

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии



На правах рукописи

Ненно Полина Вадимовна

**Разработка способа цитологической оценки эффективности и динамики
лечения больных онихомикозами**

Научный руководитель:
доцент, к.б.н.

Р. А. Фатхутдинова

Уфа – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1. Возбудители онихомикозов	5
1.2. Факторы риска развития онихомикоза	5
1.3. Классификация онихомикозов	7
1.4. Развитие заболевания	9
1.5. Диагностика	11
1.6. Лечение	13
1.6.1. Некоторые препараты для лечения грибковой инфекции	17
1.7. Причины рецидивов заболевания	21
1.8. Профилактика	22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	24
2.1. Объекты исследования	24
2.2. Подготовка лабораторной посуды	24
2.3. Приготовление питательной среды для культивирования грибов	25
2.4. Методы исследования	26
2.4.1. КОН – тест как основной метод микроскопического исследования дерматофитии ногтей	26
2.4.2. Метод световой микроскопии	26
2.4.3. Метод культурального посева на скошенный агар	27
2.4.4. Метод дифференциального окрашивания по Граму	27
2.4.5. Метод статистической обработки данных	28
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	29
3.1. Подтверждение видовой принадлежности гриба-дерматофита	29
3.2. Выявление в микропрепаратах гриба дерматофитом	32
3.3. Результаты статистической обработки данных	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	40
ВЫВОДЫ	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	42

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Онихомикозы – это актуальная проблема современной медицинской микологии. Онихомикоз представляет собой широко распространенное инфекционное заболевание ногтевых пластинок, ногтевого ложа, ногтевых валиков и матрикса. Возбудителями данного заболевания являются патогенные и условно-патогенные грибы.

Наиболее распространено данное заболевание у людей старших возрастных групп от 70 лет и выше. Это объясняется тем, что пожилые люди больше подвержены инфицированию грибками, часто имеют сопутствующие соматические патологии, нередко грибковая инфекция не выявляется вовремя, а при ее выявлении пациентами не соблюдаются все рекомендации лечащего врача, все это увеличивает длительность течения онихомикоза и повышает риски его рецидивирования. Именно пожилые больные подвергаются развитию наиболее запущенных форм онихомикоза, представляющих собой: множественные очаги поражения ногтей, обширные патологические изменения в строении ногтевых пластин и их деформацию. Данные факторы обуславливают как эстетические, так и функциональные неудобства, у больных появляется болезненность при ношении обуви, а уход за ногтевыми пластинками становится весьма сложным. Все эти причины заставляют больных онихомикозом обращаться за помощью в медицинские учреждения, но даже несмотря на противогрибковую терапию, все равно остается риск повторного заражения.

Для успешной диагностики и лечения ногтевого онихомикоза, который может стать «никогда не заканчивающейся историей», важны своевременная цитологическая и микробиологическая констатация инфицированности ногтя.

Цель исследования. Изучить особенности цитологического аспекта грибковой инфекции и проанализировать динамику лечения больных онихомикозом.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1. Подтвердить видовую принадлежность гриба-дерматофита.
2. Выявить в микропрепаратах гриба дерматофитомы, которые могут быть причиной низкой эффективности антимикотиков и рецидивов заболевания.
3. Рассчитать частоту встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом до и после лечения.
4. Оценить эффективность цитологических методов при исследовании онихомикозов.

Ожидаемая научная новизна. В работе впервые изучено влияние дерматофитом, которые могут быть причиной длительного течения болезни и ее рецидивов, на динамику лечения больных онихомикозом.

Ожидаемое научно-практическое значение. Практическая значимость заключается в применении результатов данного исследования для своевременной диагностики и устранения заболевания.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Возбудители онихомикозов

В настоящее время существует примерно 50 видов грибов, способных поражать ногтевую пластинку, однако главная роль в развитии онихомикозов принадлежит грибам рода *Trichophyton*, которые являются возбудителями до 91,3% онихомикозов стоп и 36,4% онихомикозов кистей [32]. Также большую роль в микотической инфекции ногтевых пластинок играют плесневые и дрожжевые грибы. За последние 10 лет увеличение встречаемости онихомикоза, который они вызывают, отмечают исследователи из разных стран [12]. Так, при онихомикозе стоп выявляются *Candida albicans* в 44,5% случаев, кистей – до 8,3%, плесневые грибы (*Scopulariopsis spp.*, *Scytalidium spp.*, *Acremonium spp.*, *Fusarium spp.*) при онихомикозе стоп в 16,5% случаев, кистей – до 14% [5]. Следует отметить, что грибок поражает ногтевые пластины на ногах в 10 раз чаще, чем на кистях [38].

