

Инновационный Евразийский университет

КСЕМБЕКОВА АСЕЛЬ НАУРЫЗБАЕВНА

Микробиологические и цитогистологические аспекты влияния микогенной  
инфекции на животный организм  
(на примере белых лабораторных крыс)

6М060700 Биология

**Диссертация на соискание академической степени магистра биологии**

Научный руководитель: Химич Г.З., к.б.н., профессор  
Пономарева Т.М., доцент

**Павлодар, 2012**

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ                                                                   | 3  |
| ВВЕДЕНИЕ                                                                                   | 4  |
| 1 ГРИБЫ МИКРОМИЦЕТЫ В ПРИРОДЕ И В ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА                                           | 6  |
| 1.1 Особенности жизнедеятельности микромицетов                                             | 7  |
| 1.2 Свойства грибов, как патогенных организмов                                             | 10 |
| 1.3 Радиационный фон земли и метаболизм грибов                                             | 13 |
| 2 НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЕ МИКОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ГРИБОВ НА ЖИВОТНЫЙ ОРГАНИЗМ                       | 15 |
| 2.1 Взаимосвязь биоповреждения зданий и проявления признаков микогенной аллергии           | 16 |
| 2.2 Экологическая ситуация в жилых помещениях                                              | 18 |
| 2.3 Микромицеты и продукты их деятельности - как источник биологического загрязнения среды | 19 |
| 3 ФАКТОРЫ СНИЖЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЖИВОТНОГО ОРГАНИЗМА                                      | 22 |
| 3.1 Резистентность организма                                                               | 22 |
| 3.2 Антибиотики                                                                            | 23 |
| 3.3 Витамины                                                                               | 24 |
| 4 ВЛИЯНИЕ МИКОГЕННОЙ БИОТЫ НА ЖИВОТНЫЙ ОРГАНИЗМ                                            | 25 |
| 4.1 Микромицеты, как причины заболеваний человека                                          | 28 |
| 4.2 Индуцирование аллергии микромицетами                                                   | 29 |
| 5 ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ ПРИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ                    | 33 |
| ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ                                                                           | 37 |
| ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ                                                                     | 44 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ                                                                                 | 61 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ                                                           | 64 |

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Вирулентность - степень способности данного инфекционного агента заражать данный организм;

Гистологическое исследование - это исследование тканей (образца тканей взятого из организма человека);

Гранулематозное воспаление - воспаление, которое характеризуется образованием гранулём (узелков), возникающих в результате пролиферации и трансформации способных к фагоцитозу клеток;

Диссеминированные заболевания - гетерогенная группа болезней, объединенная рентгенологическим синдромом двусторонней диссеминации;

**Микоз** - широко распространенная группа инфекционных болезней, вызываемых паразитическими грибами;

Микотоксикозы - заболевания, обусловленные попаданием в организм микотоксинов, которые образуются в процессе жизнедеятельности ряда микроскопических (плесневых) грибов;

Микромицеты - грибы и грибоподобные организмы, имеющие спороношения микроскопических размеров;

Мукоцилиарный клиренс - неспецифический механизм, осуществляющий местную защиту слизистой оболочки органов дыхания от внешних воздействий, включая инфекцию;

Резистентность организма - сопротивляемость (устойчивость, невосприимчивость) организма к воздействию различных факторов — инфекций, ядов, загрязнений, паразитов, и т. п.;

Сенсибилизация - повышение чувствительности организма к воздействию раздражителей, вызывающая аллергическую реакцию;

Синтрофия - способность двух или более видов бактерий, грибов осуществлять такой процесс, который ни один из них не может осуществлять по отдельности;

Споруляция – процесс образования и выхода спор;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

## ВВЕДЕНИЕ

Повсеместная вегетация грибов в окружающей среде, споруляция в воздушные потоки делает неизбежным контакт их спор с животными и человеком. Многие споры грибов имеют размеры, позволяющие им проникать до самых отдаленных участков бронхов, пищеварительного тракта. Дополнительными факторами вирулентности грибов является продукция различных микотоксинов, которые могут тормозить рост клеток или функционирование клеточных защитных механизмов хозяина. Ферменты, выделяемые грибами - микромицетами, например эластаза, также может повреждать эпителий [1].

Микромицеты - патогены, способные расти и размножаться при температуре тела человека, могут вызвать заболевания дыхательной системы при снижении защитных сил макроорганизма. В большинстве случаев возникновение заболеваний у животных и человека обусловлено рядом негативных факторов снижающих барьерную функцию организма.

Актуальность: общеизвестно, что многие вирусно-бактериальные, паразитарные и грибковые заболевания животных могут стать опасными для человека. Однако, в отношении загрязнения среды спорами грибов – паразитов растений, и об их влиянии на не специфичных хозяев (животных) известно мало. Поэтому, считаем, что значимость многих грибов, как одного из негативных факторов влияния на животный организм требует специальных исследований.

Мы выдвинули **гипотезу**, что люди с разным иммунитетом и не однозначным подходом к употреблению антибиотиков и витаминов могут страдать от биологического загрязнения воздуха, в том числе спорами грибов.

**Цель** исследований: изучение воздействия микогенной инфекции древесных насаждений на животный организм на фоне факторов снижения резистентности.

### **Задачи:**

- изучить экомикологические и структурно-функциональные аспекты микромицетов как источника биологического загрязнения среды;
- изучить влияние микромицетов и продуктов их деятельности на фоне факторов снижения резистентности животного организма;
- изучить влияние грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers) на фоне гипер доз антибиотиков и витаминов на: микрофлору желудка; характер анатомических и гистологических изменений внутренних органов.

**Объектом** является микромицеты *Cytospora Chrysosperma*, паразиты деревьев рода *Populus*.

**Предмет** – влияние патогенного агента растений, как источника микогенной биоты, на животный организм.

В качестве микогенной инфекции использовались споры грибов рода *Cytospora* (Pers). Было выявлено распространенное заболевание древесных

пород – цитоспороз, вызванный паразитированием грибов рода *Cytospora* (Pers) [2].

Фактором снижения резистентности являлось прием антибиотиков и витаминов. Антибиотики являются антагонистами грибов и могут существенно влиять на состав кишечной микрофлоры, что не только нарушает нормальное течение физиологических процессов, но нередко приводит к тяжелым патологическим состояниям. Витамины относятся к наиболее часто используемым препаратам для профилактики инфекционных заболеваний. Однако переизбыток витаминов порой может оказаться гораздо более опасным, чем их недостаточное употребление.

Резкое увеличение микотических поражений, вызываемых различными видами грибов, обуславливает необходимость совершенствования их диагностики. Особое значение приобрел в настоящее время гистологический вид исследования, позволяющий выявить наличие того или иного возбудителя и изучить ответную реакцию. Поэтому, для решения поставленных целей и задач были использованы стандартные биологический, культуральный и гистологический **методы**. Исследование микропрепаратов было выполнено на базе лаборатории «Фитопатология» кафедры «Биология», гистологические препараты были выполнены на базе лаборатории в КГКП «Павлодарский областной перинатальный центр», отделение патологической анатомии.

Полученные препараты были изучены, полученные результаты описаны в работе. Также был сделан большой фотоотчет о проделанной работе, фотографии которого присутствуют в данной работе.

Выявлено, что повышенные дозы антибиотиков являются фактором снижения резистентности животного организма, по отношению к микогенным компонентам биологического загрязнения среды, что выражается в патологии внутренних органов. На микробиологическом уровне доказано, что после отмены препаратов организм восстанавливает резистентность к грибам. Изучение гистологических препаратов показало, что животный организм подвержен негативному влиянию спор грибов, паразитирующих на древесных растениях.

## 1 Грибы микромицеты в природе и в жизни человека

Грибы занимают на Земле одно из важнейших мест. Одни из них являются космополитами (*Aureobasidium pullulans*, многие аспергиллы, пенициллы), другие — эндемиками (*Coccidioides immitis* и др.). Они фактически освоили самые различные среды в биосфере, составной частью которой является и человек, находящийся в “окружении грибов”, а в некоторых случаях микромицеты вступили (или вступают) с ним во взаимодействие. Одни виды стали нормальными обитателями тела человека, другие - при определённых обстоятельствах - вызывают соответствующие заболевания — микозы, и, наконец, третьи способны сенсibilизировать макроорганизм и индуцировать аллергические состояния — микоаллергозы [3].

Из почти 80 000 видов грибов, изученных к настоящему времени, около 150 являются первично патогенными и около 350 видов - условно патогенными для человека и животных. Остальные виды являются сапротрофами, или сапробионтами. Грибы отличаются рядом особенностей от других групп патогенных микроорганизмов.

Известно несколько классификаций микромицетов. Основой для одной из классификаций является способ размножения данных грибов. Истинные грибы – эумицеты подразделяют на 4 класса :

1. Chytridiomycetes (хитридиомицеты),
2. Zygomycetes (зигомицеты),
3. Ascomycetes (филаментирующие и дрожжевые аскомицеты),
4. Basidiomycetes (базидиомицеты) [4].

Хитридиомицеты и зигомицеты относятся к низшим грибам. Хитридиомицеты не патогенны для человека и животных. Среди зигомицетов следует выделить возбудителей микозов у человека – виды родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Basidiobolus*. К классу аскомицетов относят возбудителей большинства важнейших микозов: кандидоза, дерматофитозов, гистоплазмоза, бластомикозов, некоторых мицетом. К классу базидиомицетов относятся такие возбудители, как *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp., *Schizophyllum commune*.

По морфологическим признакам микромицеты делятся на дрожжевые и мицелиальные. Дрожжевые грибы состоят из отдельных клеток, которые размножаются бесполовым путем — делением или почкованием. Мицелиальные грибы относятся к многоклеточным организмам и представляют собой сеть ветвящихся нитей — гиф, которые могут образовывать споры. Плесень — это расположенные на поверхности питательного субстрата органы размножения грибов. Она состоит из переплетенных гиф и спор и представляет собой аморфную массу, которая может иметь разную окраску, форму и консистенцию [5].

Размножение грибов условно увязывают с фазами развития и различают вегетативное размножение (проростковыми гифами, субстратным мицелием, почкованием, видоизмененными мицелиальными элементами -

перфорационными гифами, апрессориями, гаусториями, геммами, ризоморфами, столонами, хламидоспорами и т.д.) и репродукционное - с помощью специальных органов, когда закладывается способность организма воспроизводить, как правило, большое число специализированных клеток размножения - спор или конидий. Споры (конидии) являются теми грибными структурами, которые, как правило, ответственны за микогенную сенсibilизацию и могут индуцировать развитие микоаллергии. Важными параметрами являются размеры спор, способность спор переноситься на далекие расстояния от места зарождения и длительность переживания во внешней среде при неблагоприятных условиях. Величина спор колеблется от 1-2 мкм до 20-40 мкм в зависимости от вида гриба и морфологии клеток размножения. Соответственно скорость оседания спор из воздуха достигает 50 мкм/с и более. Чтобы такие споры переносились воздушными потоками, достаточна скорость движения воздуха от 500-1000 мкм/с до 50 000 мкм (0,05м)/с и более для крупных спор (величиной до 40-70 мкм в диаметре) некоторых грибов [6]. Средняя масса споры у сумчатых грибов составляет  $300-400 \times 10^{-9}$  мг при объеме около 300 мкм<sup>3</sup> и поверхности 280 мкм<sup>2</sup>.

Грибные споры могут распространяться с помощью потоков воздуха - анемохория (от греч. *anemos* - ветер, *choreo* - распространяюсь), а также с помощью воды - гидрохория, почвы - геохория, животных - зоофория, человека - антропохория. Наиболее ограниченной оказывается геохория, исключая те случаи, когда мелкие частицы обсемененной микробами почвы (пыль) попадают в воздух, например, в ветреную погоду, и могут заноситься на далекие расстояния. При колонизации почвенных субстратов образуются большие массы спор, которые могут распространяться различными путями, но, главным образом, воздушными потоками или с помощью насекомых и других животных.

### 1.1 Особенности жизнедеятельности микромицетов

В благоприятные сезоны года разнообразная пигментация спор грибов привлекает насекомых и птиц, к телам которых они могут прилипать или поглощаться в качестве корма с последующим прохождением через пищеварительный тракт, в котором споры могут подвергаться предварительной обработке с ускоренными прорастанием и вегетацией после выделения в окружающую среду. Доказательством антропохории являются замусоренные городские дворы и свалки, где плесневые грибы способны "процветать" в огромных количествах. Так, навозный гриб *Coprinus* sp. за один час может образовать 100 млн. спор, а за двое суток - около 5 млрд. Одна головка *Aspergillus fumigatus* дает около 65 тыс. конидий, из одной конидии за 24 часа может произойти 1000 головок аспергилла, дающего  $65 \times 10^6$  спор. Из приведенного очевидно, что число спор грибов в м<sup>3</sup> атмосферного воздуха может многократно превышать количество зерен пыльцы растений даже пики их пыления.

Грибы достаточно хорошо приспособлены к синтрофии с другими организмами и, как правило, обитают в ассоциациях с бактериями, грибами иных видов и родов, а также с более высоко организованными существами, например, из отдела Metazoa, тип Annelida (кольчатые черви).

Плесневые грибы могут расти практически повсюду. Специфические разновидности и концентрации, представленные в воздухе в различное время зависят от температуры, степени осаднения, преобладания ветров, сезонных климатических факторов, циклических изменений факторов солнечного света и темноты и атмосферной влажности. Способность плесневых грибов быстро занимать и населять подходящие экологические ниши в закрытых помещениях и на открытом воздухе, продуцировать и рассеивать огромные массы спор, возможно, объясняет их эволюционный успех в природе и их роль как источника аллергии. Грибы растут, умирают и распадаются, и люди почти всегда подвержены различным концентрациям частиц плесневых грибов дома, на работе или на открытом воздухе, который может завершиться сенсibilизацией атопических лиц. Тем не менее, число вдыхаемых пациентом частиц плесневых грибов в любой данный день, вполне предсказуемо. Некоторые случаи иногда связываются с действием плесневых грибов, которые растут в опавших листьях, в сараях. В закрытых помещениях споры присутствуют в течение года.

Жизнедеятельность грибов в различных условиях зависит также от освещённости. Грибы менее чувствительны к ультрафиолетовому облучению (УФО), чем бактерии, однако механизм губительного действия УФО при этом остаётся тем же, то есть под его влиянием имеют место спаривания тиминовых остатков в ДНК и свободно-радикальные процессы. Следовательно, увеличение продолжительности действия УФО повысит число погибших клеток грибов. Рассеянный солнечный свет менее губителен для микромицетов, чем прямые солнечные лучи. Однако, отношение разных видов грибов к освещённости не однотипно. Например, отдельные представители зигомицетов и аскомицетов обладают положительным фото (гелио)тропизмом (*Mucor* sp., *Phycomyces* sp., *Sordaria* sp.), отрицательный фото(гелио)тропизм наблюдается у прорастающих уредоспор ржавчинных грибов. Из-за отсутствия хлорофилла большинство микромицетов хорошо развивается в темноте, хотя в период спорообразования возрастание освещённости оказывает благоприятное влияние.

Продолжительность жизни грибов в естественных условиях во многом зависит от среды обитания, а также от их видовой и родовой принадлежности и, прежде всего, особенностей их генома. Например, споры некоторых пенициллов и кладоспориумов остаются жизнеспособными при сухом хранении в течение 2-10 лет; покоящиеся и сходные с ними по некоторым свойствам хламидоспоры, геммы, склероции также способны сохраняться годами при неподходящих для прорастания условиях; напротив, в подходящих условиях споры сравнительно быстро оживают и размножаются. Грибы, являющиеся основными “поставщиками” спор во внешнюю среду, находятся в воздухе изолированно или на частицах растительного и животного происхождения в

виде так называемого биоаэрозоля. Число и типы, присутствующих в наружном воздухе микромицетов, зависят от погоды, времени суток, сезонов года, географического места и близости локализации спорообразующих грибов. Общее число спор колеблется от 200 до 2 млн/м<sup>3</sup>. Для спор характерна циркадная (суточная) периодичность их появления в составе биоаэрозоля. Споры, активно освобождающиеся от (из) спороносных структур при участии воды, обычно более многочисленны в воздухе ночью во время образования росы или дождя; споры, зависящие от высушивания, более многочисленны ранним утром во время освобождения листвы растений от влаги при солнечной инсоляции. Наконец, споры, освобождающиеся посредством механизмов дезорганизации подлежащих структур, накапливаются в воздухе в полуденное время, когда температура становится наивысшей, когда возрастают скорость движения ветра, его турбулентность (порывистость) и конвекция. Однако, некоторые грибы освобождают свои споры после восхода солнца; другие, с большими плодовыми телами (сумками) - апотециями, отделяют споры позже, чем, например, грибы с меньшими плодовыми телами. Очевидно, данный факт обусловлен необходимостью высушивания для увеличения давления на сумки.

Споры *Cladosporium* spp. относят к самым распространённым в мире в дневное время, хотя в тёплом сухом климате могут преобладать зародышевые клетки *Alternaria* sp., или, при влажном климате, *Curvularia* или *Drechslera*. В ночное время более многочисленными оказываются аскоспоры, базидиоспоры и баллистоспоры. Применительно к сезонным колебаниям споры в воздухе обнаруживают в меньшем числе зимой. В тропиках споры многочисленны в воздухе круглый год. В пустынных тёплых регионах биоаэрозоль может включать споры патогенных грибов (*Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*).

В отличие от спор, находящихся в слизи, репродуктивные клетки многих грибов отделяют прямым дуновением или движением воздуха. Такое сухое рассеивание спор увеличивается в зависимости от скорости воздушных потоков и уменьшается во время дождей, часто достигая пика в солнечный полдень. В это время количество спор грибов.

*Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* и *Helminthosporium*, также как и ржавчинных, головневых грибов и некоторых оомицетов, в атмосферном воздухе значительно возрастает. Сухая дисперсия спор также замечена у *Rhizopus*, *Aspergillus* и *Penicillium*, хотя пиковые уровни их были более низкими. Как переносимые воздухом, на количество спор влияют те же дисперсионные и самоочистительные атмосферные процессы, которые относятся и к пыли растений.

Ассоциации, складывающиеся между микроорганизмами в природе, называют микробиоценозами, а микробов с растениями и животными именуют биоценозами. Все исследователи подчеркивают, что растительность существенно влияет на содержание спор в отдельных местностях. Вообще, пастбища и поля с зерновыми культурами являются особенно значимыми источниками спор *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*-*Drechslera* и

*Episossium*. Высокие местные уровни спор ржавчинных и головневых грибов, также как *Ophiobolus* и *Gibberella ascospores*, могут быть результатом заражения ими зерновых культур. В лесах, черные дейтеромицеты, ржавчинные и головневые грибы встречаются в меньшем количестве, но часто изобилуют споры базидиомицетов, обитающих на гниющей древесине (например, *Ganoderma spp.*). Точно так же во фруктовых садах осенью может подниматься уровень в воздухе дрожжеподобных грибов и сезонных паразитов типа *Venturia inaequalis*, от которых фрукты свободны весной.

Важно представлять себе, что видовой состав и содержание спор грибов внутри жилых и промышленных помещений несколько отличается от таковых в атмосфере. В пробах домашней пыли и воздуха жилых помещений чаще выделяют грибы *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Candida*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*. На видовой состав и количество спор в воздухе влияет характер жилища или промышленного предприятия. Споры грибов, растущих внутри помещений, например, *Aspergillus* и *Penicillium*, имеют более высокий уровень содержания в воздухе осенью и зимой. В настоящее время нет каких-либо общепринятых нормативов содержания грибов в воздушной среде жилых помещений. Некоторые специалисты условной нормой считают содержание спор в воздухе жилых помещений до 500 спор в м<sup>3</sup>.

