфи, і, відповідно, потребують диференціації від інших дріжджів та цвілевих грибів, які мають справжні гіфи (аспергіли, трихоспори)	GMS, PAS
4.	Пневмоцисти	тонкостінні сфери, діаметром від 2 до 5 мкм	мають внутрішньокістозне вогнище (капсульна точка)	пневмоцисти може бути важко диференціювати від гістоплазми, якщо вони містяться всередині гранульом або при позалегеновому запаленні	GMS
5.	Аспергіли	тонкі, септатні, розміром від 3 до 12 мкм	гострокутні (45°) або дихотомічні гіллясті довгі гіфи	міцелій зазвичай йде паралельно і часто розходить назовні від центральної точки	PAS, GMS

Отже, підсумовуючи все вище сказане, слід ще раз підкреслити, що широка розповсюдженість грибкових інфекцій, їх видова різноманітність, здатність до вкрай

поліморфних варіантів уражень людини як відносно органів та систем організму, так і за ступенем важкості клінічної картини обумовлюють постійну увагу медичної спільноти до цієї проблеми. Неспецифічність клінічних проявів інфекції вимагає застосування у клінічній практиці широкого спектру діагностичних досліджень, які включають в себе: ретельний збір скарг хворого, даних анамнезу, об'єктивного обстеження, додаткових методів дослідження та результати мікроскопічного, мікологічного, серологічного та гістологічного методів. Однак, існують певні недоліки кожного із зазначених класичних методів лабораторної діагностики, які ускладнюють своєчасну діагностику грибкових уражень. Впровадження в клінічну практику комплексу класичних та сучасних діагностичних технологій повинно стати еталоном діагностики грибкових захворювань людини.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – Москва: издательство «Медицина», 1971. – 272 с.
2. Кашкин П. Н., Шеклаков Н. Д. Руководство по медицинской микологии / П. Н. Кашкин, Н. Д. Шеклаков. – М.: Медицина, 1978. – 325 с.
3. Константинова А. М. Криптококкоз при ВИЧ-инфекции / А. М. Константинова // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2010. – Сер. 11, вып. 3. – С. 37-44.
4. Коржевский Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 95 с.
5. Кряжев Д. В. Условно-патогенные плесневые грибы в воздушной среде городских помещений (аналитический обзор) / Д. В. Кряжев // Журнал Медиаль. – 2020. – № 2 (26). – С. 35-44. doi: <http://dx.doi.org/10.21145/2225-0026-2020-2-35-44>
6. Кузикова И. Л. Оппортунистические грибы – контаминанты среды обитания человека и их потенциальная патогенность / И. Л. Кузикова, Н. Г. Медведева // Экология человека. – 2021. - № 3. – С. 4-14. doi: <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2021-3-4-14>
7. Лекции по ВИЧ-инфекции / под ред. В. В. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2-е изд., перераб. и доп., 2018. – 848 с.
8. Максимова П. Е. Гистология микозов, обусловленных дерматофитами / П. Е. Максимова, Е. И. Купша // Международный студенческий научный вестник. – 2018. – № 6. – С. 21.
9. Мукоормикоз легких / М. В. Самсонова, А. Л. Черняев, Ю. С. Лебедин и др. // Пульмонология. – 2018. – № 28 (2). – С. 243-247. doi: <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-2-243-247>
10. Николенко М. В. Современные подходы к систематике патогенных и условно-патогенных грибов / М. В. Николенко. – Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 43-46.

11. Оппортунистические микозы ЛОР-органов. Сообщение 1 / С. Б. Безшапочный, С. В. Зачепило, В. П. Полянская и др. // Вестник оториноларингологии. – 2018. – № 6. – С. 67-71. doi: <https://doi.org/10.17116/otorino20188306167>
12. Патогенні гриби: метод. вказ. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою» для студентів бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю «Лабораторна діагностика» / упоряд. В. В. Мінухін та ін. – Харків: ХНМУ, 2016. – 76 с.
13. Резніченко Н. Ю. Оптимізація лікування мікозів шкіри з використанням антимікотику зовнішньої дії / Н. Ю. Резніченко, А. О. Алдошина // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2018. – № 1-4. – С. 161-165.
14. Супрун К. Г. Лікування грибкової інфекції на сучасному етапі / К. Г. Супрун, І. О. Олійник // Дерматологія та венерологія. – 2020. - № 2 (88). – С. 24-28. doi: <https://doi.org/10.33743/2308-1066-2020-2-24-28>
15. Чарушина И. П. Оппортунистические инвазивные микозы у ВИЧ-инфицированных пациентов / И. П. Чарушина // Пермский медицинский журнал. – 2015. – Т. XXXII, № 1. – С. 71-77.
16. Чорна Т. М. Мікробіологія : навч. посіб. / Т. М. Чорна; Університет державної фіскальної служби України. – Ірпінь: УДФСУ, 2020. – 412 с.
17. Шкарин В. В. Эпидемиология оппортунистических микозов / В. В. Шкарин, Н. В. Саперкин // Вестник дерматологии и венерологии. – 2017. – № 3. – С. 21-31.
18. Adamczyk K. The microbiome of the skin / K. Adamczyk, A. A. Garnarczyk, P. P. Antonczak // Dermatol Rev. – 2018. – № 105. – P. 285-297. doi: <https://doi.org/10.5114/dr.2018.75584>
19. Anthony P. P. A guide to the histological identification of fungi in tissues / P. P. Anthony // J. clin. path. – 1973. – № 26. – P. 828-831.
20. Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis / A. L. S. Santos, V. F. Palmeira, S. Rozental et al. // FEMS

Microbiol Rev. – 2007. – № 31. – P. 570-591. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00077.x>

21. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens / A. R. Sangoi, W. M. Rogers, T. A. Longacre et al. // Am J Clin Pathol. – 2009. – № 131. – P. 364-375. doi: <https://doi.org/10.1309/AJCP99OOOZSNISCZ>

22. Clinical Mycology / editors: E. J. Anaissie, M. A. Pfaller, M. R. McGinnis. – Elsevier Inc., 2009. – P. 329-354.

23. Guarner J. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21<sup>st</sup> century / J. Guarner, M. E. Brandt // Clinical microbiology reviews. – 2011. – Vol. 24, № 2. – P. 247-280. doi: <https://doi.org/10.1128/CMR.00053-10>

24. Histopathological techniques for the diagnosis of combat-related invasive fungal wound infections / S. M. Heaton, A. C. Weintrob, K. Downing et al. // BMC Clinical Pathology. – 2016. – № 16:11. – P. 1-9. doi: <https://doi.org/10.1186/s12907-016-0033-9>

25. Katzenstein A.-L. A., Askin F. B. Surgical pathology of non-neoplastic lung disease / A.-L. A. Katzenstein, F. B. Askin. – 1982. –V. 3. – P. 430.

26. Li Z. Pathogenic fungal infection in the lung / Z. Li, G. Lu, G. Meng // Frontiers in Immunology. – 2019. - № 10 (Article 1524). – P. 1-20. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01524>

27. Taxy J. B. Frozen section and the surgical pathologist: a point of view / J. B. Taxy // Arch Pathol Lab Med. – 2009. – № 133 (7). – P. 1135-8.

28. Speranza V. D. Staining for fungi / V. D. Speranza, R. Fail // HistoLogic. – 2005. – Vol. 38, № 1. – 1p.

29. Usefulness of frozen section in rhinocerebral mucormycosis diagnosis and management / V. Hofman, L. Castillo, F. Betis et al. // Pathology. –2003. – № 35 (3). – P. 212-216. doi: <https://doi.org/10.1080/0031302031000123173>