Главными возбудителями грибковой инфекции в России и других странах являются: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* и *Epidermophyton floccosum*. *T. Rubrum* становится причиной возникновения около 80% всех случаев онихомикозов [16]. На втором месте по частоте встречаемости находится *T. Mentagrophytes* – до 20% случаев. Реже выявляются: *E. floccosum*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum cannis*. Также в различных эндемических районах могут встречаться *T. violaceum*, *T. Concentric* [20].

1.2. Факторы риска развития онихомикоза

Наиболее восприимчивыми к развитию онихомикоза являются люди пожилого возраста. У людей данной возрастной группы в анамнезе часто присутствуют сопутствующие соматические патологии, которые значительно повышают риск развития онихомикоза. Например: заболевания сосудистой системы – лимфостаз и венозная недостаточность, эндокринной системы – сахарный диабет и лишний вес, а также деформация стоп [22].

Прием антибиотиков, глюкокортикостероидов и иммуносупрессантов имеет отрицательное влияние на резистентность организма, и, как следствие, высокую подверженность к грибковым заболеваниям, так как организм становится менее устойчивым к воздействию патогенных факторов [2]. Пациенты с вирусом иммунодефицита человека, а также те, кто посещают сеансы химиотерапии, тоже предрасположены к онихомикозу [59].

Возбудитель грибковой инфекции способен проникнуть в организм через различные микротрещины и небольшие повреждения на кистях рук, которые формируются из-за сухости кожи. Влага также является благоприятной средой для обитания патогенных грибов (повышенная потливость стоп) [38].

Часто заражение онихомикозом происходит через использование предметов больного человека, это могут быть инструменты для ухода за ногтями, ваннные принадлежности и даже одежда. Существует риск заражения патогенными грибами при посещении бассейнов, бань и спортзалов. В связи с этим, в группу риска входят: работники бань, бассейнов, врачи ортопеды и массажисты, а также военнослужащие и спортсмены. Онихомикоз у данных групп людей обнаруживается в 30% случаев [22,35].

Онихомикозы часто распространяются внутри семей, что составляет около 88% случаев [10]. По данным отечественных исследователей, онихомикоз, возбудителем которого является *Trichophyton rubrum*, генетически обусловлен и может быть наследственным заболеванием [40].

Люди, живущие в деревнях и селах, где наблюдается спокойный размеренный ритм жизни и хорошая экологическая обстановка, имеют меньший риск развития микозов, в отличие от тех, кто проживает в больших городах, где имеется тенденция к ухудшению состояния окружающей среды, а это, в свою очередь, приводит к снижению естественного иммунитета [2]. Следует отметить, что данное заболевание не

распространено в тропическом климате вследствие того, что люди из этих регионов обычно не носят неудобную закрытую обувь, создающую благоприятную среду для развития онихомикоза [42].

1.3. Классификация онихомикозов

В процессе развития грибковой инфекции ногтей для ногтевой пластины типичны следующие признаки: изменение окраски, утолщение пластины и ее разрушение.

Рассматриваются также три типа нарушений ногтевой пластины: нормотрофический – происходит изменение цвета без подногтевого гиперкератоза, гипертрофический – присутствует подногтевой гиперкератоз, ногтевая пластина становится тусклой, деформируется, может развиваться онихогрифоз, онихолитический – ногтевая пластина отсоединяется от ногтевого ложа [11,16].

В настоящее время чаще пользуются классификацией, которая учитывает тип изменения ногтевой пластины, локализацию и способ инвазии [21]. Так, выделяют несколько типов данного заболевания:

- 1) дистальный (поражение ногтя у свободного края) или дистально-латеральный (поражение боковых сторон);
- 2) белый поверхностный;
- 3) проксимальный (поражение заднего валика);
- 4) тотальный (поражение всего ногтя) [16].