В воздухе жилых помещений число и характер спор определяются их продуцентами, обитающими, например, на сохраняемых продуктах, степенью дезорганизации этих продуктов; наличием, структурой и расположением вентиляционных систем. Концентрация спор в таком воздухе может превышать 100 млн/м<sup>3</sup>, когда заплесневелые сено и зерно дают, например, домашним животным. Здесь преобладают грибы из родов *Aspergillus* и *Penicillium*, равно как и условный патоген — *Aspergillus fumigatus*, выступающий нередкой причиной астмы и микотических абортос у рогатого скота. Концентрация базидиоспор так называемого “устричного гриба” *Pleurotus ostreatus* может достигать 27 млн/м<sup>3</sup> в кормушечных садках, и до 14 млн. спор *Penicillium sp.* освобождается при дотрагивании руками до заплесневелой пробки. Такие концентрации спор могут индуцировать профессиональные аллергии.

В некоторых производствах, где культивируют микромицеты - продуценты биологически-активных веществ, возможно нарастание опасности возникновения микозов и микоаллергозов на фоне респираторной сенсibilизации людей спорами и фрагментами мицелия грибов из родов *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*. При содержании в 1 м<sup>3</sup> воздуха производственных помещений до 15 млн. грибных спор работающие там люди вдыхают за 6 часов 170-200 млн. спор [6].

## 1.2 Свойства грибов, как патогенных организмов

Первой особенностью грибов является то, что они относятся к эукариотическим организмам и, следовательно, грибы структурно более высоко организованные существа в сравнении, например, с бактериями. Многие из них

имеют специализированные органы репродукции в случаях полового и/или бесполого размножения. Морфологическая дифференцировка грибов, представляющая собой следствие дифференциального выражения генов, сопровождается более или менее заметным изменением структурно-функциональных свойств соответствующих видов.

Вторая особенность заключается в том, что патогенным и сапротрофным грибам присуще двухфазное развитие. Первая фаза, называемая трофофазой (от греч. *trofe* - питание, пища), характеризуется относительно высокой скоростью роста организма и низкой продукцией вторичных метаболитов; вторая фаза, называемая идиофазой (от греч. *idios* - свой, собственный, специфичный) характеризуется низкой скоростью роста и высокой продукцией вторичных метаболитов. Следовательно, даже по качеству и количеству химических веществ, накапливающихся в клетках и в окружающей среде, грибы существенно различны в разные периоды своего развития.

Третья особенность грибов заключается в том, что скорость размножения их в большинстве случаев меньше скорости размножения бактерий. Поэтому во многих случаях микогенные инфекции по течению приобретают хронический характер. Патогенные дрожжеподобные организмы в виде одноклеточных форм могут размножаться, например, почкованием, как минимум через 30 мин. Нитчатые грибы, растущие верхушками филаментов, формируют органы размножения через 20 и более часов на питательных средах.

Четвертой особенностью грибов является их предпочтительный рост на слабо кислых средах (рН 6,0-6,5), хотя жизнеспособность может сохраняться в широких диапазонах рН (3,0-10,0).

Пятой особенностью грибов является отсутствие среди них облигатных паразитов. По паразитарной активности грибы подразделяют на антропофильные, зоофильные, антропозоофильные и геофильные. Антропофильные поражают только людей (например, *Trichophyton rubrum*, *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum* и др.), зоофильные - только животных (например, *Microsporum equinum*), антропозоофильные - человека и животных (например, *Microsporum canis*, *T. verrucosum*), к геофильным грибам, обитающим в почве и способным поражать человека, относят *M. gypseum*, *M. fulvum* и др.

Шестой особенностью грибов является мицелиально-дрожжевой диморфизм, присущий ряду видов (*Candida*, *Histoplasma*, *Coccidioides* и др.). Причем дрожжевая форма нередко оказывается более вирулентной, чем мицелиальная.

Вирулентность (как мера патогенности) грибов обусловлена различными химическими ингредиентами, входящими в состав клеток или выделяющимися в окружающую среду: ферменты, экзо- и эндотоксины, гликопротеины, липиды и др.

Как и многим патогенным бактериям, возбудителям микозов присущи свойства адгезии к эпителиальным клеткам, колонизации их, пенетрации через эпителий, инвазии в подлежащие ткани, а также способность противостоять

факторам неспецифической и специфической защиты организма (агрессивность).

Адгезины патогенных грибов представлены преимущественно гликоконъюгатами (например, у *Candida* sp.), хотя у многих из них остаются мало изученными.

Колонизация эпителиальных тканей во многом зависит также от присутствия бактерий, нередко проявляющих антагонистические свойства в отношении грибов. Вот почему отдельные микозы могут возникать на фоне проведения интенсивной противобактериальной химиотерапии, являясь суперинфекциями или вторичными инфекциями.

Возможность пенетрации через эпителий и последующая инвазия подлежащих тканей зависят, как правило, от наличия и активности в клетках грибов гидролитических ферментов, разобщающих (гиалуронидаза) или/и разрушающих (карбогидразы, протеазы) клетки покровных тканей. Некоторые патогенные грибы обладают выраженными кератолитическими ферментами (дерматомицеты), катализирующими реакции гидролиза такого субстрата, как кератин ногтей и волос. Некоторые гены, контролирующие детерминанты патогенности, например, у *Candida albicans*, частично изучены, и число их продолжает возрастать [7].

Грибы, в отличие от бактерий, содержат в клеточных стенках значительно больше углеводных компонентов, но меньше — белков и липидов. Поэтому антигенные свойства грибных клеток менее выражены, чем бактериальных, и, как следствие, “напряженность” специфического иммунитета при грибковых инфекциях заметно меньшая.

Если патогенный гриб, например, в очаге воспаления, будет частично или полностью разрушен, то выделяющиеся из него свободные липиды могут проявлять агрессивные свойства за счет своей поверхностной активности, блокируя при этом фагоцитирующие и другие клетки. Такое действие свободных липидов прекратится лишь после гидролиза их соответствующими ферментами - липазами.

Токсические свойства грибов обуславливаются экзо- и эндотоксинами. Из них первые могут продуцироваться такими видами, которые только случайно или редко вызывают микотоксикозы. Например, тяжелое или смертельное отравление произойдет в случае употребления в пищу бледной поганки (*Amanita phalloides*), содержащей фаллотоксины a, b, c, d, e циклопептидной природы. Афлатоксины образуются грибом *Aspergillus flavus* и при регулярном употреблении в пищу продуктов, зараженных афлатоксинами, возможно развитие первичного рака печени у человека.

Экзотоксины продуцируют также виды из родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* и др. Однако, во всех случаях микотоксикозов, сопряженных с попаданием грибных экзотоксинов *in vivo*, собственно грибковые заболевания не развиваются. В этом их существенно отличие от бактериальных токсинемических инфекций (дифтерия, скарлатина, газовая гангрена) [7].

### 1.3 Радиационный фон земли и метаболизм грибов

Из других факторов, снижающих иммунитет человека, следует упомянуть радиационный фон земли, несколько раз повышавшийся за вторую половину XX века, а также токсические воздействия выбросов промышленности и автотранспорта [8].

Избежать радиоактивного облучения невозможно. Жизнь на Земле возникла и развивается в условиях постоянного облучения. Радиационный фон Земли складывается из следующих компонентов:

1. космическое излучение;
2. излучение от находящихся в земной коре, воздухе и других объектах внешней среды природных радионуклидов;
3. излучение от искусственных (техногенных) радионуклидов.

В результате деятельности человека в непосредственно окружающей его среде появились дополнительные источники радиации, в том числе естественные радионуклиды, извлекаемые в больших количествах из недр Земли вместе с углём, газом, нефтью, минеральными удобрениями, сырьём для строительных материалов. Вклад искусственных источников излучений в создании суммарной годовой дозы облучения живых организмов иллюстрируется согласно таблице 1:

Таблица 1 - Количество суммарной годовой дозы искусственных источников излучений

|                               | мбэр/год |
|-------------------------------|----------|
| Естественный радиационный фон | 200      |
| Стройматериалы                | 140      |
| Медицинские исследования      | 140      |
| Бытовые предметы              | 4        |
| Ядерные испытания             | 2,5      |
| Полеты в самолетах            | 0,5      |
| Атомная энергетика            | 0,2      |
| Телевизоры и мониторы         | 0,1      |
| Общая доза                    | 500      |

Метаболизм ряда микроскопических грибов ускоряется при облучении ионизирующим излучением. Это явление было обнаружено группой исследователей из Нью-Йоркского Медицинского колледжа имени Альберта Эйнштейна под руководством Екатерины Дадачовой в 2006 году. Хотя в популярной прессе утверждалось, что эти грибы используют для жизнедеятельности энергию ионизирующего излучения, фактически речь идёт об изменении под действием гамма-облучения электронных свойств пигмента меланина, содержащегося в этих грибах, причём облучённый меланин становится более активным в биохимических реакциях. Облучённые грибы с

меланином растут на питательной среде значительно быстрее как таких же необлучённых грибов, так и облучённых «альбиносов» (Рисунок 1). Это явление наблюдалось также в условиях недостаточного питания грибов.

Отмечается, что много богатых меланином грибов было обнаружено в меловом периоде Земли, когда происходило увеличение космической радиации на планете. Авторы исследования отмечают также, что меланизированные виды грибов растут в условиях высокой дозовой нагрузки в непосредственной окрестности разрушенного реактора четвертого энергоблока Чернобыльской АЭС [9].

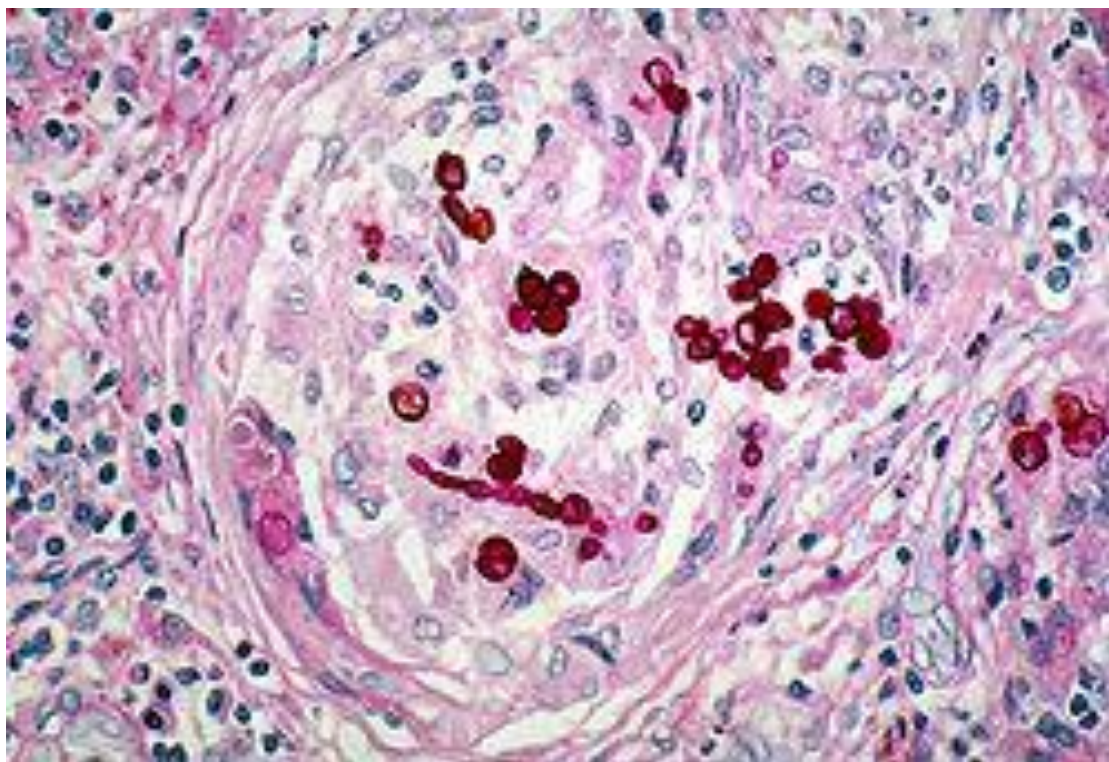


Рисунок 1 - *Wangiella dermatitidis* лучше растут под действием радиационного излучения

Более того, не только техногенные катастрофы, но и повседневная хозяйственная деятельность человека приводит к загрязнению окружающей среды, нарушающему функции защиты организма от инфекции. Это явилось основанием для отнесения микозов к категории болезней прогресса цивилизации.

## 2. Неспецифическое микогенное воздействие грибов на животный организм

Контакт с грибами условно может вызывать три состояния: включающих так называемое носительство, инвазию и/или аллергическое состояние [10]. В настоящее время признано, что при грибковых заболеваниях основные защитные механизмы связаны с клеточными факторами и меньше - с гуморальными [11]. Неспецифические тканевые реакции на присутствие грибного антигена, препятствующие проникновению патогена в органы и ткани, проявляются в виде развития эпителиоидной гранулематозной реакции, фагоцитоза, иногда - тромбоза кровеносных сосудов за счет действия грибных протеаз, обеспечивающих ускорение реакций свертывания крови. Для микозов нет специфических патогномоничных изменений тканей - эти изменения, как правило, смешанного характера. Некоторые возбудители грибковых инфекций (например, *Histoplasma capsulatum*) сохраняются в макрофагах, размножаются в них и способны вызывать диссеминированные заболевания.

В воздушном бассейне городов встречается в среднем 3100 спор грибов (Рисунок 2) в 1 м<sup>3</sup> воздуха. Споры обнаруживали на высоте более 2000 м. Причем выделяли до 20 видов грибов.

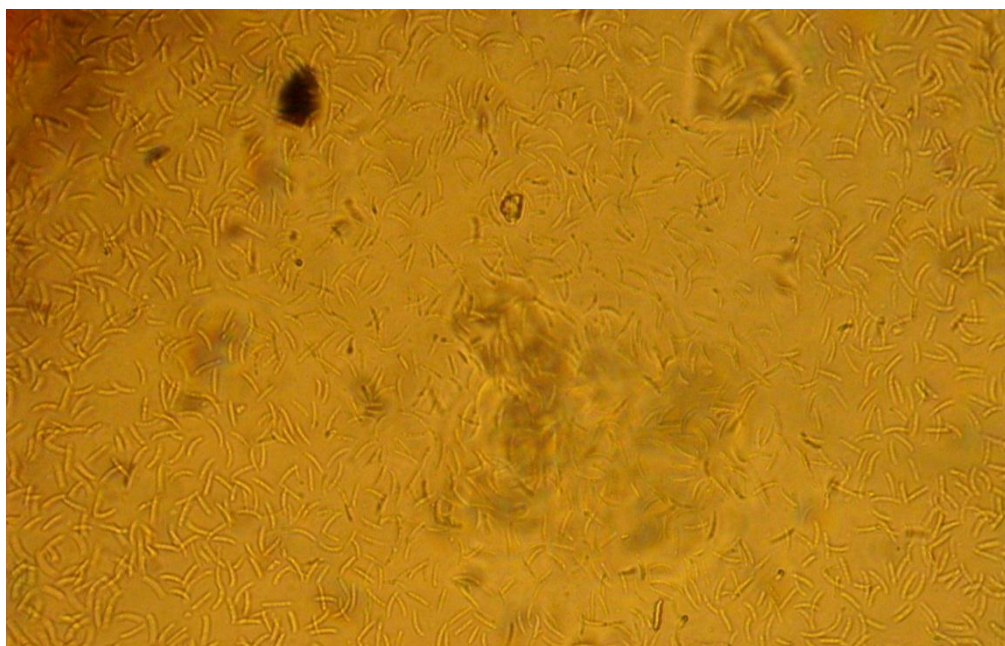


Рисунок 2 – Споры *Cytospora Chrysosperma* (Pers), в огромном количестве находится в местах отдыха людей, парках и других насаждениях

Проявление микогенной аллергии может быть следствием влияния экологических факторов. Так, в 80-х годах в СССР были открыты производства кормовых белков (или белково-витаминных концентратов), которые изготавливали на основе некоторых штаммов грибов рода *Candida* (например, *C. maltosa*) и обычно выращивали на отходах нефтепереработки. Концентрат представлял собой порошок из частиц размером от 1 до 5 мкм. На

определенных этапах сушки белок иногда по технологическим причинам попадал в воздушную среду. Это вызвало постепенную сенсibilизацию части населения, проживающих в районе этих производств. Повторный массивный выброс белка спровоцировал возникновение приступов бронхиальной астмы у многих жителей города А., которые носили характер эпидемической вспышки. Интересно, что в то же время аллергия у рабочих, непосредственно работающих с кормовым белком, выражалась, в основном, контактными дерматитами [12].

## 2.1 Взаимосвязь биоповреждения зданий и проявления признаков микогенной аллергии

Многие микромицеты, развивающиеся на различных материалах и изделиях, на составных элементах разных конструкций и сооружений, оказываются заведомо вредными для людей. К ним относят отдельных представителей из родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys* и многих других. Первоначально сапротрофные они или продукты их обмена могут вызывать патологические процессы, например, инвазивный аспергиллёз, индуцируемый *Aspergillus fumigatus*; первичный рак печени, вызываемый афлатоксином (продуцент — *A. flavus*) и т. д. Подобные микромицеты могут быть причиной аллергических состояний (риниты, бронхиальная астма) у лиц, вдыхающих загрязнённый спорами воздух. Неинвазивно обитающие в параназальных полостях некоторые грибы способны провоцировать аллергические грибковые синуситы. Первичными этиологическими агентами при этом азываются тёмноокрашенные виды из родов *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nodulosporium*, а также *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Mucor* [13].

Для внимательного врача некоторые признаки, на первый взгляд малозаметные, могут указывать на связь заболевания с местом проживания. Первое — это улучшение состояния больного при временном перемещении в другие дома и даже местности. Например, уменьшение кашля, выраженности одышки, ликвидация бронхоспазма, улучшение общего состояния. И, напротив, возвращение всех перечисленных симптомов или усиление их выраженности при возвращении на старое место. Второе — устойчивость к проводимому стандартному лечению. Там, где обычные методы лечения должны помогать больному, улучшение не наступает, если больной остается в своем доме, где на него продолжают действовать домашние аллергены. В некоторых случаях под влиянием лечения наступает даже ухудшение состояния больного, например, при назначении антибактериальных антибиотиков. И, наконец, неустойчивость улучшения после проведенного лечения, тенденция к закреплению развившихся симптомов, постепенное удлинение периодов обострения и сокращение сроков улучшения состояния. Третье — если у больного выделяется мокрота, то плотные включения в виде белых или серых комочков могут указывать на грибковое происхождение легочного процесса.

Если все перечисленные признаки наблюдаются у жителей квартир с признаками биоповреждений, то весьма высока вероятность того, что именно они являются причиной заболеваний людей.

Наиболее подвержены влиянию плесневых грибов дети и пожилые люди. Заболевание ребенка в раннем возрасте может определить его состояние здоровья на всю жизнь. У пожилого человека болезнь может существенно сократить жизнь.

Совершенно очевидно, что микозы относятся к категории экологически обусловленных болезней, при которых городская среда обитания определяет их уровень в общей структуре заболеваний жителей города. Уровень заболеваемости микозами и микогенной аллергией свидетельствует не только о состоянии здоровья отдельных людей или целых больших или малых групп населения, но является также индикатором состояния жилищных и производственных условий городского жителя. Необходимо учитывать, что в “здоровом” жилище не должно быть больных людей, по крайней мере, больных микозами и микогенной аллергией. Врачи могут, но, к сожалению, не всегда, помочь больному человеку. Предотвратить заболевание чисто медицинскими мерами практически невозможно. В отличие от медицинских, плановые социальные меры могут предотвратить массовые микотические заболевания, если эти меры принимаются с учетом существа происхождения микозов и микогенной аллергии, возникающих в условиях неблагоприятного быта и производственной деятельности. Защита зданий от биоповреждений это не только спасение города, но одновременно и профилактика микозов и микогенной аллергии.

При появлении первых признаков биоповреждения зданий необходимо принимать срочные меры для их ликвидации. По нашему мнению, последовательность действий при этом должна быть такой:

1. Лабораторное, в том числе химическое, бактериологическое и микологическое исследования соскобов стен, пола, потолка с участков биоповреждения. Микробиологическое исследование воздуха помещений.

2. Поиск и ликвидация причин биоповреждения (подтекание из водных коммуникаций, поднятие воды из почвы по капиллярным системам материалов, попадание в толщу перекрытий атмосферной воды из-за неисправной кровли, водосточных труб или с выступающих частей здания – балконов, портиков и пр).