Наиболее часто встречающимися формами онихомикоза являются дистальная и латеральная. При данных формах возбудитель способен проникнуть в ногтевое ложе и ногтевую пластину под ее свободным краем либо через латеральную ногтевую складку. При этом, ногтевая пластина теряет блеск, меняет цвет на бело-желтый, ее свободный край становится шероховатым на вид и распадается на фрагменты, в итоге остается только ногтевое ложе, которое покрыто ороговевшими массами [27].

При проксимальной форме онихомикоза возбудитель проникает в ногтевую пластинку с той стороны, где находится задний кожный валик. Проксимальная форма формируется при удалении эпонихия, который располагается между ногтевой пластиной и задним кожным валиком, по соображениям косметических процедур. Данная форма заболевания довольно часто выявляется у пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Вначале развития заболевания на проксимальной стороне ногтевой пластины появляется пятно белого цвета, в котором, при дополнительном исследовании, обнаруживается своеобразная “ветвистая сеть туннелей”. С течением времени возбудители попадают во все более глубокие слои ногтевой пластины и ногтевого ложа, окружая отрастающий ноготь, что, в свою очередь, приводит к тому, что ногтевая пластина начинает разрушаться [7,20].

Белый поверхностный онихомикоз (микотическая лейконихия) отличается формированием сливающихся пятен белого цвета на поверхности ногтевой пластины, которые по внешнему виду похожи на небольшие порошковые крупинки. Данные пятна появляются у проксимального валика ногтя и позднее имеют тенденцию к распространению на всю ногтевую пластину. Белый поверхностный онихомикоз часто обнаруживается у пациентов с вирусом иммунодефицита человека, для ВИЧ-инфицированных, при этом степень пенетрации ногтя патогенными грибами минимальна [27].

При тотальном типе грибковой инфекции, развивающемся при длительном течении заболевания, ногтевая пластина поражается полностью. В связи с выраженным подногтевым гиперкератозом ногтевая пластина отсоединяется от ногтевого ложа. Задние участки ногтевого валика утолщаются или исчезают, вследствие чего ногтевая пластинка больше не может образовываться и расти [1,31,51].

1.4. Развитие заболевания

Симптомы микотической инфекции нарастают по мере длительности его течения. Существует ряд признаков, указывающих на поражение ногтевой пластины патогенными грибами:

- 1) дисхромия – окраска ногтя изменяется на серый, жёлтый, бурый или зеленый цвет (цвет ногтевой пластины зависит от вида возбудителя);
- 2) онихолизис – процесс, при котором ногтевая пластина отсоединяется от ногтевого ложа;
- 3) гапалонихия – размягчение ногтевой пластинки и уменьшение её толщины;
- 4) койлонихия – ноготь приобретает вогнутый вид;
- 5) пахионихия – процесс гипертрофии ногтевой пластины и ее утолщение;
- 6) онихогрифоз – изменение окраски ногтя, загнутого в виде клюва и его утолщение;
- 7) гиперкератоз – утолщение рогового слоя эпидермиса;
- 8) изменения на поверхности ногтя – формирование трещин, борозд и ямок;
- 9) паронихия – воспаление заднего ногтевого валика [32].

Возбудитель может проникнуть в ноготь несколькими путями: через гипонихий из-под свободного края ногтевой пластинки, через поверхностную часть ногтя и через задний валик ногтевой пластины [16]. Грибы-дерматофиты, в том числе и *Trichophyton rubrum*, проникают в ноготь, используя первый вариант. При этом, в ответ на внедрение грибка, в ногтевом ложе происходит разрастание тканей, что приводит к развитию подногтевого гиперкератоза, и, в последствии, к отсоединению ногтевой пластины от ногтевого ложа [20]. Со временем возбудитель вызывает медленное разрушение ногтевой пластины. Что касается *T. rubrum*, то данные грибы способны разрушать и усваивать кератин, что получило название – кератофильность. Однако, существуют возбудители с еще большей выраженностью кератофильности, например – *T. mentagrophytes*, способные

проникать непосредственно через поверхностную часть ногтевой пластины, вследствие чего она гораздо быстрее и сильнее подвергается разрушению [19]. Как правило, разрушение ногтевой пластины происходит синхронно с ее утолщением. Деформация ногтевой пластины обусловлена проникновением мицелия гриба в различные ее отделы [17].