3. Высушивание и дезинфекция участков биоповреждения химическим или физическим способом. В настоящее время существует целый ряд безвредных для человека химических веществ с антибактериальным и антимикотическим эффектами. Разрабатываются также способы лазерного, ультрафиолетового облучения. Возможно получение способов озонирования поверхностей строительных материалов или готовых конструкций. Во всяком случае, уже обеспечен выбор средств и их комбинаций для обработки материалов в целях профилактики биоповреждений или остановки уже начавшегося процесса.

4. Повторное лабораторное исследование.

5. Косметический ремонт при отрицательных результатах лабораторного исследования.

Создание законодательной базы противодействия биоразрушению городской среды и профилактики связанных с этим заболеваний может явиться основой выполнения программ, предлагаемых в этом направлении.

Таким образом, только выполнение всей совокупности перечисленных действий гарантирует достижение цели – ликвидацию и дальнейшую профилактику биоповреждений. Опыт показывает, что нельзя ограничиваться только дезинфекцией и косметическим ремонтом, необходимо устранение причины увлажнения элементов зданий и оборудование их системой долговременной гидроизоляции.

## 2.2 Экологическая ситуация в жилых помещениях

На настоящее время нет каких-либо общепринятых нормативов содержания грибов в воздушной среде жилых помещений. Некоторые специалисты условной нормой считают содержание спор в воздухе жилых помещений до 500 спор в м<sup>3</sup>.

Практически все жители земли – и сельские, и городские – повседневно подвергаются воздействию атмосферы, содержащей не только необходимый для жизни кислород, но и ядовитые вещества, подавляющие иммунитет. Поэтому, хотя человечеству удалось справиться с такими массовыми инфекционными заболеваниями как чума, натуральная оспа, холера, в прошлом уносившими миллионы жизней, перед наступлением инфекций, вызываемых условно патогенными возбудителями, человек пока оказывается бессильным, потому что он сам создает условия для их возникновения. По мере развития микологии выявляются все новые условия, способствующие заболеванию микозом или микогенной аллергией. Одним из частных случаев таких условий является сырое жилище или рабочее помещение, а люди, живущие или работающие в таких условиях, составляют группу риска развития микозов и микогенной аллергии, потому что именно у них сочетается снижение иммунитета, вызванное техногенными и медицинскими факторами и повседневный контакт с грибами-возбудителями болезней. Следует иметь в виду, что современный человек большую часть своей жизни проводит в помещении – дома или на работе. И в том, и в другом случае, если это помещение оказывает неблагоприятное влияние на организм, оно продолжается по несколько часов каждые сутки жизни в течение многих лет. Поэтому проблема микозов, зависящих от состояния жилища или рабочего помещения, должна быть достоянием не только врачей, но и строителей, и администраторов, и всех жителей городов, первыми встречающихся с биоповреждениями зданий.

Грибы хорошо перемещаются в закрытом помещении, и их рост может определять круглогодичные аллергические симптомы. Среди грибов, так называемых, “закрытых помещений”, обычно доминируют мелкоспоровые

дейтеромицеты, особенно *Penicillium* и *Aspergillus*, а также дрожжи и, редко, *Rhizopus* и *Mucor*. Места хранения продуктов, загрязненная обивка, контейнеры для мусора - являются обычными местами роста грибов. Другие органические субстраты (например, шерсть) также нередко колонизируются, а расщепляющие целлюлозу микроорганизмы могут использовать как среду обитания вату, обычные обои. Пористость каучука и синтетических материалов, способность оставаться сырыми длительное время также ведут к их колонизации грибами. Рост грибов может возникать и на других поверхностях при наличии адекватной влажности. Подвальные или холодные внешние стены, лепные украшения окон, занавески в душевой, и крепления - также обычные участки роста грибов; проветривание различных других накопителей влаги тоже увеличивает выделение спор. Содержащиеся в плохом состоянии кондиционеры в ходе работы могут испускать плотные микробные аэрозоли, как и некоторые увлажнители воздуха.

Наличие в жилой среде опасного аэрогенного фактора может стать причиной таких патологических состояний организма, как аллергия, бронхиальная астма, дерматиты. Обычная грибковая плесень может стать причиной серьезных заболеваний и даже смерти людей со сниженным иммунитетом. У таких пациентов плесень (точнее, споры грибов) могут вызывать легочный аспергиллез. Наиболее опасна плесень гриба *Aspergillus*, постоянного спутника не только человека, но и птиц, животных, растений. Ее можно встретить повсюду: в почве, вентиляционных системах, продуктах питания.

В результате в настоящее время сложились условия для формирования многочисленных групп риска развития микозов.

### 2.3 Микромицеты и продукты их деятельности - как источник биологического загрязнения среды

Грибные болезни растений - заболевания растений, вызываемые фитопатогенными грибами (паразитами и полупаразитами). Грибные болезни растений по сравнению с другими болезнями более распространены и вредоносны, они значительно снижают урожай и качество продукции, а у плодовых деревьев и ягодников, кроме того, сокращают и сроки их хозяйственного использования.

Под воздействием грибов-возбудителей болезней в растениях возникают патологические процессы, сопровождающиеся нарушением структуры и физиологических функций растения или отдельных его частей, например образованием наростов, наплывов, изменением дыхания, ассимиляции, ферментативной деятельности, нарушением роста и развития, отмиранием пораженных тканей (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Пораженное дерево тополя грибом *Cytospora Chrysosperma* (Pers)

Внешне грибные болезни растений характеризуются тем или иным типом поражения, которое бывает местным или общим. К местному поражению, охватывающему небольшие участки растения или его отдельные органы, относятся пятнистости (церкоспороз свёклы, парша яблони и груши и др.), грибные налёты (мучнистая роса и др.), язвы, пустулы (ржавчина растений); к общему — увядание растений [14].

Грибные болезни растений передаются семенами, клубнями, луковицами, корнями, черенками, саженцами и др. частями больных растений. Инфекция может сохраняться в послеуборочных остатках, в почве, переноситься ветром, каплями дождя, животными и человеком, тарой, сельскохозяйственными машинами и орудиями. Патогенные грибы могут проникать в ткани растений через устьица (миль дью винограда), водяные поры, чечевички, через клетки эпидермиса и кутикулу (кила капусты, рак картофеля), раны, возникающие от града (пузырчатая головня кукурузы), солнечных ожогов, морозобоин (чёрный рак яблони), через трещины. Многие насекомые, повреждая растения, открывают "ворота" инфекции, при этом часто переносят возбудителей болезней [15].

Интенсивность развития болезни зависит от условий внешней среды, которые влияют как на растение, так и на паразита, на взаимоотношения между ними и на течение инфекционного процесса. Например, известкование почвы подщелачивает почвенный раствор и снижает поражение капусты килой. При недостатке в почве бора свёкла чаще заболевает сердцевинной гнилью. Одностороннее внесение в почву азота при недостатке фосфора и калия

усиливает поражение злаков ржавчиной, картофеля — фитофторозом. Относительно низкая температура и высокая влажность почвы после посева свёклы обуславливают недружные всходы и поражение их корнеедом [16].

Также, пастбища и поля с зерновыми культурами являются особенно значимыми источниками спор *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium-Drechslera* и *Epicoccum*. Высокие местные уровни спор ржавчинных и головневых грибов, также как *Ophiobolus* и *Gibberella ascospores*, могут быть результатом заражения ими зерновых культур. В лесах, черные дейтеромицеты, ржавчинные и головневые грибы встречаются в меньшем количестве, но часто изобилуют споры базидиомицетов, обитающих на гниющей древесине (например, *Ganoderma spp.*). Точно так же во фруктовых садах осенью может подниматься уровень в воздухе дрожжеподобных грибов и сезонных паразитов типа *Venturia inequalis*, от которых фрукты свободны весной

Для защиты растений от грибных болезней широко применяют комплекс агротехнических и химических мероприятий. Агротехнические мероприятия главным образом направлены на ограничение и ликвидацию заразного начала на семенах и в почве; на изменение условий выращивания растений в сторону, благоприятную для них и неблагоприятную для паразитов; на поддержание и повышение устойчивости растений. Они включают возделывание устойчивых сортов, рациональное размещение культур в севообороте, правильную обработку почвы и уход за ней в период вегетации растений, правильное применение всех видов удобрений, соблюдение оптимальных сроков сева и уборки урожая и др.

Химические мероприятия состоят из обработки фунгицидами семян, вегетирующих растений, обеззараживания сельско-хозяйственных помещений, хранилищ, почвы и т. д. [17].

### 3. Факторы снижения резистентности животного организма

Устойчивость организма к воздействию различных повреждающих факторов. Резистентность может понижаться при недостатке, избытке или качественной неадекватности биологически значимых факторов (питания, двигательной активности, трудовой деятельности, информационной нагрузки и стрессовых ситуаций, различных интоксикаций, экологических факторов и др.). Наибольшей резистентностью организм обладает в оптимальных биолого-социальных условиях существования.

#### 3.1 Резистентность организма

Резистентность тесно связана с реактивностью организма, представляя собой одно из основных ее следствий и выражений. Различают неспецифическую и специфическую резистентность. Под неспецифической резистентностью понимают способность организма противостоять воздействию разнообразных по своей природе факторов. Специфическая резистентность характеризует высокую степень противодействия организма воздействию определенных факторов или их близких групп.

Резистентность организма может определять относительно стабильными свойствами различных органов, тканей и физиологических систем, в т.ч. не связанными с активными реакциями на данное воздействие. К ним относят, например, барьерные физико-химические свойства кожи, препятствующие проникновению через нее микроорганизмов. Подкожная клетчатка обладает высокими теплоизоляционными свойствами, костная ткань отличается большой устойчивостью к механическим нагрузкам и т.д. Подобные механизмы резистентности включают и такие свойства, как отсутствие рецепторов, обладающих сродством к патогенному агенту (например, токсину) или недоразвитость механизмов, необходимых для реализации соответствующего патологического процесса (например, аллергических реакций).

В других случаях формирования резистентности организма решающее значение имеют активные защитно-приспособительные реакции, направленные на сохранение гомеостаза при потенциально вредных воздействиях факторов внешней среды или неблагоприятных сдвигах во внутренней среде организма. Эффективность таких реакций и, следовательно, степень резистентности к различным факторам зависит от врожденных и приобретенных индивидуальных особенностей организма. Так, у некоторых лиц в течение всей жизни отмечается высокая (или, напротив, низкая) резистентность к различным инфекционным болезням, охлаждению, перегреванию, действию определенных химических веществ, ядов, токсинов.

Значительные колебания индивидуальной резистентности могут быть связаны с особенностями реактивности организма во время его взаимодействия с повреждающим агентом. Резистентность изменяется в процессе онтогенеза, причем ее возрастная динамика по отношению к различным воздействиям

неодинакова, однако в целом она оказывается наиболее высокой в зрелом возрасте и снижается по мере старения организма. Некоторые особенности резистентности связаны с полом.

Значительное повышение как неспецифической, так и специфической резистентности может быть достигнуто посредством адаптации к различным воздействиям: физическим нагрузкам, холоду, гипоксии, психогенным факторам и др. При этом адаптация и высокая резистентность по отношению к какому-либо воздействию может сопровождаться повышением резистентности и к другим факторам. Иногда могут возникать и противоположные отношения, когда повышение устойчивости к одной категории воздействий сопровождается снижением ее к другим. Особое место занимает высокоспецифичная мобилизация защитно-приспособительных свойств организма при воздействиях на иммунную систему.

В целом реализация механизмов резистентности организма обеспечивается, как правило, не одним каким-либо органом или системой, а взаимодействием комплекса различных органов и физиологических систем, включая все звенья регуляторных процессов [18].

### 3.3 Антибиотики

Сейчас трудно найти человека, в течение жизни не получавшего антибиотиков.

Антибиотики отличаются друг от друга не только по химической структуре, но и по месту приложения действия на микробную клетку. Антибиотики относятся к наиболее часто используемым препаратам для лечения инфекционных заболеваний, как человека, так и животных. Кроме того являясь антагонистами грибов они могут существенно влиять на состав кишечной микрофлоры, что может не только нарушать нормальное течение физиологических процессов, но даже приводить к тяжелым патологическим состояниям. Действие антибиотиков, применяемых в низких концентрациях, обычно направлено на специфические особенности жизнедеятельности патогенных микроорганизмов. Клеточные стенки бактерий и плесневых грибов сильно отличаются от клеточной оболочки животных клеток, и многие нетоксичные антибиотики блокируют образование именно клеточных стенок.

Основное влияние антибиотиков, как известно, направлено на сдерживание роста микрофлоры и её уничтожение. Многие виды препаратов изготавливают из грибов, ввиду их свойств подавлять окружающий микромир. Организм и вся его населяющая микрофлора образуют устойчивый гомеостаз. Именно устойчивость и баланс всех процессов и взаимодействие с населяющими нас микробами определяет качество нашей жизнедеятельности. Любой антибиотик — ингибитор. Он подавляет жизненно важные химические реакции микробов, что приводит к их гибели.

Антибиотики, подавляя рост бактерий в организме, освобождают место для грибов, на которые они не действуют, и, таким образом, создают для них

микробиологическую нишу. Больше того, сами антибиотики могут явиться питательной средой для грибов. Таким образом, длительное применение антибиотиков создает условия для успешного расселения грибов в организме человека, что может повлечь за собой аллергии и другие заболевания.

### 3.4 Витамины

Английское государственное Агентство по пищевым стандартам официально заявило, что сбалансированное питание вполне обеспечивает организм витаминами и минералами, а дополнительный прием препаратов и биодобавок с ними большинству людей не нужен, а нередко даже и небезопасен.

Концентрация витаминов в тканях и суточная потребность в них невелики, но при недостаточном поступлении витаминов в организм наступают характерные и опасные патологические изменения.

Отравления организма большим количеством витаминов получили название гипervитаминозов. Например, стремясь предупредить у котят заболевание рахитом, владельцы обильно вводят в организм витамин D. В результате превышения дозы витамина у животных наступают необратимые процессы в тканях и органах, увеличивается содержание кальция в крови, что ведет к отложению минеральных солей в тканях сердца, легких, почек, в стенке желудка. Страдает также и нервная система животного.

Опыты показали, что введение животным различных пород больших доз витамина А оказывает токсическое действие: животное худеет, появляется сухость роговицы глаз, снижается аппетит, на кожных покровах выступает сыпь, что нередко принимают за начало какого-то заболевания, на слизистых оболочках возникают трещинки, шерстный покров становится менее густым, снижается иммунитет, что ведет к снижению сопротивляемости организма к негативным факторам внешней среды, в том числе, к биологическому загрязнению.

Исходя из растворимости, витамины делят на жирорастворимые — А, D, Е, F, К и водорастворимые — все остальные. Жирорастворимые витамины накапливаются в организме, причём их депо являются жировая ткань и печень. Водорастворимые витамины в существенных количествах не депонируются, а при избытке выводятся. Это с одной стороны объясняет то, что довольно часто встречаются гиповитаминозы водорастворимых витаминов, а с другой — наблюдаются гипervитаминозы жирорастворимых витаминов.

Таким образом, люди с разным иммунитетом и не однозначным подходом к употреблению антибиотиков и витаминов могут страдать от биологического загрязнения воздуха, в том числе спорами грибов, находящимися в окружающей среде.

#### 4 Влияние микогенной биоты на животный организм

Широкое распространение спор разнообразных грибов в окружающей среде объясняет наличие постоянного контакта и взаимодействия их с человеком и способность при определенных условиях оказывать болезнетворное воздействие на макроорганизм.

Различают три основных типа прямого поражения человека грибами: отравление их метаболитами (мицетизм, микотоксикоз), сверхчувствительность к неядовитым веществам грибного происхождения (микогенная аллергия) и инфекции (микозы) [19].

Микотоксикозы (греч. *mykēs* гриб + токсикоз) — заболевания, обусловленные попаданием в организм микотоксинов, которые образуются в процессе жизнедеятельности ряда микроскопических (плесневых) грибов.

Микотоксины устойчивы к действию физических и химических факторов. Поэтому разрушение их в пищевых продуктах представляет трудную задачу. Общепринятые способы технологической и кулинарной обработки лишь частично уменьшают содержание микотоксинов в продукте. Высокая температура (свыше 200°), замораживание, высушивание, воздействие ионизирующего и ультрафиолетового излучения оказались также малоэффективными.

Известно несколько видов микотоксинов: пищевые (алиментарные), респираторные (пневмомикотоксикозы), дерматомикотоксикозы.

Пневмомикотоксикозы и дерматомикотоксикозы возникают у людей при проникновении микотоксинов в организм через слизистую оболочку дыхательных путей или поврежденную поверхность кожи. Наблюдаются эти заболевания («зерновая лихорадка», «лихорадка чесальщиков») у людей, работающих с сырьем, пораженным в значительной степени токсинообразующими грибами.

К наиболее распространенным алиментарным микотоксикозам людей и животных относятся фузариотоксикозы: споротрихиеллотоксикоз, фузариограминейротоксикоз, фузарионивалетоксикоз [20].

Микоз (грибковые заболевания) - широко распространенная группа инфекционных болезней, вызываемых паразитическими грибами. Споры грибов попадают в кожу и подкожную клетчатку в результате микротравм, оседают на слизистых оболочках глаз, а также верхних дыхательных путей или в легких при дыхании. Характер и тяжесть микоза зависят от вида грибка и локализации поражения. Развитию микозов способствуют любые заболевания, вызывающие снижение защитных сил организма. Могут поражаться различные участки кожи и ее придатки (ногти, волосы), наружные половые органы, слизистые оболочки, легкие, пищевод. Микозы, как правило, имеют хроническое течение.

Грибковые инфекции являются важной проблемой клинической медицины. Из потенциальных "болезней будущего" микозы превратились в актуальные

"болезни настоящего". Возбудители микозов многочисленны и вызываемые ими заболевания человека и животных весьма разнообразны [21].

Повсеместная вегетация грибов в окружающей среде, спорующая в воздушные потоки делает неизбежным контакт их спор с органами дыхания любого человека. Размеры некоторых спор позволяют им достигать альвеол. Дыхательные пути здоровых людей имеют высокую способность к элиминации спор, и грибы редко имеют патогенные свойства в этих условиях.

Грибы для человека генетически чужеродны, поэтому при попадании их на поверхность или в глубину тканей организм человека стремится освободиться от них. Основная роль в этом процессе принадлежит иммунной системе. Именно она распознает генетически чужеродные структуры - клетки грибов, связывает их и способствует выведению из организма. У некоторых людей развивается чрезмерно сильный ответ на внедрение в организм грибов. При этом развиваются аллергические реакции или даже заболевания. Таков механизм развития микогенной аллергии [22].

Первая линия иммунной защиты легких против грибов состоит в опсонизации спор грибов с последующим фагоцитозом и киллингом альвеолярными макрофагами и затем удаления их из дыхательных путей посредством мукоцилиарного клиренса, который является главным механизмом очистки легких. Некоторые споры, попадая в дыхательные пути, способны связываться с тканевыми компонентами и подавлять киллинговый потенциал фагоцитов, что может способствовать формированию локального повреждения иммунной защиты бронхиальной стенки. Было описано выживание спор *A. fumigatus* в нейтрофилах и альвеолярных макрофагах. Дополнительными факторами вирулентности грибов является продукция различных микотоксинов, которые могут тормозить рост клеток или функционирование клеточных защитных механизмов хозяина. Ферменты, выделяемые грибами, например эластаза, также может повреждать эпителий [23].

Микогенная аллергия имеет различные клинические проявления, которые можно разделить на 3 основные группы: микоаллергозы кожи, органов пищеварения и органов дыхания. Поражения кожи и органов пищеварения встречаются относительно редко и связаны преимущественно с грибами рода *Candida*. Напротив, респираторные микоаллергозы чрезвычайно распространены, поскольку самые различные грибы могут выступать как провоцирующий фактор таких заболеваний как аллергический ринит и бронхиальная астма.

Следует остановиться и на профессиональных факторах, которые также могут влиять на развитие сенсibilизации к плесневым грибам. Как известно, достаточно большое число профессий связано с работой в атмосфере, содержащей большие количества спор грибов. Это, прежде всего, работники сельского хозяйства, где концентрация спор грибов может достигать нескольких миллионов в м<sup>3</sup>, шахтеры, метростроевцы, пивовары, имеющие, частый контакт с *Aspergillus clavatus*, работники микробиологической

промышленности и многие другие. В группу риска входят и библиотекари, так как грибы часто живут в старых книгах.

Известный пожар в Библиотеке Академии Наук, который не жалея залили водой, вызвал тотальный рост плесени на книгах и, как следствие, увеличение числа спор в воздухе и рост аллергических проявлений со стороны органов дыхания у работников этой библиотеки. Аллергия к плесневым грибам выявлена была у 43% обследованных библиотекарей БАН, причем преобладала аллергия к *Penicillium*.

Исследование пыли с одной из табачных фабрик г. Санкт-Петербурга вызвало просто изумление, учитывая выявление самых разнообразных грибов, что связывают с заплесневелостью табачного сырья, применяемого в производстве.

Учитывая, что выявление аллергена и прекращение контакта с ним является важнейшим условием лечения больных аллергией, в помещениях у больных с выявленной микогенной аллергией следует ликвидировать источники спорообразования, а они достаточно разнообразны. В жилых помещениях – это, прежде всего, протечки, цветочные горшки, заплесневелые продукты (хлеб, овощи), иногда влажная одежда. Различные ремонтные работы, например, разборка полов, плинтусов, линолеума значительно увеличивает антигенную нагрузку на органы дыхания [24].

В настоящее время признано, что при грибковых заболеваниях основные защитные механизмы связаны с клеточными факторами и меньше - с гуморальными. Неспецифические тканевые реакции на присутствие грибного антигена, препятствующие проникновению патогена в органы и ткани, проявляются в виде развития эпителиоидной гранулематозной реакции, фагоцитоза, иногда - тромбоза кровеносных сосудов за счет действия грибных протеаз, обеспечивающих ускорение реакций свертывания крови.

Для микозов нет специфических патогномичных изменений тканей - эти изменения, как правило, смешанного характера. Некоторые возбудители грибковых инфекций (например, *Histoplasma capsulatum*) сохраняются в макрофагах, размножаются в них и способны вызывать диссеминированные заболевания [25].

Изменения, сопутствующие микозам, воспалительных реакций, обусловленных различными факторами (патологическими, генетическими, лечебными), сопровождаются изменениями иммунного ответа. В то же время при врожденных и приобретенных иммунодефицитах иммунный ответ несовершенен или совсем не эффективен. При этом возрастает роль так называемых оппортунистических (глубоких) микозов, вызываемых условно-патогенными грибами. Например, при лейкозах возможно развитие аспергиллеза, при лимфоме и СПИД - криптококкоза, при дисгаммаглобулинемии - кандидоза и т.д. [26].

В прошлом микозы внутренних, половых органов и нервной системы, вызываемые условно патогенными грибами, практически не встречались. Были только отдельные наблюдения глубоких микозов, описанные в XIX веке и в

первой половине XX века. Но даже в этих наблюдениях грибы рассматривались лишь как вероятная причина заболевания.

Положение изменилось с пятидесятых годов XX века. Именно в эти годы в медицинскую практику были внедрены антибактериальные антибиотики, в частности, пенициллин, а затем сильнодействующие препараты гормонального ряда и противораковые средства. Препараты всех перечисленных групп подавляют иммунитет. Несмотря на то, что и антибиотики, и другие препараты, играют очень большую роль в борьбе с самыми различными, в том числе тяжелыми, заболеваниями, своими побочными влияниями они способствуют росту микотически обусловленной заболеваемости. К сожалению, не только лекарства, но и некоторые инвазивные (с нарушением целостности кожных и слизистых покровов) методы исследования и лечения, например, зондирование сердца и крупных сосудов, самые различные пункции, операции, могут способствовать заносу клеток грибов в глубокие ткани и органы. Это позволило отнести микозы к категории болезней прогресса медицины [27].

#### 4.1 Микромицеты как причина заболеваний человека

Выявлено, что контакт с грибами человека или животного может вызывать три состояния включающих:

1. носительство грибковых заболеваний;
2. инвазию;
3. аллергическое состояние [28].

В настоящее время признано, что при грибковых заболеваниях основные защитные механизмы связаны в большей степени с клеточными факторами и в меньшей - с гуморальными [11]. Неспецифические тканевые реакции на присутствие грибного антигена, препятствующие проникновению патогена в органы и ткани, проявляются в виде фагоцитоза, развития эпителиоидной гранулематозной реакции, тромбоза кровеносных сосудов за счет действия грибных протеаз, обеспечивающих ускорение реакций свертывания крови. Как правило микозы не имеют специфических патогномоничных изменений тканей – обычно эти изменения смешанного характера. Некоторые возбудители грибковых инфекций (такие как *Histoplasma capsulatum*) способны вызывать диссеминированные заболевания, сохраняются в макрофагах и размножаются в них.

При наличии воспалительных реакций выявляются соответствующие иммунные реакции, связанные с инвазией грибов [29]. При врожденных и приобретенных иммунодефицитах, в то же время, иммунный ответ несовершенен или совсем не эффективен. При этом возрастает роль, так называемых, оппортунистических или глубоких микозов, вызываемых условно-патогенными грибами. Например, при лимфоме и СПИДе - возможно развитие криптококкоза, при лейкозах - аспергиллеза, при дисгаммаглобулинемии – кандидоза. Так, при формировании оппортунистических микозов, вызываемых условно-патогенными грибами рода *Candida*, имеют место: адгезия клеток

грибов к барьерным системам организма, затем размножение возбудителя с проникновением его через барьерные системы, взаимодействие грибов с клеточными элементами соединительной ткани, внедрение возбудителя в сосудистое русло, и наконец, диссеминация грибов по организму с образованием в органах кандидозных очагов поражения.

В случаях контакта грибкового антигена с клеточным компонентом иммунной системы при микозах развивается гиперчувствительность замедленного типа, которая обычно выявляется через 10-14 дней после заражения, а также накапливаются антитела или иммуноглобулины различных классов. Также может активироваться комплемент по классическому или альтернативному пути [30].

#### 4.3 Индуцирование аллергии микромицетами

Грибы могут индуцировать все четыре типа аллергических реакций [31]. По клиническим проявлениям аллергические реакции немедленного типа, обусловленные грибами, ничем не отличаются от таковых заболеваний, вызванных бытовыми, пищевыми или другими аллергенами. Кроме спор, вегетирующие грибы могут выделять большое число различных макромолекулярных соединений. Например у *Aspergillus fumigatus* выявлено более 300 антигенных компонентов. Наиболее активной в антигенном отношении являлась фракция антигенов из разрушенного мицелия. Отмечена возможность антигенов, выделяемых грибами рода *Aspergillus* стимулировать синтез иммуноглобулина Е и эозинофилов.

В последнее время во всех развитых странах мира отмечается неуклонный рост аллергических заболеваний. Показатели частоты сенсibilизации к грибам варьируют в широких пределах: от 2% до 60% в зависимости от вида гриба и принадлежности пациентов к группам риска развития микогенной аллергии [32]. Грибы, наряду с другими аллергенами, могут вызывать у людей микогенную сенсibilизацию и аллергию. Индукция того или иного типов аллергических реакций во многом определяется исходным состоянием иммунной системы и особенностями поступления аллергена в организм.

Сенсibilизация организма к *Candida* может развиваться двумя путями: экзогенным и эндогенным [33]. Экзогенный путь является следствием контакта человека с аллергенами грибов окружающей среды, при этом микогенная сенсibilизация проявляется обычно как профессиональная патология у рабочих предприятий по производству кормовых дрожжей и белково-витаминных концентратов, у жителей селитебных зон (проживающих в районах расположения таких предприятий), а также животноводов, контактирующих с готовыми продуктами производства. Наиболее часто сенсibilизация к аллергену гриба происходит эндогенным путем при хронических формах кандидоза или длительном носительстве грибов рода *Candida* в организме. Эндогенная сенсibilизация встречается и как профессиональная патология у медсестер, работников предприятий по выпуску лекарственных препаратов и

производства комбикормов, что связано с частым кандидоносительством у лиц этих профессий [6]. На развитие микогенной сенсibilизации и аллергии оказывают влияние многие факторы: наследственная предрасположенность к аллергическим заболеваниям, доза аллергена и длительность контакта с ним, путь поступления аллергена в организм и др.

Наследственность является одним из основных факторов, способствующих развитию микогенной сенсibilизации и аллергии. Среди лиц с профессиональной сенсibilизацией к микогенному загрязнению установлена повышенная частота встречаемости HLA-антигенов B18, Cw4. У больных аллергозами такими иммуногенетическими маркерами являются HLA-антигены DR7, Cw4 и D8. Для «резистентных» лиц характерна низкая встречаемость DR7. У рабочих, занятых в производстве гидролизных кормовых дрожжей, имеет место тесная связь возникновения профессиональных аллергодерматозов с антигеном HLA-B16 [34].

Повсеместная вегетация грибов в окружающей среде, споруляция в воздушные потоки делает неизбежным контакт их спор с органами дыхания любого человека. Размеры некоторых спор позволяют им достигать альвеол. Известно, что в носовой полости и носоглотке задерживаются частицы размером более 50 мкм, частицы диаметром 30-50 мкм проникают в трахею, 10-30 мкм - в бронхи, 3-10 мкм - в бронхиолы и 1-3 мкм в альвеолы. Следует указать, что многие бактерии и споры грибов имеют размеры от 0,5 до 3 мкм и более, благодаря чему могут проникать до самых отдаленных участков бронхиального дерева, включая и область альвеол. Обычно в дистальных отделах респираторного тракта оседает примерно 50% ингалированных частиц диаметром около 5 мкм и 70% частиц - размером около 2 мкм. Частицы размером менее 0,5 мкм вдыхаются и выдыхаются подобно нерастворимому газу.

Несомненно, что высокие концентрации спор в воздухе представляют повышенную опасность для групп риска. Длительная и массивная экспозиция спор может быть расценена организмом как аллергены и приводить к развитию гиперчувствительности [30].

Первая линия иммунной защиты легких против грибов состоит в опсонизации спор грибов с последующим фагоцитозом и киллингом альвеолярными макрофагами и затем удаления их из дыхательных путей посредством мукоцилиарного клиренса, который является главным механизмом очистки легких [36]. Некоторые споры, попадая в дыхательные пути, способны связываться с тканевыми компонентами и подавлять киллинговый потенциал фагоцитов, что может способствовать формированию локального повреждения иммунной защиты бронхиальной стенки. Было описано выживание спор *A. fumigatus* в нейтрофилах и альвеолярных макрофагах [31]. Дополнительными факторами вирулентности грибов является продукция различных микотоксинов, которые могут тормозить рост клеток или функционирование клеточных защитных механизмов хозяина. Ферменты, выделяемые грибами, например эластаза, также может повреждать эпителий.

Микромицеты - патогены, способные расти и размножаться при температуре тела человека, могут вызывать заболевания дыхательной системы при снижении защитных сил макроорганизма. В качестве примера можно назвать плесневые грибы из рода *Aspergillus* (*A.fumigatus*), из диморфных грибов - аспорогенные дрожжи рода *Candida* (*C.albicans*, *C. tropicalis*), *Histoplasma capsulatum*. Факторы агрессии и патогенности грибов до конца не исследованы. Среди описанных известны ферменты, например, кислая протеиназа у *C. albicans*, изучаемая теперь на генно-инженерном уровне [37], 6-фосфатдегидрогеназа, супероксиддисмутаза, фосфолипаза В и др. - у *Cryptococcus neoformans*, секретируемые клетками протеиназы у ряда условно-патогенных грибов из группы фуско(фео)гифомицетов [38]. К факторам агрессии относят и адгезию грибов-патогенов; они обеспечивают исходное прилипание клеток, например, к слизистой оболочке дыхательных путей.

Некоторые грибы - контаминанты (загрязнители) могут быть причиной аллергических заболеваний вследствие попадания значительного количества грибных спор в дыхательные пути и "готовности организма" воспринять их в качестве аллергенов. После вдыхания спор грибов можно отметить развитие различных процессов, включающих так называемое носительство, инвазию и/или аллергическое состояние. На фоне респираторной сенсibilизации людей спорами и фрагментами мицелия грибов *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. и др., опасность возникновения аллергических микозов заметно возрастает, особенно у лиц, работающих в биотехнологических производствах, основанных на использовании соответствующих микромицетов. Подсчитано, например, что в 1 м<sup>3</sup> воздуха производственных помещений может находиться до 15 млн. грибных спор. Работающие там люди за 6 часов вдыхают до 170-200 млн. клеток, что приводит к аллергическим заболеваниям. При значительной концентрации грибных клеток в воздушной среде производственных помещений у рабочих могут развиваться проявления профессиональной бронхиальной астмы. Подобные ситуации сравнительно часто наблюдают и среди лиц, занятых сельскохозяйственными работами. Так, в период проведения жатвы ведущее значение имеют грибы из родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, находящиеся на зерновых культурах. При хранении собранного зерна - представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*. Аллергические проявления со стороны органов дыхания наблюдаются у работников сыроваренных предприятий.

В других производствах, например, при добыче каменного угля, рабочие шахт постоянно имеют контакт с микромицетами, обуславливающими развитие патологических процессов в органах дыхания. Показано, что в 1 м<sup>3</sup> шахтного воздуха содержится 60 000 - 150 000 спор грибов, преимущественно из рода *Penicillium* и *Aspergillus*. В производственных условиях организм, как правило, подвержен воздействию разноразмерных частиц одного и того же продукта [36].

Изучение взаимосвязи комнатных растений и внутридомашних грибов показало, что, вопреки некоторым высказываниям, домашние растения

вызывают лишь незначительное увеличение количества спор таких грибов, как *Penicillium*, *Alternaria*. Повышение количества спор в теплицах отмечают чаще при сборе урожая, сквозняках и пр. [39].

## 5 Дифференциальная диагностика микозов при гистологическом исследовании

Резкое увеличение микотических поражений, вызываемых различными видами грибов или грибков (их называют так из-за микроскопических размеров), обуславливает необходимость совершенствования их диагностики. Особое значение приобрел в настоящее время гистологический вид исследования, позволяющий выявить наличие того или иного возбудителя и изучить ответную реакцию.

Гистологическая диагностика микозов может быть прижизненной и посмертной.

При жизни больного целенаправленное гистологическое исследование может производиться в двух случаях: 1) с целью выявления и уточнения характера микотического повреждения при уже установленном или предполагаемом диагнозе микоза на основании лабораторных данных и 2) исследование ткани, удаленной по какому-нибудь поводу, где не возникало предположения о наличии микотического поражения.

При посмертном исследовании тканей патологоанатом может встретиться с тремя возможностями: 1) Случаи, в которых клинические или лабораторные данные привели к установлению диагноза микоза до того, как больной умер. При этих условиях патологоанатом должен быть весьма осторожен и помнить о нередкой гипердиагностике микозов со стороны клиницистов. Диагностировать микоз можно только при наличии гриба в срезах ткани. 2) Случаи, в которых диагноз микоза не был установлен при жизни, хотя в истории болезни имеются указания на возможность его либо как основного заболевания, либо как осложнения основного заболевания (в качестве аутоинфекции) или предполагаемой причины смерти. 3) Случаи, в которых наличие грибов при гистологическом исследовании после вскрытия являются неожиданностью.

Опыт показывает, что немалое количество наблюдений, где патологоанатомами были диагностированы микотические поражения, падают именно на подобные случаи.

Микозы классифицируют по различным признакам: клиническим, патологоанатомическим, по локализации и глубине поражения, по контагиозности заболевания, виду возбудителя.

К первой группе относятся первичные острозаразные висцеральные микозы, вызываемые возбудителями криптококкоза, северо-американского и южно-американского бластомикозов, кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза, риноспориодиоза. Возбудители этих видов микозов несут на себе как бы вечную печать патогенности и паразитизма. Они являются облигатно патогенными и обладают характерным диморфизмом: в культурах они растут, в нитчатой (мицелиальной) форме, а во время своего паразитирования в тканях человека и животного имеют округлую или сферическую форму. Тканевая

форма грибов резко отличается от культуральной не только по структуре, но и по своей жизнедеятельности.

Вторую группу составляют кандидоз, плесневые микозы (аспергиллез, мукороз и пенициллез). Возбудители этой группы являются представителями условно-патогенной флоры. Возбудители этих микозов могут сапрофитировать на кожных покровах и слизистых оболочках и лишь при наличии соответствующей диспозиции со стороны макроорганизма они приобретают выраженные патогенные свойства. Исходя из этого эти микозы, которые ранее именовались как вторичные, стали называть в последние годы как оппортунистические. Расценивать возбудителей этих микозов как патогенное начало можно только тогда, когда в ткани обнаруживаются вегетирующие формы гриба и хотя бы слабовыраженная воспалительная реакция.

Несмотря на то, что микозы, относящиеся во второй группе, чаще всего развиваются как осложнения при других заболеваниях или их лечении, они могут быть причиной смерти больного, который без развития микотических осложнений, возможно, мог бы поправиться от основного заболевания или по крайней мере жил бы гораздо дольше. Казалось бы наиболее достоверным способом установления диагноза того или другого микоза являются методы прижизненного или посмертного выделения гриба в чистую культуру из патологического материала, что способствует более точному определению видовой принадлежности гриба в зависимости от особенностей его строения.

Выделение в чистую культуру возбудителей микозов первой группы позволяет предполагать с определенной долей достоверности о наличии заболевания.

Выделение же грибов второй группы в чистую культуру, представителей оппортунистической инфекции (кандида, плесневые грибы) еще не позволяет говорить о заболевании вызванном этими грибами, т. к. их споровые формы могут сапрофитировать на кожных покровах, слизистых желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей. Их высеивание может свидетельствовать лишь о миконосительстве (своеобразном загрязнении ткани грибом), а не об истинном заболевании.

Тканевая реакция при микотических поражениях отличается большой пестротой и не имеет отчетливо выраженных черт для каждого вида микозов. Один и тот же гриб в зависимости от своей вирулентности и изменения состояния макроорганизма может обусловить различный характер патоморфологических изменений и, наоборот, сходная тканевая реакция может наблюдаться при поражении различными патогенными грибами.

Применительно к микозам о какой-либо определенной специфичности тканевой реакции можно с уверенностью говорить только при обнаружении в ткани возбудителя. Однако, если тканевые реакции при микотических поражениях и нельзя назвать специфическими, то их с полным правом можно обозначить как инфекционные гранулемы. Гистологические исследования биоптического, секционного и экспериментального материала показывают, что в ранние сроки паразитирования почти все патогенные грибы вызывают

воспалительную гиперемию, сменяющуюся серозно-фибринозной, а затем лейкоцитарной экссудацией, которая замедляет рост паразитирующих грибов и является одним из выражений защитной реакции организма. Большую роль играет система мононуклеарных фагоцитов и лимфоциты, которые обнаруживаются обычно в пораженных тканях спустя некоторое время после внедрения патогенных грибов.

Мукороз — глубокий хронический микоз, характеризующийся помимо поверхностных поражений, изменениями в органах дыхания и, благодаря частому прорастанию в сосуды, имеющий склонность к генерализации процесса. Гифы (нити) гриба обнаруживаются в ткани неравномерной толщины от 3 до 20 мкм. Угол разветвления нитей различен, но чаще тупой. Нити мицелия несептированные, с двуконтурной оболочкой и крупнозернистой цитоплазмой. Скопления мицелия образуют причудливой формы беспорядочные скопления. Нити мукорозных грибов окрашиваются гематоксилин-эозином нечетко. Лучше всего они выявляются при окраске по Гомори-Грокотту. При мукорозе очень редко наблюдается выраженная воспалительная реакция. Воспаление проявляется в слабой лейкоцитарной и лимфоцитарной инфильтрации со значительным содержанием эозинофилов, превалированием некротических изменений и крайне низким абсцедированием. Висцеральные формы мукороза довольно быстро заканчиваются летальным исходом. Поэтому лишь в единичных наблюдениях описано развитие грануляционной ткани, богатой гистиоцитами и гигантскими клетками типа инородных тел. Постоянно сопровождающие мукороз некрозы и инфаркты тканей зависят, по-видимому, от нарушения в них кровообращения за счет микотических тромбозов сосудов, связанных с прорастанием грибов и развитием тромбангитов. Нарастающий восходящий тромбоз в артериях легких достигает основного ствола легочной артерии, что ведет к распространению тромбов и генерализации процесса. Восходящие тромбозы сосудов глазницы и придаточных полостей носа способствуют переходу процесса на ткань мозга, где образуются множественные некрозы и кровоизлияния.