Способность дерматофитов разрушать кератин обуславливается наличием у них рецепторов прилипания и ферментов кератиназы, липазы, и коллагеназы [5]. Вследствие поражения ногтевой пластины грибами, происходит ее деформация и разрушение, при этом могут образовываться многочисленные щели и трещины, а также полости. Данные образования, в свою очередь, являются прекрасной средой обитания для колоний патогенного гриба. В них также могут присутствовать и другие микроорганизмы, а также слущенные эпителиальные клетки и иные вещества. Все это обуславливает дальнейшее развитие инфекционного процесса вплоть до явлений онихолизиса, а также распространением патологического процесса на матрикс ногтя [2,39].

В настоящее время имеет место быть биофизическая концепция патогенеза онихомикоза из которой следует, что при заболевании онихомикозом происходит противоборство колонии гриба, которая растет в направлении матрикса, и естественного роста ногтевой пластины от матрикса к свободному краю. Следовательно, чем быстрее отрастет ноготь, тем раньше наступит его излечение. Вероятно, это и объясняет тот факт, что у детей наблюдается низкая встречаемость онихомикоза, в связи с тем, что их ногти имеют большую скорость роста, чем у взрослых и пожилых людей [32]. У пожилых людей снижена скорость роста ногтевой пластины, что обуславливает выраженное ускорение развития патологического процесса в ногтевой пластине и усилению всех остальных симптомов онихомикоза [44].

Длительно продолжающийся онихомикоз способствует риску образования трофических язв на ногах – диабетической стопы, и гангрены [14]. При сахарном диабете онихомикоз может привести к остеомиелиту и

целлюлиту [61]. При первичных и вторичных иммунодефицитах возбудители способны перейти на кожу и внутренние органы, вызвать аллергические реакции в организме, которые могут проявиться в виде сыпи на коже с последующим развитием бронхиальной астмы [14].

1.5. Диагностика

Для диагностики онихомикоза необходима своевременная констатация инфицированности ногтя, поэтому важно обнаружить в патологическом материале возбудителя микотической инфекции, после чего можно назначить соответствующее лечение. Диагностика основана на микроскопическом и культуральном исследовании патологического материала. Если по одному из данных методов результат будет положительным, то на основании этого можно говорить о диагнозе онихомикоза [49].

В зависимости от вида онихомикоза отличаются и методы сбора патологического материала:

- 1) при поверхностном онихомикозе достаточен соскоб с пластины ногтя;
- 2) при дистальном – производится соскоб с ногтевого ложа и берется кусочек ногтя;
- 3) при проксимальном подногтевом – материал отбирают бормашиной или делают биопсию ногтя, либо берут соскоб с ногтевого ложа [37].

При микроскопическом исследовании кусочки ногтевых пластин необходимо мацерировать 20% раствором КОН, чтобы растворился кератин, и оставить в данном растворе в пробирке на сутки. По истечении указанного времени на дне пробирки образуется осадок, его следует нанести на предметное стекло и накрыть покровным, после чего можно просматривать микропрепарат под световым микроскопом на наличие нитей ровного септированного мицелия, указывающих на присутствие гриба-дерматофита. Наличие в микропрепарате круглых почкующихся клеток и несептированного мицелия говорит о присутствии грибов рода *Candida* [7,9]. Данный метод исследования является самым быстрым и объективным. Чувствительность

метода составляет до 80%. К минусам можно отнести то, что при его использовании нельзя определить вид возбудителя [38].

Культуральное исследование проводят для определения вида гриба-возбудителя. При данном методе инфицированный материал сеют на агаризованную питательную среду Сабуро и по истечении 2-3х недель проводят анализ выросших колоний с последующей идентификацией вида гриба-возбудителя [27]. При помощи этого метода возможно установление вида гриба, что, в свою очередь, помогает в определении тактики лечения и при подборе антимикотических препаратов по чувствительности. Минус исследования заключается в том, что для его осуществления необходимо длительное время, а его чувствительность равна 30-50% [2].

Следует отметить, что процент выявляемых положительных результатов культурального метода очень низок. Это может происходить из-за технических ошибок (несоблюдение правил сбора материала, а также неправильная его транспортировка), но, как правило, это происходит по причине предшествующего применения местных антимикотических препаратов [36].

Для диагностики также применяют метод биопсии: под анестезией при помощи скальпеля срезается ногтевая пластина с ногтевым ложем. После чего полученный материал погружают в раствор формальдегида и доставляют в лабораторию для гистологического исследования. Плюсы данного метода состоят в том, что он является высокочувствительным и позволяет определить наличие патологического гриба в материале. Из минусов можно выделить такие пункты, как: невозможность идентификации патогена и установления жизнеспособности микроорганизма, трудоёмкость метода и его дороговизна [59].

В настоящее время диагностику онихомикоза также проводят при помощи молекулярно-генетического метода – полимеразной цепной реакции [34], позволяющий обнаружить ДНК возбудителя в инфицированном материале. Данный метод позволяет определить вид гриба даже в тех случаях,

когда микроскопические и культуральные исследования дают отрицательные результаты [10]. Чувствительность метода составляет 80-90%. Минусы: недоступность, дороговизна, отсутствие стандартов технологии, а также сложность выполнения [38].

1.6. Лечение

В настоящее время лечение онихомикоза может осуществляться несколькими путями:

1. Монотерапия, при которой назначается только системный антимикотик (САМ) или применяются только наружные антимикотические препараты (НАМ). Последние применяются если есть какие-либо противопоказания к назначению САМ или при незначительной инфицированности ногтя патогенными грибами [23].

При применении НАМ, на поверхности ногтя формируются высокие концентрации лекарственного средства, не проникающего в кровоток. Отсутствуют побочные эффекты применения: тошнота, боли в животе, снижение аппетита [33]. Однако, данные препараты имеют низкую эффективность в отношении микотического поражения ногтевых пластинок. [27]. Наличие подногтевого гиперкератоза, множественные очаги поражения всей ногтевой пластины и распространение грибка на латеральные валики – все эти факторы не дают положительных результатов от местной терапии [43]. Также следует отметить, что некоторые препараты для лечения грибковой инфекции ногтей связываются с матриксом ногтя, в связи с чем не способны проникнуть к месту очага инфекции, находящегося в ногтевом ложе, усложняя тем самым процесс лечения [50].

В последнее время было разработано большое количество различных подходов в отношении решения проблемы проникновения антимикотических препаратов в ногтевую пластину. Добавлением додецила-2-N, N-диметиламинопропионата гидрохлорида и ламизила в лак для ногтей пытались добиться повышения проницаемости, чтобы облегчить доставку

лекарства через ногтевую пластинку [51], а также добавлением ламизила в составе трансферсом-ультрадеформируемых липидных пузырьков, способных проникать через межклеточные пространства, они применяются в качестве носителей для неинвазивной адресной доставки и замедленного высвобождения противогрибковых средств [53]. К тому же, была разработана молекула антимикотического препарата – оксаборол, намного лучше проникающая через ногтевую пластинку [41].

Данный метод лечения может быть успешным только при дистальной форме онихомикоза, то есть поражении ногтевой пластины у свободного края. При этом, сначала необходимо произвести удаление пораженного участка ногтя механическим способом или с помощью кератолитических пластырей и только после этого наносить противогрибковые мази, растворы и крема. При механическом удалении пораженные участки ногтя спиливаются или срезаются специальными инструментами. Особенность кератолитических пластырей заключается в том, что они позволяют сделать ноготь более мягким, благодаря чему его можно безболезненно отделить от ногтевого ложа с использованием скальпеля или ножниц [27].

Если же рассматривать системную терапию, то она позволяет противогрибковому средству попасть через кровь непосредственно в очаг инфицирования, даже если при этом в процесс вовлечен матрикс и ногтевое ложе [32]. Высокие концентрации препарата имеют особенность долго сохраняться в месте поражения по завершению применения. Минусы системной терапии связаны с риском токсических и побочных эффектов [38].

2. Комбинированная терапия:

- 1) удаления ногтевых пластин механическим способом с последовательным или синхронным приемом системных антимикотических препаратов;
- 2) единовременный или последовательный прием САМ сочетается с использованием наружных кератолитических средств, либо с нанесением специальных лаков;

3) хирургическое лечение и дальнейшее применение наружных антимикотических препаратов, если имеются противопоказания к приему САМ [16].

Хирургический способ удаления инфицированных ногтевых пластинок имеет преимущество перед кератолическим в том, что позволяет удалить подногтевой гиперкератоз, а вместе с ним, возможно, и кистозные полости эпидермиса.