Дифференциальная диагностика наиболее часто встречающихся в тканях грибов в нитчатой форме, вызывающих вторичные, оппортунистические микозы, должна основываться при гистологическом исследовании на морфологических особенностях грибов и их тинкториальных (свойства бактерий, грибов и простейших, характеризующие их способность вступать в реакцию с красителями и окрашиваться определенным образом) свойствах. Особенности ширины и роста нитей в тканях кандиды, аспергиллы и мукора, характер их разветвления, наличие и отсутствие перегородок (членистости) в нитях, отношение к сосудам и красящие свойства позволяют определенно говорить о принадлежности гриба и ставить правильный диагноз на основании гистологического исследования.

В заключение необходимо подчеркнуть, что дифференциальная диагностика микозов при гистологическом исследовании имеет огромное значение. Только правильное представление о характере изменений в тканях и

о морфологии паразитирующего гриба может обусловить успех в правильной своевременной диагностике микотических поражений и разработке их рационального лечения [40].

## 6 Объекты и методы

Объектами исследования являлись белые беспородные крысы. Было сформировано четыре группы животных. В каждую группу входило по пять самцов одного возраста, полученные нами от трех самок и одного самца. Таким образом, полученное потомство имело сходный генотип (Рисунок 4, 5). Остальные параметры и уход были одинаковы для всех четырех экспериментальных групп животных.



Рисунок 4 – Животные контрольной группы

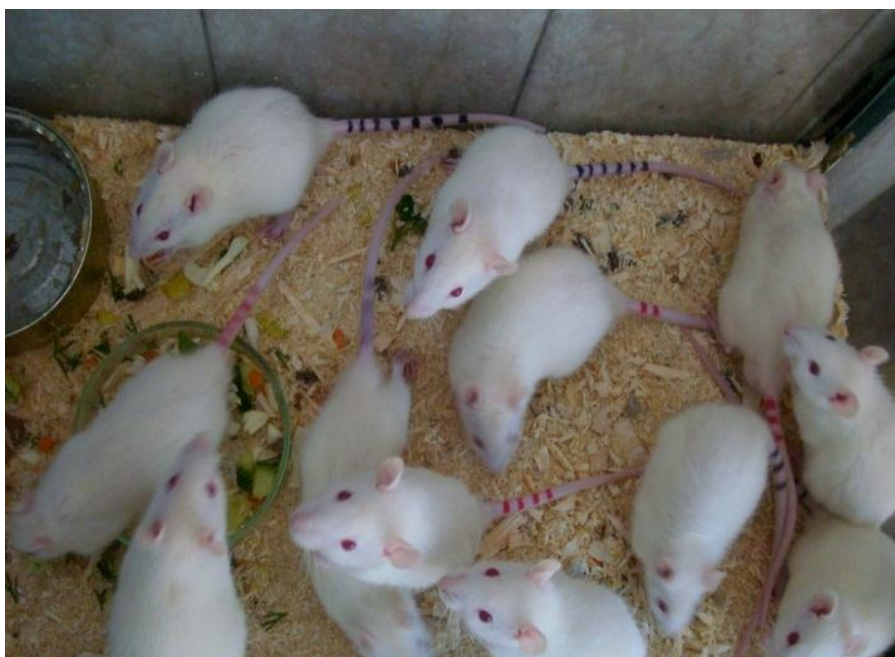


Рисунок 5 - Животные опытных групп А - антибиотик (с отметками синего цвета на хвосте) и В - витамин (красные отметки на хвостах) в момент кормления

В качестве микогенной биоты использовался споровый материал *Cytospora Chrysosperma* (Pers), собранный в городе Павлодар, с больных деревьев рода *Populus* (Тополь). Выбор данного вида спор обоснован тем, что заболевание цитоспорозом является доминирующим в насаждениях березы (Рисунок 6), тополя (Рисунок 7), ивы и многих плодовых пород деревьев [2].



Рисунок 6 – Пораженное дерево березы грибом *Cytospora Chrysosperma*



Рисунок 7 – Пораженное дерево тополя грибом *Cytospora Chrysosperma*

Фактором снижения резистентности организма являлся прием антибиотиков и витаминов, т.к. антибиотики являются антагонистами грибов и могут существенно влиять на состав кишечной микрофлоры, что нарушает нормальное течение физиологических процессов. В частности, ампициллин в значительной степени подавляет рост как аэробной, так и анаэробной микрофлоры. Ампициллин является основным антибиотиком, который широко применяется в практике лечения [41]. Именно поэтому в качестве антибиотика в эксперименте использовался ампициллин.

Витамины относятся к наиболее часто используемым препаратам для профилактики инфекционных заболеваний. Однако переизбыток витаминов порой может оказаться гораздо более опасным, чем их недостаточное употребление [42]. Выбор витамина для эксперимента пал на «Ревит», в состав которого входит жирорастворимый витамин А. По последним исследованиям [42], известно, что жирорастворимые витамины способны накапливаться в тканях. При передозировки витамины А и Д проявляют токсичность.

В работе использовали биологический, культуральный и гистологический методы. Исследования проводили по стандартным методикам.

Эксперимент по изучению влияния антибиотиков и витаминов на животный организм при биологическом загрязнении среды длился в течении 18 месяцев и был завершен в 2011 году.

На первом этапе опрыскивали опытных крыс раствором спор *Cytospora Chrysosperma* (Pers), имитируя эффект дождя и добавляли в пищу. Для растворения использовали споры *Cytospora Chrysosperma* из расчета 1 мг. / 5

мл. воды. При пересчете на камере Горяева выяснили, что в 1 мг навески содержится  $3 \times 10^8$  сухих спор. Примерное такое же количество спор мы получаем с одной каплей дождя, проходя мимо зараженных деревьев. Параллельно две опытные группы (А и В) крыс, помимо спор, получали повышенные дозы антибиотиков (ампициллин) (А) и поливитаминов (ревит) (В), третья группа (С) подопытных крыс обрабатывалась только спорами грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers), четвертая группа (К) оставалась контрольной. Опрыскивание опытных крыс начали в возрасте 30 дней, производили регулярно один раз в день с концентрацией от  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл [43].

Затем, в результате вскрытия из внутренних частей всех органов, извлеченных из опытных и контрольных животных, при помощи стерильных палочек делали посев на питательную среду Сабуро. Питательную среду готовили с добавлением антибиотиков по общепринятой методике для подавления бактериальной микрофлоры. После экспозиции в термостате изучались характер границ колонии, размер, характер поверхности по рельефу, наличие антагонизма, особенность роста, структуру, цвет (пигментация) воздушной и субстратной части колоний, окрашивание питательной среды, интенсивность спорообразования. Параллельно для сравнения морфологии мицелия и стромы производили посев спор грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers) на питательную среду.

Далее бактериологической петлей делали пересев и затем из него готовили препараты мицелия грибов по стандартной методике. Для идентификации мицелия.

Исследования микрофлоры желудка животных, которые получали повышенные дозы поливитаминов (ревит) и антибиотиков (ампициллин) на фоне биологического загрязнения спорами грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers) проводили для того, чтобы выявить являются ли доминирующими грибы *Cytospora Chrysosperma*.

Для идентификации природы этих грибов и проводили сравнительный анализ с фоновыми грибами (*Cytospora Chrysosperma*). Для сравнения морфологии мицелия и стромы параллельно производили посев спор грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers) на питательную среду Сабуро. Затем готовили препараты по стандартным методикам, сделали большой архив фотоматериалов, где объекты на разных стадиях развития колоний и производили общий анализ.

Гистологическое исследование проводилось в КГКП «Павлодарский областной перинатальный центр», отделение патологической анатомии. Были изучены органы всех четырех групп животных: лёгкие, тонкий и толстый кишечник, надпочечники, селезёнка, сердце, почки, печень.

Материал был залит 10 % раствором формалина. Выполнение гистологических препаратов проводилось в течение 4 суток.

Техника гистологической проводки включает в себя следующие этапы: фиксация материала, промывка, дегидратация, парафинизация, формирование

гистологических блоков, приготовление гистологических срезов, депарафинизация стекол и окраска препаратов, фиксация срезов.

1. Фиксация. Марлевая салфетка с кусочком завязывается ниткой длиной 40см. на узел и погружается для фиксации в 10% р-р формалина на 16-48 часов. Дальнейшее пребывание в формалине нежелательно, так как при более длительном пребывании материала в формалине в готовом препарате могут образовываться артефакты. Фиксация имеет цель закрепления ткани в том состоянии, в каком она находится в данный момент погружения в фиксатор и предохраняет ее от дальнейшего разрушения. Объем фиксирующей жидкости должен в 20-40 раз превосходить объем всех вместе взятых фиксируемых кусочков. Если фиксирующая жидкость после погружения кусочков мутнеет или изменяет свой цвет, то ее следует сменить. Фиксирующие средства, в зависимости от того, входит ли в их состав одно или несколько веществ, делятся на простые и сложные средства. Нами были использованы простые фиксирующие средства: формалин, этиловый спирт, сулема, ацетон. Фиксация проводилась при комнатной температуре.

2. Промывка. После фиксации материал промывался под проточной водой 1-3 часа.

3. Дегидратация (обезвоживание) может быть автоматической или ручной. Нами использовалась ручная, когда вязка материала проводится через ряд спиртов возрастающей концентрации от 500 до 96,40 ( по «батарее»). Кусочки материала рыхло помещаются в корзинку, корзинка помещается в стакан. В данном патологоанатомическом отделении процесс дегидратации проводится вручную по следующей схеме:

- 1 стакан – 50% на 2 часа;
- 2 стакан – 60% на 2 часа;
- 3 стакан – 70% на 2 часа;
- 4 стакан – 80% на 3 часа;
- 5 стакан – 96% на 10-12 часов;
- 6 стакан – ацетон на 1 час;
- 7 стакан – толуол на 1 час.

4. Парафинизация. После дегидратации в 8 часов утра следующего дня перекладываем материал в расплавленный парафин 58-600 на 30 минут, затем во вторую порцию парафина на 1 час. Этим достигается парафинизация кусочков.

Подготовка парафина. В патологоанатомической технике следует пользоваться аморфными сортами парафина, поэтому, если приходится работать с кристаллическими, то их необходимо перед употреблением гомогенизировать, т.е. придать аморфность и пластичность посредством повторного сильного нагревания (на водяной бане, в кипящей воде) и быстрого охлаждения в снегу или в холодной воде. Гомогенность парафина является весьма важным в техническом качестве, от которого зависит толщина срезов.

5. Формирование гистологических БЛОКОВ (Заливка) – пропарафиненный кусочек со своим номером помещали в чашку Петри и заливали очищенным

расплавленным парафином с добавлением воска для эластичности. Затем парафин и залитый в нем кусочек застывает и после этого он вырезается и насаживается на промаркированный таким же номером деревянный блок.

6. Приготовление гистологических срезов (Резка) – блок помещается в зажим санного микротомы, и срезаются тончайшие срезы (при необходимости серийные) в емкость с горячей водой, находящуюся на темном поле. Срезы делаются микротомными ножами повышенной остроты. Фиксация срезов на предметное стекло выполнялась двумя острыми загнутыми иглами, которые позволяют зафиксировать тонкий (3-5 микрона толщиной) расплавленный срез на подготовленное предметное стекло. Стекло предварительно обезжиривается в смеси Никифорова и натирается смесью глицерина с белком. Стекло маркировалось таким же номером, что и деревянный блок. Стекла со срезами подсушивались 2-3 часа в термостате при 370°.

7. Депарафинизация среза на стекле и окраска препаратов. Депарафинизация – окончательное удаление парафина из среза, зафиксированного на предметном стекле. Стеклопрепарат помещается в стакан с ксилолом на 5 минут. Окраска осуществлялась классически двумя красителями:

Гематоксилин – основной базофильный краситель, темно-фиолетового цвета, без запаха, он прокрашивает ядра клеток и оболочку.

Эозин – краситель ядовито-розового цвета. Он окрашивает цитоплазму и различные включения в ней.

Готовый гистологический препарат имел нежный розово-фиолетовый цвет.

Методика окраски:

1. Наливают на мазок карбол-фуксин Циля (окрашивают через фильтровальную бумагу) и подогревают над пламенем спиртовки до появления паров. Эту температуру поддерживают в течение 1-2 минут, не доводя до кипения.

2. Сливают краску, удаляют фильтровальную бумагу и основательно промывают в водопроводной воде.

3. Дифференцируют 1 % - ным солянокислым спиртом ( на 70\* спирте) до тех пор, пока мазок не примет бледно-розовый или бледно-фиолетовый тон, примерно 30-60 секунд.

4. Промывают в воде 15-30 и более секунд.

5. Докрашивают метиленовым синим Лёфлера 15-30 секунд.

6. Основательно споласкивают в воде и высушивают фильтровальной бумагой.

8. Фиксация среза. Окрашенный и высушенный срез заключили покровным стеклом на специальном фиксирующем бальзаме.

В течении гистологического исследования в ГКПЦ «ПОПЦ», отделение патологической анатомии было выполнено 29 гистологических препаратов органов четырех групп животных: лёгкие, тонкий и толстый кишечник, надпочечники, селезёнка, сердце, почки, печень.

Изучение гистологических объектов производилось при помощи метода световая микроскопия, при которой применяют световые микроскопы с использованием источников света (естественный или искусственный).

Описание гистологических препаратов происходило по следующему алгоритму:

1. Тип препарата.
2. Название препарата.
3. Окраску или другой метод контрастирования препарата.
4. Микроанатомическое описание основных структур органа на препарате.
5. Тканевой состав органа и его основных частей.
6. Детальное описание гистологических и цитологических структур, их функции и происхождение.

## 7 Обсуждение результатов

В настоящее время известно около 350 видов грибов, способных вызывать аллергию. Ранее не учитывалось то обстоятельство, что аллергены действуют на человека не изолированно, а в сочетании с целым рядом физико-химических факторов [44]. Так как в городских насаждениях продолжается, развитие патогенных грибов. Споровая инфекция накапливается на поврежденных деревьях и распространяется в окружающую среду ветром, водой и насекомыми. Споры грибов рода *Cytospora* способны долго сохранять свою жизнеспособность легко прорасти в различных средах. Поэтому особенно актуально дать биоэкологическую оценку значения грибов - паразитов древесных пород на животный организм.

В результате эксперимента, отмечено изреживание густоты шерсти на спинках опытных животных, принимавших антибиотики (Рисунок 8), пожелтение шерсти в отличие от контрольных крыс (Рисунок 9, 10).



Рисунок 8 – Четко выражено изреживание шерсти на спинке в опытной группе Антибиотик



Рисунок 9 – Пожелтение шерсти в опытной группе Витамин



Рисунок 10 – белая чистая шерсть в контрольной группе

Взвешивания контрольных и опытных групп крыс в возрасте 60 дней не показало разницу в весе групп антибиотиков и контроля. В течении всего

эксперимента у животных группы А наблюдалось более крупное тело, с большим слоем подкожного жира, чем в группе В, К или С.

Для изучения изменений внутренних органов белых беспородных крыс, на фоне антибиотиков и витаминов при биологическом загрязнении среды спорами грибов было произведено вскрытие подопытных животных групп А, В, С, К.

Вскрытие животных проводили в 2 этапа с интервалом (30 дней) между вскрытиями. Между вскрытиями антибиотики и витамины опытным животным не давали, для того, чтобы выявить способность к реабилитации после гипervитаминоза и передозировки антибиотиков

Особых патологий во время вскрытия контрольных крыс не выявлено. Полученные результаты были приняты за эталон для сравнения с опытными образцами (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Контроль. Внутренние органы без патологий, ожирение отсутствует.

Во время вскрытия животных из опытной группы А, получавших дозы антибиотиков и спор, также отмечено внутреннее капиллярное кровотечение в некоторых тканях. Отмечено увеличение размеров этих органов (желудка в два раза, диаметр верхнего отдела кишечника в три-четыре раза в сравнение с контрольной крысой). Также выявлено фрагментарное вздутие других отделов кишечника в результате дисбактериоза. Отмечено увеличение печени, высокая степень ожирения внутренних органов, резкий специфический запах антибиотиков (Рисунок 12, 13).

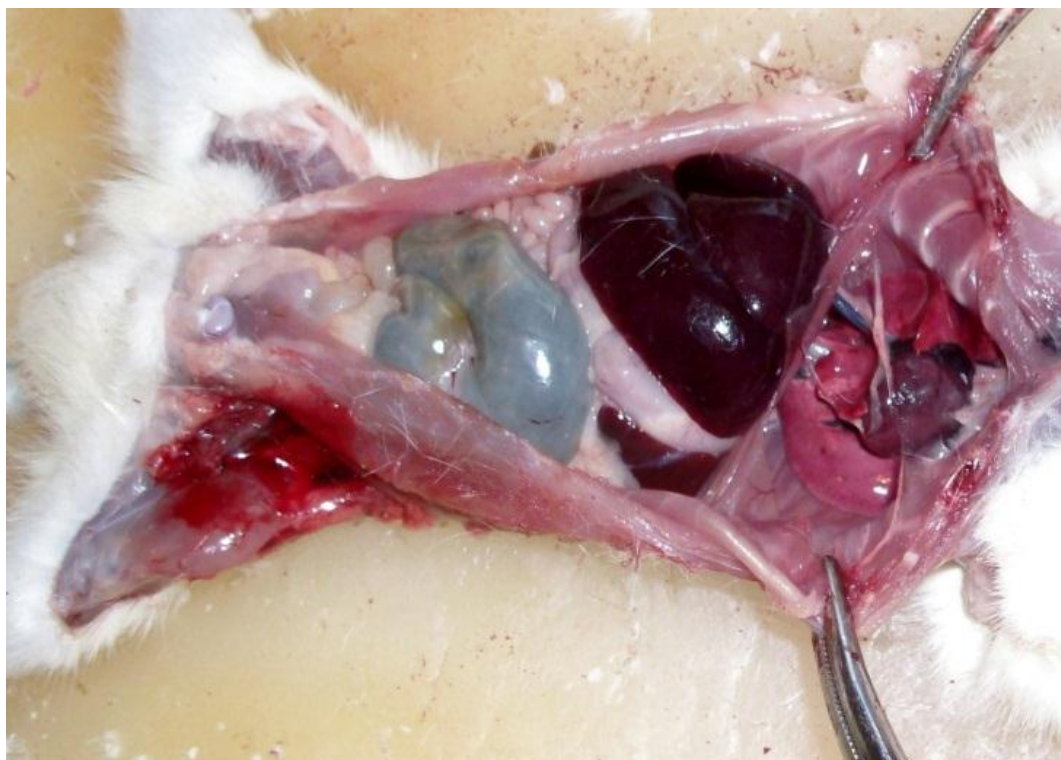


Рисунок 12 – Вскрытие 1. Антибиотик, 1 повторность после 40 дней приема антибиотиков

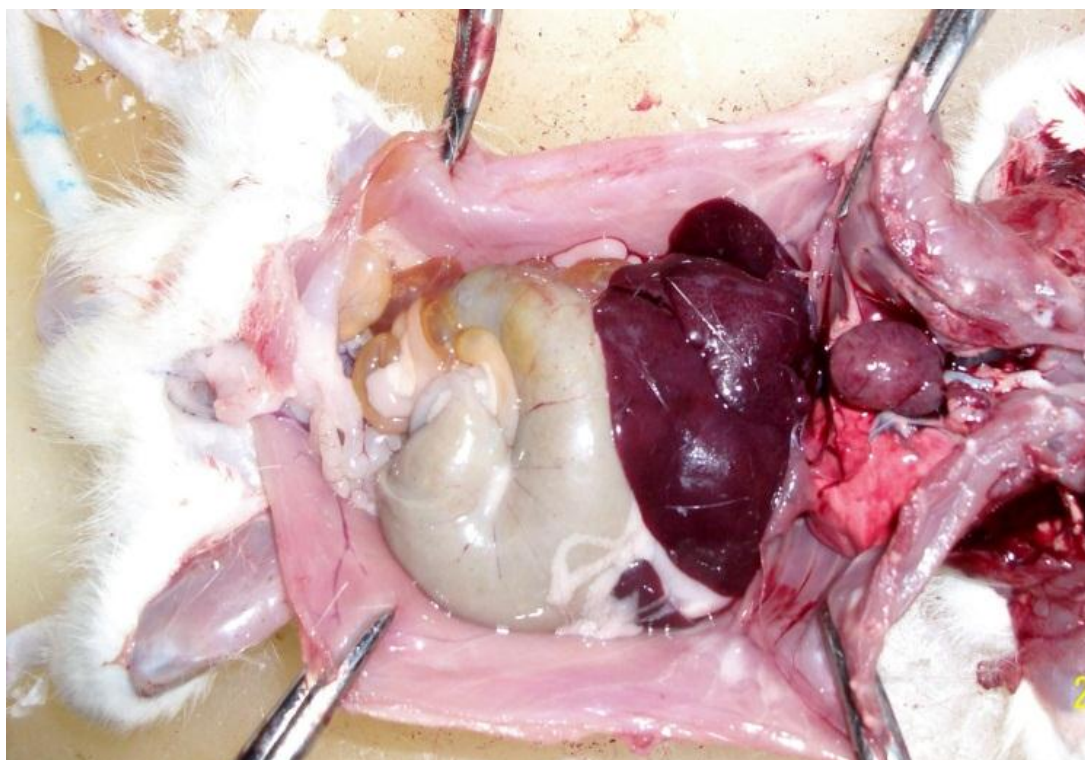


Рисунок 13 – Вскрытие 1. Антибиотик, 2 повторность

При вскрытии животных группы В отмечен запах витаминов, цвет мускулатуры темнее, чем у контрольных крыс. В желудке обнаружено желтое

образование. Сердце, печень и почки увеличены. Желудок также полный, увеличенный (Рисунок 14, 15).

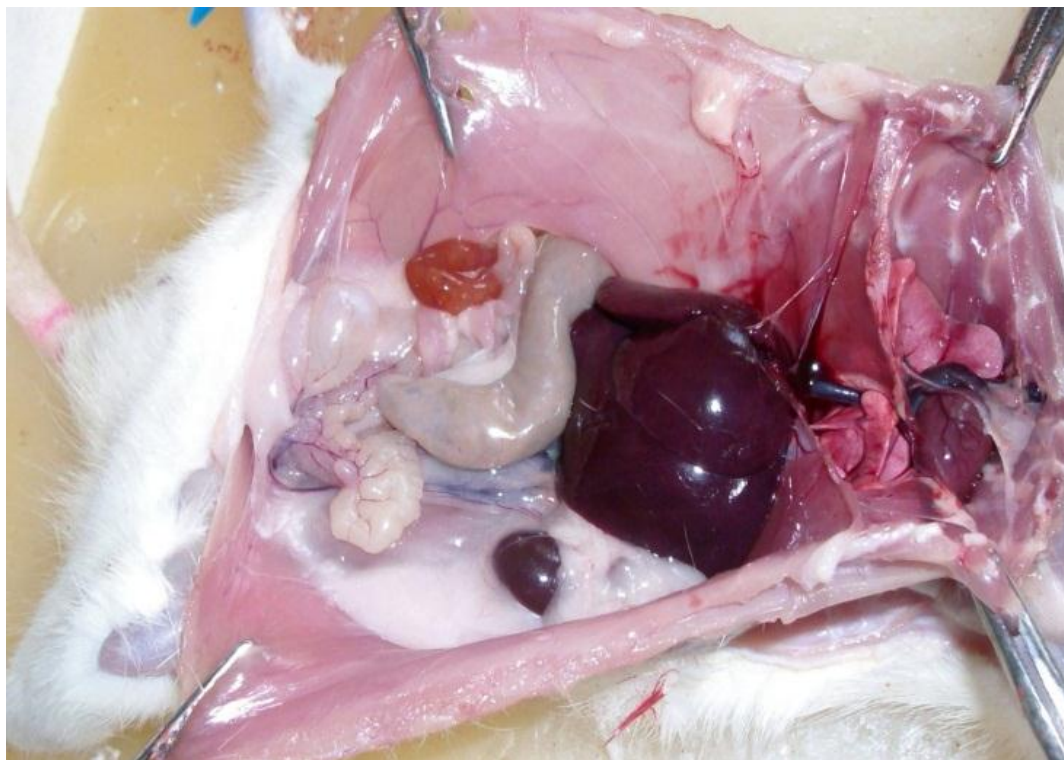


Рисунок 14 – Вскрытие. Витамин, 1 повторность

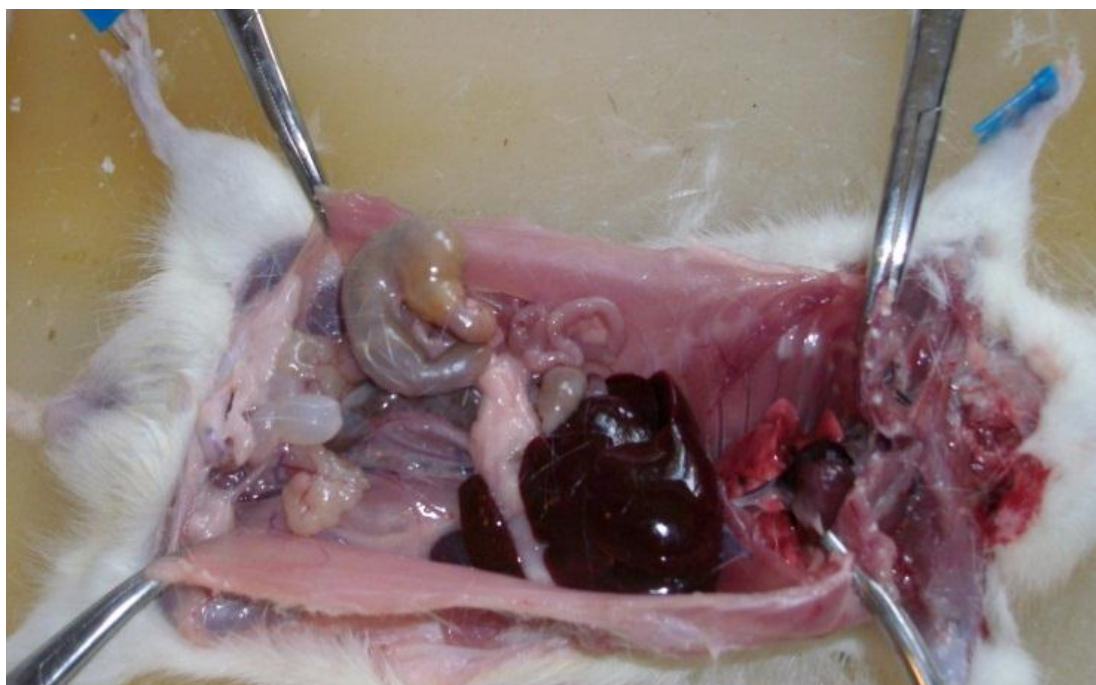


Рисунок 15 – Вскрытие. Витамин, 2 повторность

Для идентификации природы колоний, полученных в результате посева с органов вскрытых животных из контрольной и опытных групп, проводили сравнительный анализ с фоновыми грибами (*Cytospora Chrysosperma*).

Для этого, в результате вскрытия из внутренних частей всех органов, извлеченных из опытных и контрольных животных, при помощи стерильных палочек были выполнены посевы на питательную среду Сабуро.

При посеве бактериологической петлей содержимого желудка животных из 2-х опытных групп (Антибиотики, Витамины) и контроля выросли колонии, причем как у витамин так и у контроля выросли разные колонии у витамин 8 видов, у контроля 5 видов (Рисунок 16). Характер колонии в чашке с антибиотиками был абсолютно однороден. Эти факты говорят о том, что в желудке контрольных и витаминных крыс развивалась нормально разнообразная микрофлора.

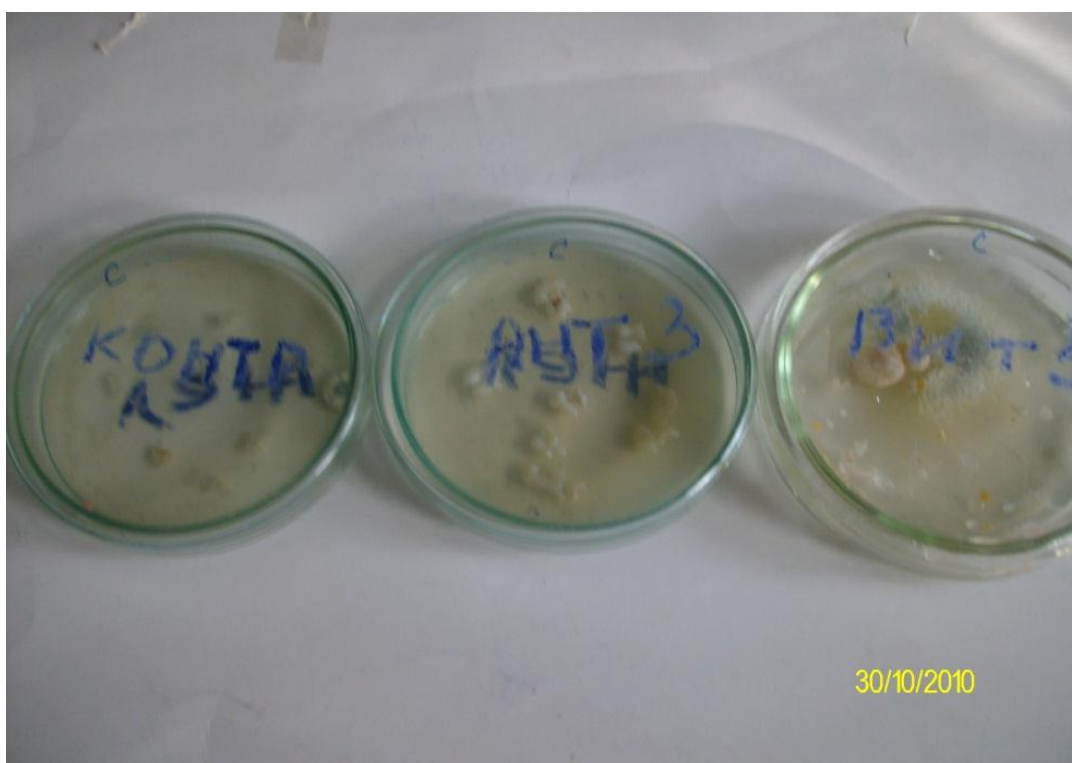


Рисунок 16 - Колонии грибов посева из желудков на питательной среде Сабуро.  
Слева на право - контроль, антибиотик (крыса № 3), витамин (крыса № 3)

Наиболее достоверным способом установления диагноза того или другого микоза являются методы выделения гриба в чистую культуру из патологического материала, что способствует более точному определению видовой принадлежности гриба в зависимости от особенностей его строения. Однородные колонии из желудка Антибиотиков убедительно доказывают доминирование одного вида.

После сравнения с культуральной колонией, выросшей после посева в чашках Петри, рода *Cytospora*, выяснилось доминирование грибов, которых мы идентифицировали как *Cytospora* (Рисунок 17, 18).



Рисунок 17 - Колонии грибов на питательной среде Сабуро. Слева – посев из желудка, животного группы А, справа – грибы *Cytospora Chrysosperma* (Pers). Глубинный посев.



Рисунок 18 - Поверхностный посев мицелия из колонии, полученной из желудка крысы № 4 группы А

В результате приготовления препаратов мицелия грибов по стандартной методике, полученных из посевов взятых из органов подопытной группы, принимавших Антибиотик подтвердили доминирование грибов *Cytospora Chrysosperma* в желудке подопытных крыс группы А (Рисунок 19, 20).



Рисунок 19 - Общий план ветвления мицелия *Cytospora Chrysosperma* x600, полученного культуральным методом



Рисунок 20 - Характерный рисунок мицелия *Cytospora Chrysosperma* (Pers) х600, полученного из органов подопытной группы, принимавших Антибиотик

Выявлено, что грибы рода *Cytospora Chrysosperma* не оказывают быстрого влияния на живой организм на микробиологическом уровне, возможно, это связано с температурой организма и иммунитета, который справляется с этой инфекцией. Полагаем, что споры гриба не токсичны для здоровых животных. Устойчивость организма к патогенным грибам обеспечивается действием специфического иммунитета и неспецифических механизмов защиты.

Однако, сочетая действия микологического влияния и факторов снижения резистентности, таких как прием повышенных доз антибиотиков, можно говорить о вредном воздействии микогенной среды на животный организм, что выражается в нарушении микрофлоры, и как следствие, доминирование грибов *Cytospora Chrysosperma* в желудке подопытных крыс группы, принимавшей дозы антибиотиков.

Чтобы проверить данные результаты, было выполнено **гистологическое исследование** по изучению влиянию *Cytospora Chrysosperma* на фоне длительного приема антибиотиков и витаминов на животный организм.

Были изучены тонкий и толстый кишечник, печень четырех групп животных.

Диагноз можно считать установленным только в том случае, если в гистологических препаратах обнаруживают элементы грибов. Для этого используют различные гистологические окраски. Окраска осуществлялась классически двумя красителями: гематоксилин, эозин. Готовые гистологические препараты имеют нежный розово-фиолетовый цвет.

Грибы в эпидермисе, даже при использовании специальных окрасок, выявляются в небольшом количестве в виде нитей мицелия и спор. В случаях, когда грибов в очагах поражения много, их можно обнаружить в срезах, окрашенных гематоксилин-эозином, в виде нежных базофильных структур в роговом слое. Гистологическое исследование демонстрирует инвазию мицелия или псевдомицелия гриба в глубь ткани желудочно – кишечного тракта [11].

При гистологическом изучении, биопсированный материал, полученный из кишечника контрольной крысы имел равномерную окраску препарата. Все структуры хорошо определяются (Рисунок 21).

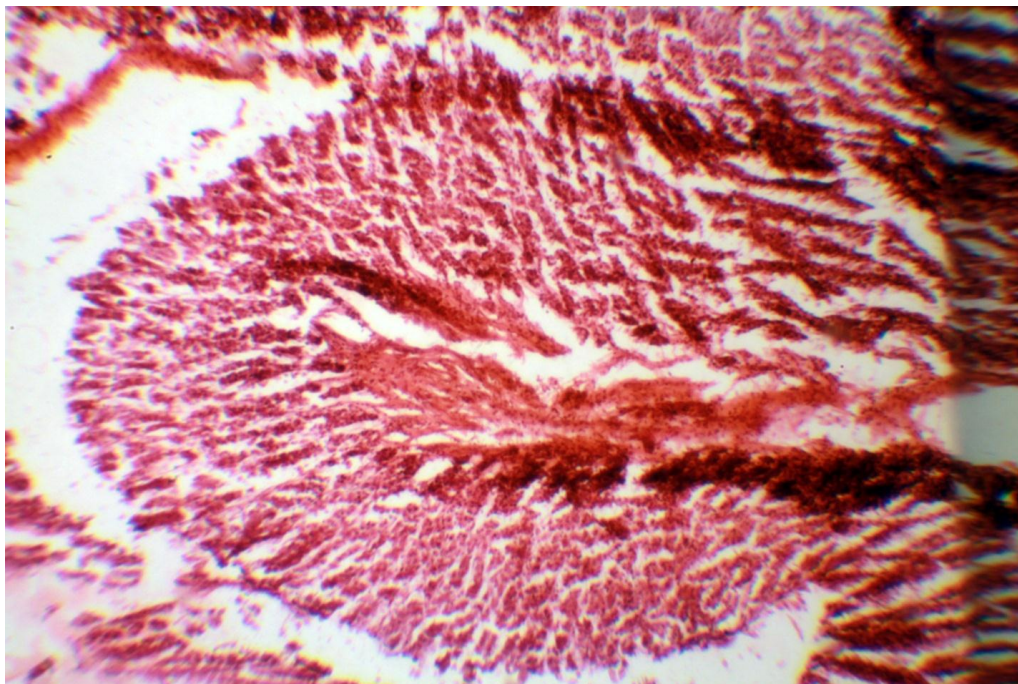


Рисунок 21 - Участок кишечного эпителия крысы. Контроль, х 60.

Изучая кишечный эпителий крысы, принимавший антибиотик, заметили некоторые особенности (Рисунок 22, 23). Структура ткани неоднородная. Элементы эпителия дифференцируется плохо. Окраска не специфичная, местами на препаратах в центральной части микроворсинок встречаются конгломераты интенсивно окрашенные гематоксилином. В базальной части микроворсинок более интенсивно базофильное окрашивание. Базальная мембрана эпителия и подстилающая её соединительная ткань хорошо дифференцируются, цитоплазма равномерно окрашена эозином, хорошо видны ядра клеток. В базальной части микроворсинок более интенсивно базофильное окрашивание. Наблюдается дисконфлексация балок (дольки печени), зернистая дистрофия гепатоцитов, в области триад скудная лимфогистоцитарная инфильтрация, полнокровие синусоидов. В более крупном увеличении заметно ветвление, зеленого цвета, прорастающее в ткань органа.

При сравнении с рисунком 21 (контроль) четко определяются изменения апикальной части эпителия, причем базальная часть в меньшей мере подвержена изменениям. Повышенная базофилия цитоплазмы микроворсинок может свидетельствовать о физиологической активности этих структур, в данном случае усилении барьерных функций эпителия. Вместе с тем, образование базофильных конгломератов может быть результатом захвата и лизиса внешних агентов.