Методика состоит из следующих этапов:

- 1) Во избежание капиллярного кровотечения из раны и предупреждения проникновения обезболивающего препарата в кровяное русло на основание пальца накладывают специальный жгут.
- 2) Оперируемые пальцы обрабатывают антисептическим средством (фукорцин).
- 3) По боковым поверхностям пальцев вводят обезболивающий препарат.
- 4) Под свободный край ногтевой пластинки (у одного из ее углов) вводят бранши пинцета.
- 5) Бранши продвигают до заднего края ногтя.
- 6) Ногтевую пластину отсоединяют от ногтевого ложа и выворачивают по направлению от угла ногтевого ложа к центру.
- 7) Убирают гиперкератотические массы.
- 8) Ногтевое ложе обрабатывают порошком дренирующего сорбента, имеющим антибактериальное действие.
- 9) На палец наматывают стерильную повязку.

Следует отметить, что применение специальных кровоостанавливающих гемостатических губок позволяет сократить сроки реабилитации после проведенной операции. По завершению эпителизации проводят терапию с использованием наружных антимикотических препаратов [21].

3. Корректирующая терапия основана на лечении сопутствующих патологий. Чтобы правильно выбрать схему лечения, необходимо оценить

общее соматическое состояние организма пациента. Следует иметь ввиду, что нарушение кровообращения в конечностях, может снижать доступ антимикотического препарата к очагу поражения. В следствие чего следует назначать лекарственные средства, которые улучшают трофику тканей [33].

Независимо от выбранного подхода к лечению онихомикоза, необходимо лабораторное подтверждение диагноза. Если рассматривать прием САМ, то также следует собрать аллергологический анамнез. Необходимо исключить применение лекарственных средств или продуктов питания, вызывающих аллергию у больного. Прием каких-либо иных лекарств во время периода лечения системными антимикотическими препаратами рекомендуется ограничить, за исключением тех, которые жизненно необходимы. Так как во время лечения может провоцироваться аллергия, рекомендуется придерживаться гипоаллергенной диеты. Из рациона исключаются продукты питания, способные вызвать повышенное газообразование: капуста, черный хлеб, бобовые, лук и чеснок с целью профилактики проблем с желудочно-кишечным трактом. Необходимо помнить и о приобретении комфортной обуви, что важно не только во время терапии, но и по ее завершению. Во многих случаях ношение удобной способствует улучшению состояния инфицированного ногтя, это объясняется тем, что сдавливание тканей, вызываемое травмирующей обувью, может являться причиной обострения заболевания или дополнительного поражения ногтевой пластины у свободного края [27].

Важно посещать контрольные осмотры в медицинских учреждениях первый раз – через 2 недели и далее 1 раз в месяц. Контрольное микроскопическое исследование проводят спустя 6 месяцев по завершению противогрибковой терапии. При обнаружении элементов гриба-дерматофита следует пройти повторный курс терапии с предварительным хирургическим удалением пораженных ногтевых пластин.

В настоящее время разрабатываются новые способы для лечения онихомикоза. Например, создан ряд устройств, включающий в себя: лазерные

приборы, аппараты для ультразвука, приборы для ионофореза и фотодинамической терапии [55]. В литературе встречаются случаи лечения онихомикоза с использованием фототерапии, во время которой облучается накопленный протопорфирин в пределах гифа гриба, что в последующем приводит к деформированию гифа [57]. Данные методы лечения используют в сочетании с приемом местных антимикотических средств, что, в свою очередь, помогает избежать побочных явлений, которые имеют место быть при применении системной терапии [15]. Однако, они не всегда являются доступными, отличаются сложностью проведения и дороговизной. В настоящее время еще проводятся исследования касательно разработанных устройств.

1.6.1. Некоторые препараты для лечения грибковой инфекции

Для выбора определенных антимикотических препаратов в лечении онихомикоза важно учитывать степень тяжести заболевания, зависящую от многих факторов: выраженности подногтевого гиперкератоза, степени инфицированности ногтевой пластинки и скорости ее роста, а также пола, возраста и сопутствующей висцеральной патологии пациента [8].

Антимикотические препараты отличаются по действующему веществу:

- 1) триазолы: флуконазол, итраконазол;
- 2) аллиламины: ламизил, нафтифин;
- 3) иные препараты: циклопирокс, морфолины.

В настоящее время для системной терапии используются только лекарственные средства третьего поколения, такие как: тербинафин, флуконазол, итраконазол, гризеофульвин [37].