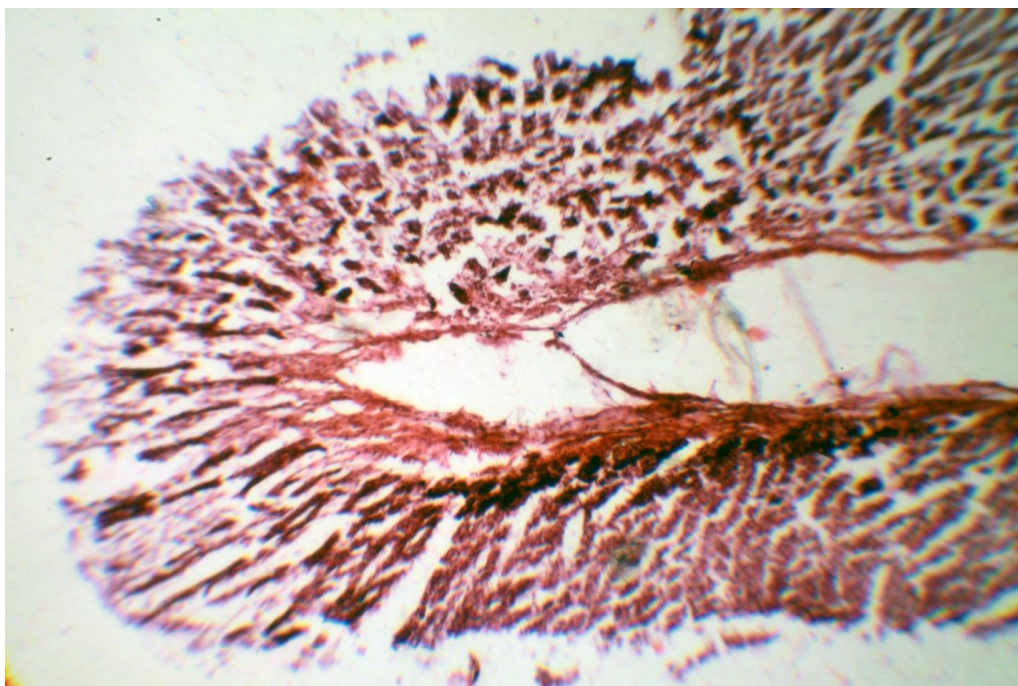


Рисунок 22 - Участок кишечного эпителия крысы под действием антибиотика  
Ампициллин 0.1 - 0.2 мл в сутки/кг, х 60

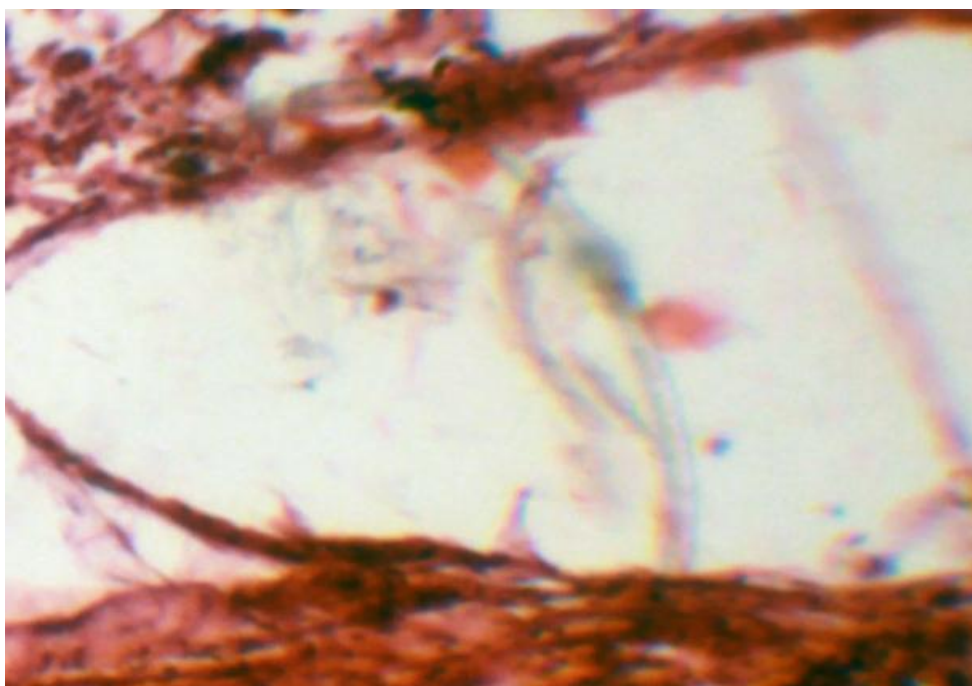


Рисунок 23 - Участок кишечного эпителия крысы под действием антибиотика  
Ампициллин 0.1 - 0.2 мл в сутки/кг, х 600

Структура ткани участка кишечника крысы, принимавшей только споры, неоднородная (Рисунок 24). Элементы эпителия дифференцируется плохо. Окраска не специфичная, местами на препаратах в центральной части микроворсинок встречаются конгломераты интенсивно окрашенные гематоксилином. Наблюдается отёк слизистого, подслизистого слоёв,

десквамация поверхностного слоя эпителия слизистой оболочки, полнокровие капилляров.

Также как и обнаружено на препарате кишечника группы Антибиотик (Рисунок 23) обнаружено включение (Рисунок 25, 26), не характерное для кишечника здорового животного.

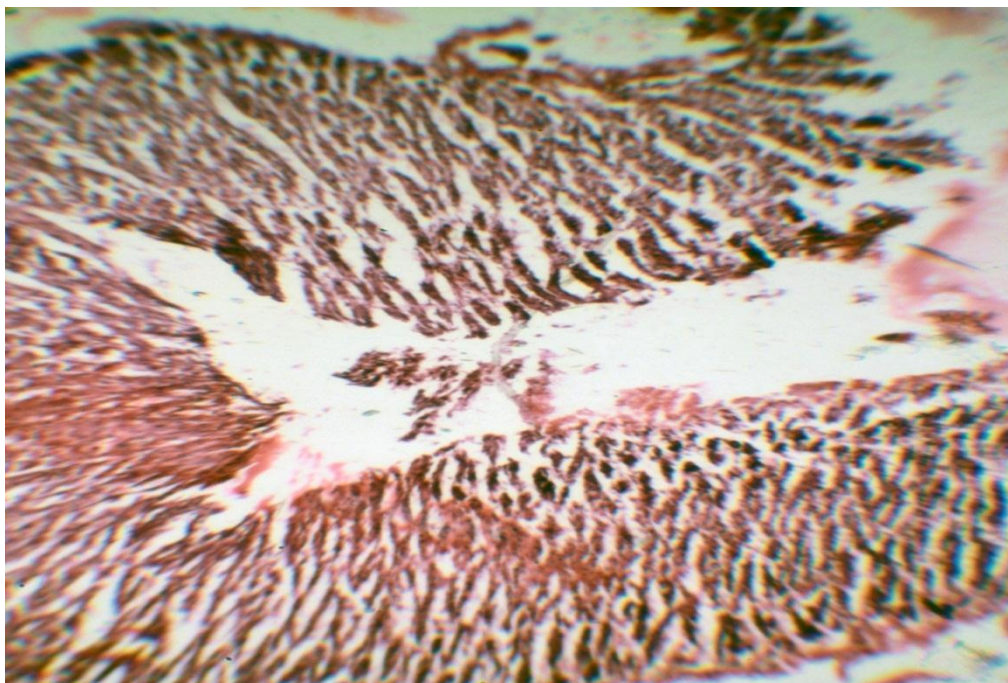


Рисунок 24 – Участок кишечного эпителия крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma* в  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 600

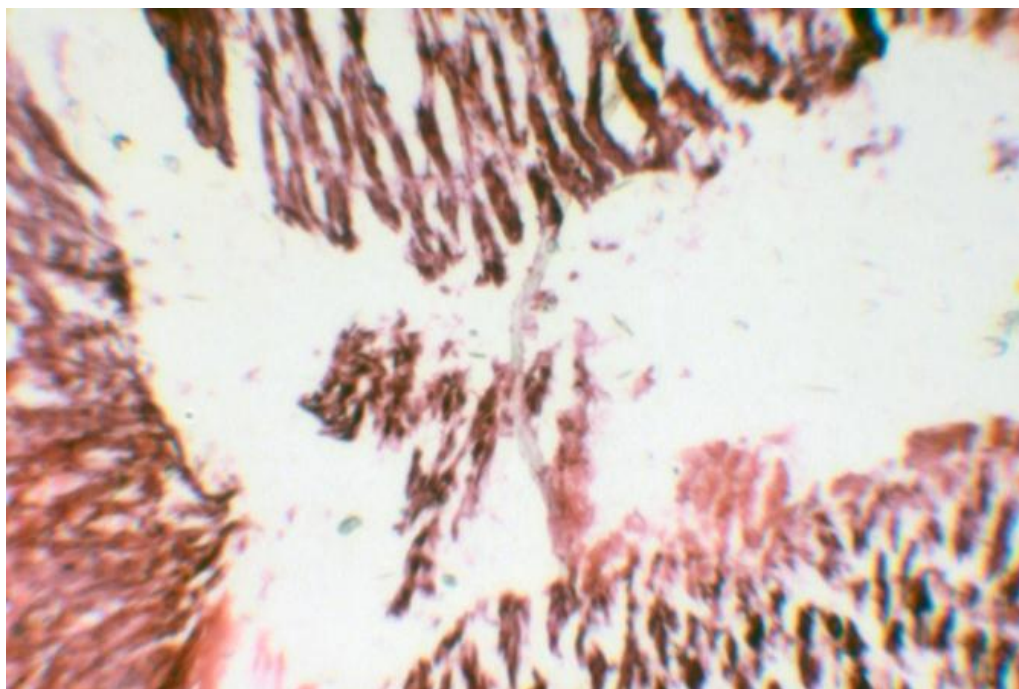


Рисунок 25 – Участок кишечного эпителия крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma* в  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 600



Рисунок 26 – Участок эпителия тонкого кишечника крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma* в  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 600

Кишечник, животных принимавших Витамины «Ревит» отклонений не наблюдалось. Окраска препарата равномерная. Все структуры хорошо определяются (Рисунок 27, 28).

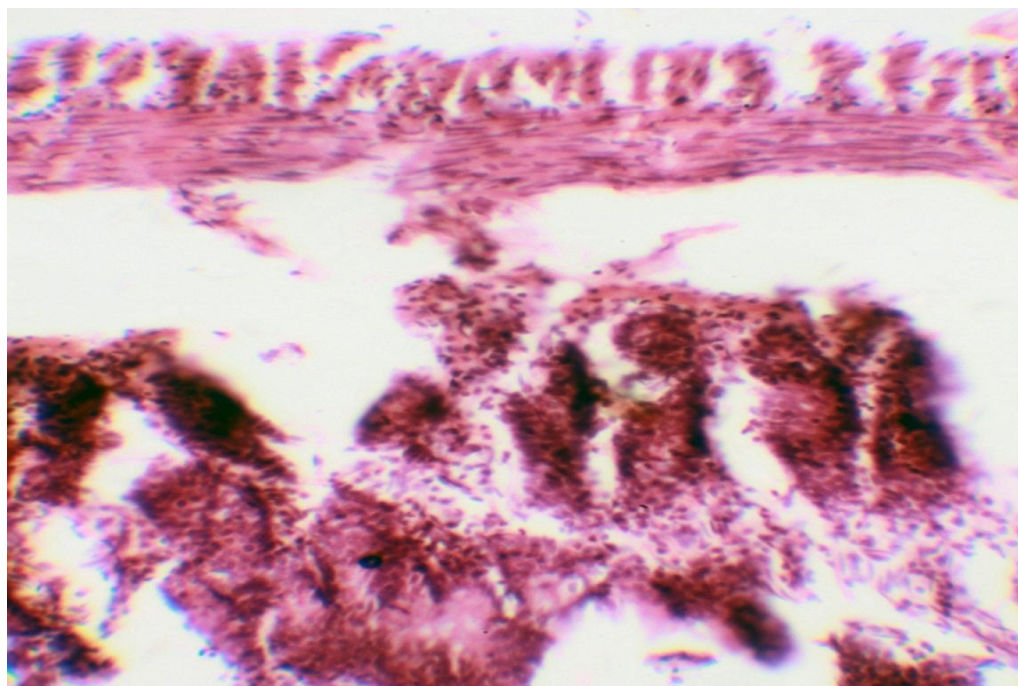


Рисунок 27 – Участок кишечного эпителия крысы под действием витамина «Ревит», х 60

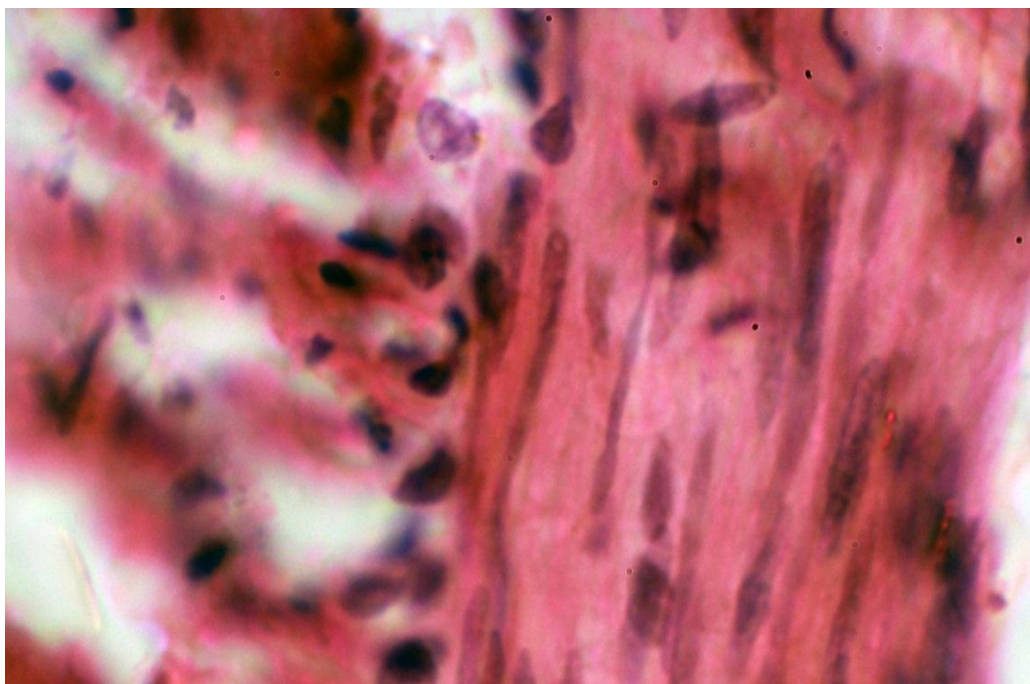


Рисунок 28 – Участок стенки кишечного эпителия под действием витамина «Ревит», х 600

У животные контрольной группы наблюдается равномерная окраска препарата. Все структуры хорошо определяются (Рисунок 29).

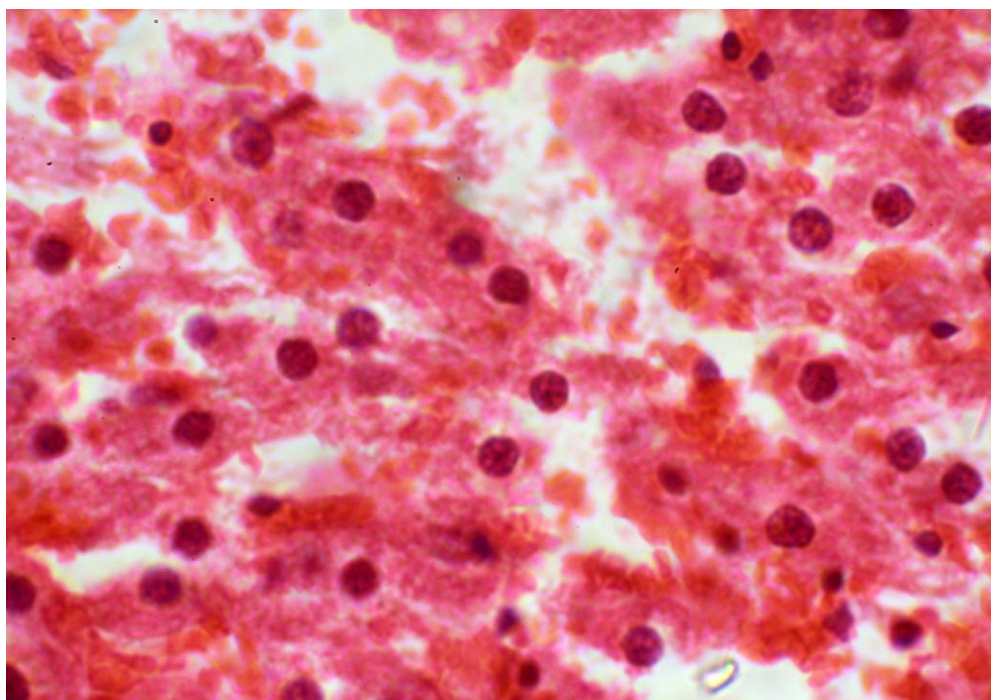


Рисунок 29 – Паренхима печени крысы х600. Контроль

У подопытных, принимавших повышенные дозы антибиотика «Ампициллин» наблюдалось в печени дискомплексация балок (дольки печени), зернистая

дистрофия гепатоцитов, в области триад скудная лимфогистоцитарная инфильтрация, полнокровие синусоидов (Рисунок 30).

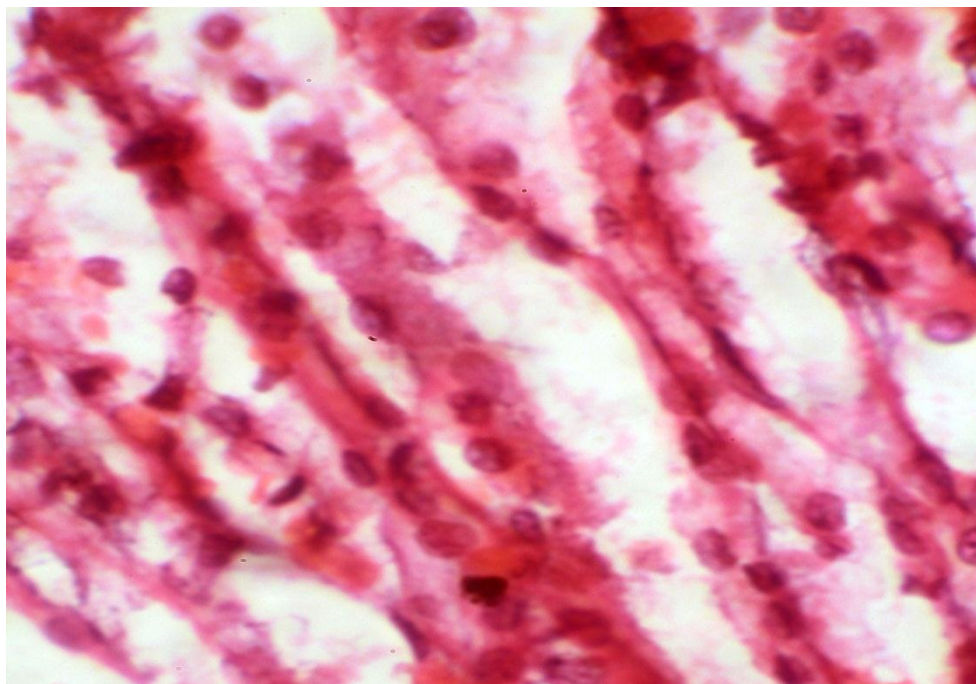


Рисунок 30 – Паренхима печени крысы под действием антибиотика Ампициллин 0.1 - 0.2 мл в сутки/кг, х600

После изучения препарата, полученного из печени животных, подверженных действию спор *Cytospora Chrysosperma* обнаружилась дисконфлексация балок, зернистая дистрофия гепатоцитов, синусоиды расширены, полнокровны (Рисунок 32). Наблюдалось нехарактерное септированное образование (Рисунок 33, 34, 35, 36).