Итраконазол является наиболее изученным препаратом. Итраконазол относится к новому поколению азоловых препаратов – триазолам. Действие препарата заключается в ингибировании синтеза эргостерола, входящего в состав клеточной стенки гриба. Итраконазол действует на фермент 14-а-деметилазу, зависящую от системы цитохрома P450, из-за чего структура

мембраны гриба деформируется, что приводит к тому, что грибок становится неспособным расти и размножаться. К тому же, при определенных концентрациях или с со временем, к фунгистатическому действию присоединяется фунгицидное. Итраконазол избирательнее действует на систему цитохрома грибов и, соответственно, оказывает меньшее влияние на цитохром P450 человека, поэтому он не оказывает большого воздействия на метаболизм стероидных гормонов, что отличает его от производных имидазола. Итраконазол обладает самым большим спектром антифунгального действия среди всех существующих САМ в отношении различных патогенных грибов. Итраконазол действует на дерматофиты (род *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*), плесневые грибы (род *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Cladosporium*) и дрожжевые грибы (род *Candida*, *Malassezia*), возбудителей подкожных микозов – хромомикоза и споротрихоза, а также глубоких микозов. Резистентность к данному препарату практически отсутствует. При помощи вышеперечисленных свойств препарат можно использовать даже при невозможности проведения лабораторной диагностики онихомикоза [2,43]. Эффективность итраконазола равна 89,9% [3]. При лечении онихомикоза итраконазол можно применять по двум схемам: по первой схеме препарат применяют по 200 мг (2 капсулы) каждый день на протяжении 3х месяцев, по второй схеме итраконазол используют по пульсовой методике: в течение 7 дней по 400 мг/сутки (по 200 мг утром и вечером), затем делают перерыв на 3 недели, после чего начинают новый курс лечения длительностью 7 дней. При онихомикозе кистей назначают 2 курса пульс-терапии, при онихомикозе стоп 3-4 курса. У 80-85% больных наблюдается излечение даже без удаления ногтей [27].

Несмотря на все плюсы применения итраконазола, неудачи и рецидивы также имеют место быть, особенно при тотальном и проксимальном онихомикозе [58]. Концентрация итраконазола снижается в плазме крови до не выявляемых значений после прекращения его приема. Поэтому при пульс-терапии две последних недели каждого месяца терапии препарат в плазме

крови невозможно определить. При тотальном типе онихомикоза возбудители из ногтевой пластины попадают в эпидермис ложа ногтя, а далее и в его соединительную ткань [25]. Известны случаи обнаружения грибов даже в костно-мозговом канале пальцев стопы. Следовательно, при данных типах онихомикоза во второй половине каждого цикла пульс-терапии патогенные грибы остаются без влияния препарата [58].

Тербинафин (ламизил) является наиболее эффективным при лечении онихомикоза. Так, по результатам исследования зарубежных ученых, показатели полного излечения в среднем вдвое выше после лечения ламизилом, чем после приема итраконазола. К тому же, исландское исследование, проведенное в рамках L.I.ON., показало, что лечение данным препаратом было клинически эффективнее, чем пульс-терапия с использованием итраконазола спустя 5 лет долгих наблюдений. Рецидивы возникали в 23% и 21% случаев у пациентов, лечившихся тербинафином и 53% и 48% у тех, кто принимал итраконазол [60]. Авторы данного исследования пришли к нижеперечисленным выводам:

- 1) Тербинафин обладает явным фунгицидным действием по отношению к дерматомицетам и непостоянным действием в отношении дрожжевых и недерматофитных плесневых грибов *in vitro*.
- 2) После системного применения тербинафин довольно быстро всасывается в ткани организма, включая и ложе ногтя, которое плохо снабжается кровью.
- 3) Уже через 1 неделю после начала лечения препарат накапливается в ногтях и сохраняется там не менее 30 недель по его завершению.
- 4) Системное применение данного антимикотического препарата по 250 мг в день продолжительностью 12 или 16 недель является более эффективным, чем прием итраконазола, гризофульвина и флуконазола.
- 5) В 80% случаев происходит излечение по завершению лечения ламизилом и нарастает в посттерапевтическом периоде, достигая 94% спустя 6 месяцев. При лечении итраконазолом подобное нарастание не выявлено.