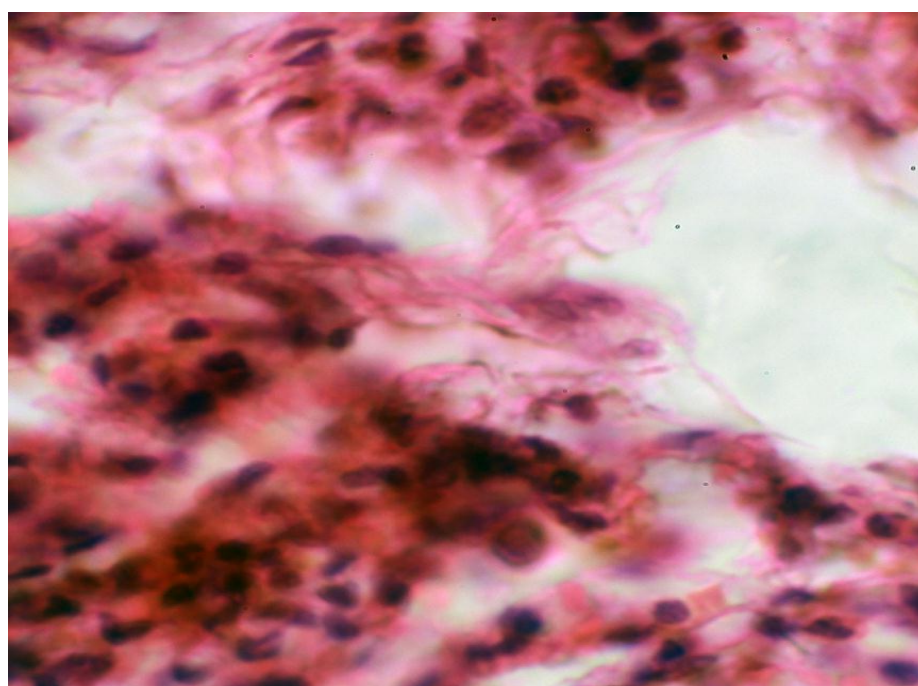


Рисунок 32 – Паренхима печени крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma*  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 600

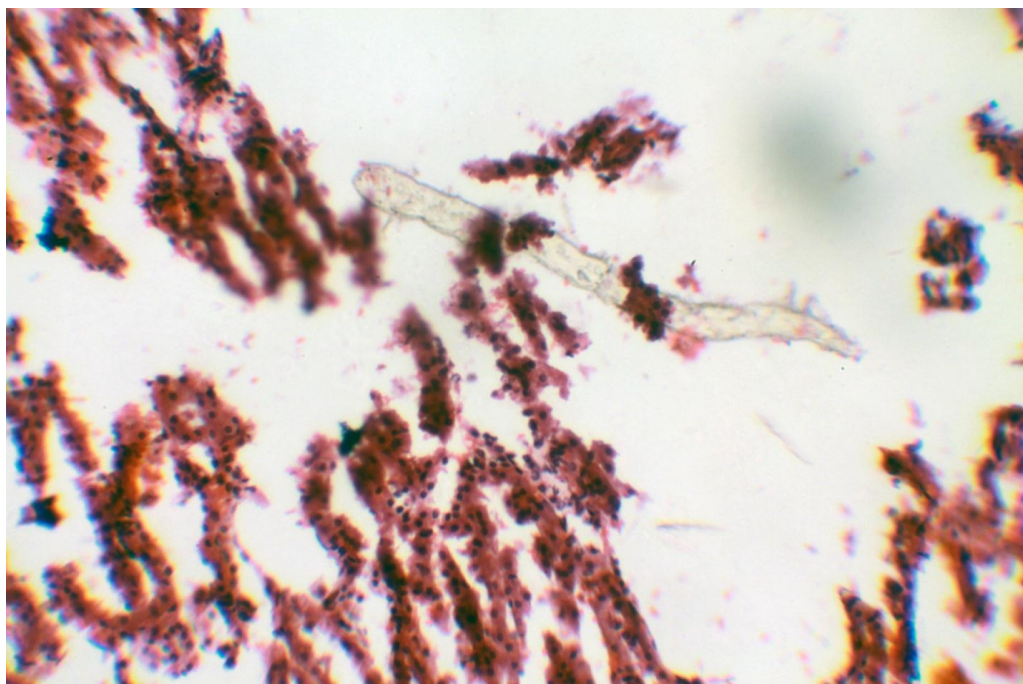


Рисунок 33 – Паренхима печени крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma*  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 150

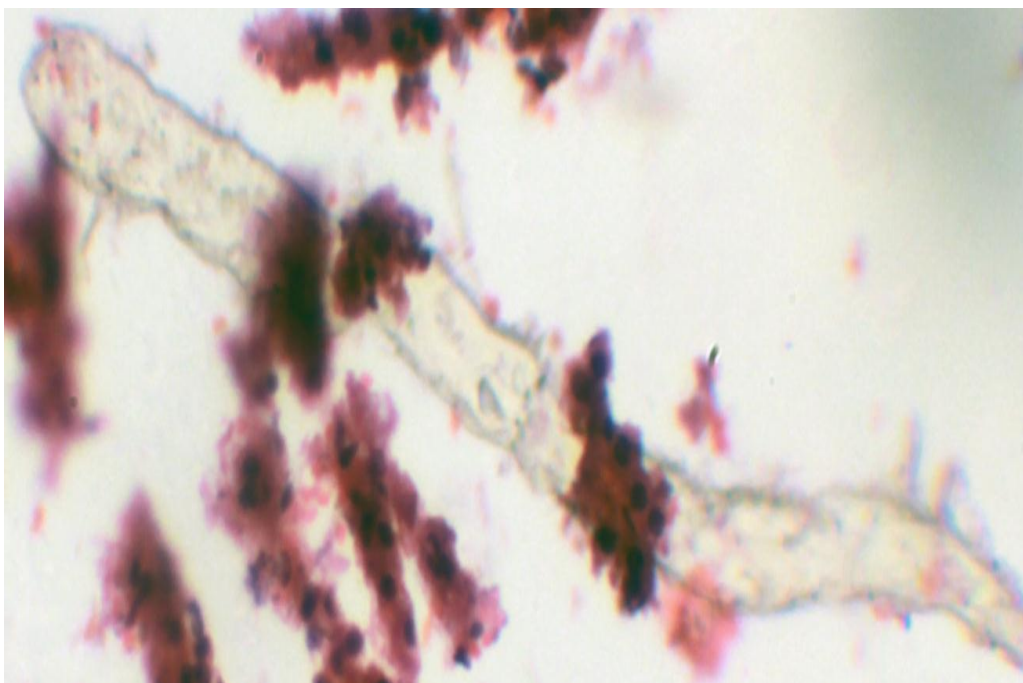


Рисунок 34 – Фрагмент паренхимы печени крысы под действием спор *Cytospora Chrysosperma*  $3 \times 10^8$  и до  $5 \times 10^9$  спор на 1 мл/кг, х 600

Обеспеченность организма витамином А неоднозначно влияет на гистологическую картину срезов печени крыс (Рисунок 37). На препарате виден некроз перипортальной зоны печени, скопление гепатоцитов, фиброз, особенно вокруг центральной вены, жировое перерождение, что говорит о переизбытке витамина А. Однако следов мицелия не наблюдается, что говорит о возможности организма самостоятельно справиться с негативным фактором.

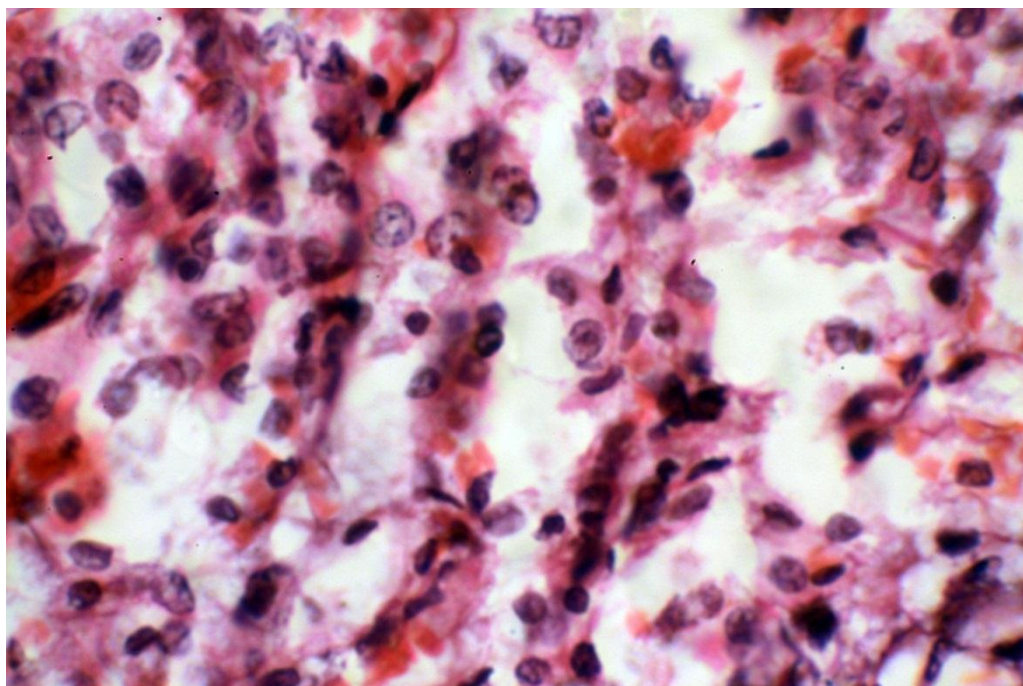


Рисунок 37 – Паренхима печени крысы под действием витамина «Ревит»,  
х 600

После проведения биопсии органов крыс, подверженных действию спор на фоне приема антибиотиков и витаминов, с последующей микроскопией, культуральным и гистологическим исследованием биоптата:

- обнаружили следы мицелия гриба в кишечнике крыс принимавших антибиотики, подверженных спорам *Cytospora Chrysosperma*;
- обнаружили следы мицелия гриба в кишечнике и печени крыс, подверженных спорам *Cytospora Chrysosperma*;
- крысы принимавшие витамины, но также подверженные спорам *Cytospora Chrysosperma*, имели относительно здоровый кишечник и печень.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение воздействия спор грибов *Cytospora* *Chrysosperma*, паразитирующих на деревьях рода *Populus* и других компонентов среды микогенного происхождения показало, что они проявляют агрессивность по отношению к животному организму на фоне гипердоз антибиотиков и витаминов. Можно предположить, что люди с разным иммунитетом и не однозначным подходом к употреблению антибиотиков и витаминов могут страдать от биологического загрязнения воздуха, в том числе спорами грибов. Кроме того, споры (конидии) являются теми грибными структурами, которые, как правило, ответственны за микогенную сенсибилизацию и могут индуцировать развитие микоаллергии [12].

Микогенные компоненты широко распространены в окружающей среде. Они могут находиться в жилых помещениях, медицинских учреждениях и часто являются причиной профессиональных заболеваний у работников сельского хозяйства, пищевой промышленности, фармацевтических предприятиях, а также накапливаться в городских насаждениях. Это может происходить по нескольким причинам: преобладание старовозрастных деревьев в насаждениях, непрофессиональный подход в сфере санитарно-оздоровительных мероприятий и как следствие - накопление инфекционного фона микогенного происхождения. В таких случаях, функция городских насаждений может нести вредную составляющую.

Техногенные катастрофы, повседневная хозяйственная деятельность человека, и даже непрофессиональный подход в сфере озеленения может привести к загрязнению окружающей среды, нарушающему функции защиты организма от инфекции.

Антибиотики относятся к наиболее часто используемым препаратам для лечения инфекционных заболеваний, как человека, так и животных. Кроме того являясь антагонистами грибов они существенно влияют на состав кишечной микрофлоры, что может не только нарушать нормальное течение физиологических процессов, но даже приводить к тяжелым патологическим состояниям. Введение животным больших доз витаминов оказывает токсическое действие, что ведет к снижению сопротивляемости организма к негативным факторам внешней среды, а бесконтрольный прием витаминов можно рассматривать как фактор снижения резистентности организма. Таким образом, микогенное воздействие на фоне факторов снижения резистентности можно отнести к категории болезней прогресса цивилизации.

На основании выше изложенного в работе можно сделать следующие выводы:

- По результатам вскрытия у животных группы антибиотик были выявлены изменения цвета серозной оболочки желудка и верхних отделов тонкого кишечника от серо-зеленого до изумрудного. Отмечено увеличение размеров этих органов (желудка в 3 - 5 раз, диаметр верхнего отдела кишечника в 2 - 3 раза). Также выявлено фрагментарное вздутие других отделов кишечника в

результате дисбактериоза. Таким образом, экспериментальным путем доказано, что антибиотики, как фактор снижения резистентности организма, подавляет естественную микрофлору ЖКТ животного организма, в том числе человека, что позволяет активно развиваться грибам различной этиологии.

При вскрытии животных группы витамин особых анатомических отличий от контроля не выявлено. Отмечен запах витаминов, цвет мускулатуры несколько темнее, чем у контрольных крыс. На брыжейке у двух животных обнаружено желтое образование, происхождение которого выявить не удалось. Отдельные фрагменты тонкого кишечника имели накопления оранжевого цвета. Подтверждаются данные [42] о накопительном и токсическом действии витамина А.

- Проведенный эксперимент по влиянию грибов *Cytospora Chrysosperma* (Pers), как источника микогенного воздействия на микрофлору желудка белых лабораторных крыс на фоне гипердоз антибиотиков и витаминов, как факторов снижения резистентности показал:

- высокую степень доминирования одного вида - грибов *Cytospora Chrysosperma* - в желудке животных, получавших повышенные дозы антибиотиков и споры этих грибов;

- культуральный метод позволил выявить, что при посеве содержимого желудка животных выросли различные колонии, у группы витамин и в контроле от 5 до 8 видов, в группе антибиотик все колонии однородны. Это означает, что в желудке групп контроль и витамин развивалась нормально разнообразная микрофлора, а однородные колонии из желудка антибиотиков убедительно доказывают доминирование одного вида, грибов, после микроскопирования идентифицированная нами как *Cytospora Chrysosperma*.

- После проведения биопсии органов крыс, подверженных действию спор на фоне приема антибиотиков и витаминов, гистологическим исследованием биоптата обнаружили:

- следы мицелия гриба *Cytospora Chrysosperma* в ворсинках эпителия тонкого кишечника крыс получавших гипердозы антибиотиков, спорам. Отмечена повышенная базофилия цитоплазмы микроворсинок, что может свидетельствовать о физиологической активности этих структур, в данном случае усилении барьерных функций эпителия. Вместе с тем, образование базофильных конгломератов может быть результатом захвата и лизиса внешних агентов;

- следы мицелия гриба в тканях эпителия кишечника и печени крыс, получавших спорам грибов *Cytospora Chrysosperma*, но получавших антибиотики;

- следов мицелия в исследуемых органах (эпителий тонкого кишечника, печень) животных группы витамин + споры не обнаружено.

Антибиотики как антагонисты подавляют бактериальную микрофлору кишечника и дают возможность развиваться спорам грибов *Cytospora Chrysosperma* в ЖКТ животных, прорастая в ткани эпителия, нарушают структуру, изменяя обмен веществ в тканях.

#### Рекомендации:

1. Содержать в чистоте от источников микогенной инфекции окружающую среду производственных и жилых помещений, парков, скверов и др;
2. При использовании в лечении антибиотиков избегать контактов с источниками микогенной биоты различного происхождения;
3. Не злоупотреблять приемом витаминов, особенно витамина А;
4. Проводить своевременные санитарно-оздоровительные мероприятия в древесных насаждениях, особенно больниц и детских учреждений.

## Список использованных источников

1. Спесивцева Н.А. Микозы и микотоксикозы. - М.: Колос, 1964;
2. Пономарева Т.М., Абиев С.А., Бызова З.М. Грибные болезни основных пород деревьев города Павлодара. Алматы, Вестник КазГУ, № 2., 2001;
3. Miller E., Loeffler W., Mikologie/ Grundriss for Natur- Wissenschaftler und Mediziner, 1992, Stuttgart-New York: Geord Thieme Verlag. Перевод на русский яз. К.И.Тарасова, М:Мир, 1995;
4. Kwon-Chung K.J., Benett J.E. Medical Mycology.- Philadelphia, London: Lea and Febiger, 1992;
5. Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C. and Pegler D.N. with the assistance of Ainsworth G.C., Benny G.L., Demoulin V. et oths. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 8 Ed.//CAB International, 1995, Reprinted 1996;
6. Кошкин В.С., Зайцева Г.А. Иммуногенетическая предрасположенность к аллергодерматозам у рабочих микробиологической промышленности // Современная микология в России. Первый съезд микологов. Тезисы докладов. - М., 2002;
7. Odds F. 5<sup>th</sup> Conference on Candida and Candidiasis, March 1-4, 1999 in Charleston, South Carolina. // Mycology Newsletter.-1999;
8. Краткий определитель бактерий Берги. М.:Мир.-1980;
9. Dadachova E, Bryan RA, Huang X, Moadel T, Schweitzer AD, et al. Ionizing Radiation Changes the Electronic Properties of Melanin and Enhances the Growth of Melanized Fungi. – 2007;
10. Pepys J. Clinical immunopathology of diseases due to fungi // Working Group on Mycotic Infections. Harbung, 26-29 Oct., 1983;
11. Хмельницкий О.К. Кандидоносительство. Просветочная кандидопатия. Инвазивный кандидоз. //Журн. “Проблемы мед.микологии”.-1999;
12. Чучалин А.Г., И.Д.Копылев. Аллергические заболевания легких. - В кн: болезни органов дыхания - М. – 1990;
13. Соболев А.В. Аллергические заболевания органов дыхания, вызываемые грибами: Автореф. дис... докт.мед. наук. – СПб., 1997;
14. Наумов Н. А., Болезни сельскохозяйственных растений, 2 изд., М. — Л., 1952;
15. Натальина О. Б., Болезни ягодников, М., 1963:
16. Словарь-справочник фитопатолога, под ред. П. Н. Головина, 2 изд., Л., 1967;
17. Тупеневич С. М., Шапиро И. Д., Защита овощных культур и картофеля от болезней и вредителей, 3 изд., Л., 1968;
18. Адо А.Д. Очерки по общей нозологии. М., 1973; Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации, Новосибирск, 1980; Сиротинин И.Н. Эволюция резистентности и реактивности организма, М., 1981;
19. Билай В.И., Пидопличко Н.М. Токсинообразующие микроскопические грибы. Киев, 1970;

20. Оценка загрязнения пищевых продуктов микотоксинами, под ред. В.А. Гутельяна, т. 1—3, М., 1985;
21. Саркисов А.Х. Микотоксикозы, М., 1954;
22. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (Медицинские и биологические аспекты), М., 1985;
23. Елинов Н.П. Особенности иммунитета при грибковых инфекциях. В кн. Мед. микробиология, вирусология и иммунология. Под ред. Л.Б. Борисова и А.М.Смирновой. // М.: "Медицина", 1994;
24. Сидоренко Е.Н. Клиническая аллергология.-К.:Здоровья. –1991;
25. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомасова А.В. Аллергические заболевания. – М.: Триада-Х. – 1999;
26. Паттерсон Р., Грэмер Л, Гринберг П. Аллергические болезни (диагностика и лечение).М.: "Геотар". – 2000;
27. Романюк Ф.П. Микозы у детей, вызываемые условно-патогенными грибами: Автореф. дис... докт. мед. наук. - Л., 1998;
28. Pepys J. Clinical immunopathology of diseases due to fungi // Working Group on Mycotic Infections. Harbung, 26-29 Oct., 1983;
29. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные заболевания легких. - М., 2000;
30. Яшина Л.А. Клинико-функциональная диагностика бронхиальной астмы // Укр.пульм.журн. – 2000;
31. Зуева Е.В. Антигенно-активные компоненты *Candida albicans* для выявления повышенной чувствительности немедленного типа: Автореф. дис... канд. биол. наук.- Л., 1990;
32. Елинов Н.П. Медицинская микология. В кн.: Мед. микробиология, вирусология и иммунология. Под ред. Л.Б. Борисова и А.М. Смирновой // М.: "Медицина", 1994;
33. Brunet J.L., Peyramond D., Cozon G.J. Diagnosis of normal and abnormal delayed hypersensitivity to *Candida albicans*. Importance of evaluating lymphocyte activation by flow cytometr // Allerg. Immunol. (Paris). – 2001;
34. Staib P., Michel S., Hacker J., Morschhauser J. Expression of chromosomally integrated, single – copy GFP genes in *Candida albicans* and use as a reporter of gene regulation. Hygiene and Mikrobiologie// Deutsche gesellschaft fur Hygiene und Mikrobiologie. 49 Jahreskongress 5-9 October 1997;
35. Альошина Р.М. Влияние экологических факторов на распространенность аллергических заболеваний в промышленных районах // Имунологія та алергологія. – 1998;
36. Gettner S. Studies on the immune response to antigens of *Candida albicans* // Ph.D. thesis. - Univ.London. – 1979;
37. Лебедева Т.Н. Патогенез аллергии к *candida species* (обзор) //Журн. "Проблемы мед.микологии".-2004;
38. Лебедева Т.Н. Гуморальный иммунитет при кандидозе: Автореф. дис... докт. мед. наук. - Л., 1993;

39. Соболев А.В., Кириллов Ю.А. Фиброзирующие процессы в легких, обусловленные грибами // Материалы международного микологического симпозиума «Микозы и иммунодефициты». - Л., 1991;
40. Хмельницкий, О. К. Дифференциальная диагностика микозов при гистологическом исследовании / О. К. Хмельницкий // Сб. лекций для врачей-курсантов. Л., 1984;
41. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника, С.В. Бельмер РГМУ., 2003;
42. Витаминология. Большой медицинский словарь. 2000;
43. Коротков К.Г. Биоэкологическое загрязнение воздушной среды города спорами грибов-паразитов древесных пород. Материалы XLVIII Международной научной студенческой конференции "Студент и научно-практический прогресс". Новосибирск, 2010;
44. В. И. Билай «Методы экспериментальной микологии»;
45. Ксембекова А.Н. Влияние грибов рода *Cytospora* на микрофлору желудка на фоне приема антибиотиков. Материалы 50-й Международной научной студенческой конференции "Студент и научно-практический прогресс". Новосибирск, 2012.