Спустя несколько месяцев по окончании терапии с использованием тербинафина наблюдается оптимальный клинический эффект, соответствующий времени, необходимому для полного обновления ногтя.

Следует отметить, что ламизил имеет достаточно хорошую переносимость. Осложнения и побочные эффекты, вызванные препаратом, остаются в пределах 5%. Они имеют обратимый характер и проявляются в виде: болей в животе, тошноты, диареи и повышении активности ферментов печени. Иногда могут быть кожные проявления – крапивница, акнеподобные и экземаформные высыпания. Данный препарат имеет низкий потенциал взаимодействия с другими лекарственными средствами [26]. Препарат также показывает весьма высокую эффективность при смешанных формах онихомикоза [60]. Лечение препаратом можно проводить у людей разных возрастов [18]. Не рекомендуется применять тербинафин во время беременности и в течение периода кормления грудью, так как он способен выделяться вместе с грудным молоком [26].

Перед применением данного антимикотического препарата, помимо аллергического анамнеза, необходимо провести клинический и биохимический анализ крови (определить уровень трансаминаз). При повышенном уровне трансаминаз решение о назначении препарата принимает лечащий врач, учитывая ряд других показателей – возраста больного, состояния печени и т.д.

Для улучшения кровообращения пациентам старших возрастных групп следует назначать пентоксифиллин или другой препарат, что, к тому же, будет способствовать проникновению ламизила в инфицированные ногти.

Схема лечения ламизила: по 250 мг в сутки при онихомикозе стоп в течение 12 недель, а при онихомикозе кистей в течение 6 недель. При этом осмотр пациента должен осуществляться каждые 2 недели. После завершения терапии проводится контрольное микроскопическое исследование, при обнаружении элементов гриба применение ламизила продолжают еще 4 недели с последующей микроскопией. При положительной микроскопии

спустя 6 месяцев рекомендуется сделать повторный микроскопический контроль. В случае положительного результата пораженные ногти необходимо удалить и повторить курс антимикотика [18,26].

Таким образом, тербинафин является более эффективным при лечении онихомикоза, чем флуконазол, гризеофульвин и итраконазол.

Флуконазол действует на дерматофиты и дрожжевые грибы. Его назначают по схеме: 150 мг 1 раз в неделю продолжительностью 6 месяцев при онихомикозе кистей и 8-12 месяцев при онихомикозе стоп. По данным исследователей, излечение наступает у 83-92% пациентов [27].

1.7. Причины рецидивов заболевания

Высокому риску рецидива грибковой инфекции ногтей подвержены лица с сопутствующими заболеваниями и генетической предрасположенностью к онихомикозу [48]. Рецидивы могут быть связаны и с недостаточной эрадикацией или с повторным заражением новым грибковым штаммом.

Одной из причин рецидивов заболевания также является образование в толще ногтевой пластинки особого микотического образования – дерматофитомы, которая устойчива к воздействию противогрибковых препаратов [27,60].

Если рассматривать артроспоры, представляющие собой цепочки конидий у грибов, которые образуются при нарушении целостности грибковых гиф, то они считаются основным агентом, вызывающим поражение ногтей. Артроспоры отличаются от конидий тем, что по своему строению имеют более толстые стенки и большую устойчивость к антимикотическим препаратам, в связи с этим они могут оставаться в ложе ногтя, вызывая тем самым рецидивы заболевания [45].

При онихомикозе патогенный грибок способен к глубокому проникновению, что является причиной рецидивирования заболевания после удаления ногтей хирургическим методом без сопутствующей терапии САМ.

Известны случаи выявления патогенных грибов даже в костно-мозговом канале пальцев стопы [27].

Риск реинфекции остается даже несмотря на ликвидацию грибковой инфекции после противогрибковой терапии. Как уже упоминалось ранее, люди во многих местах встречаются с дерматофитами (бани, бассейны, спортзалы), что сохраняет риск повторного заражения. Также известно, что инфекции ногтей распространены при тесном контакте с членами семьи, поэтому крайне важно своевременно диагностировать заболевание и проводить противогрибковую терапию. Таким образом, важно не только лечение онихомикоза, но и устранение факторов, предрасполагающих к рецидиву заболевания [54].

1.8. Профилактика

С целью профилактики важно придерживаться правил личной гигиены и снижать возможность рецидива заболевания:

1. Ношение качественной и удобной обуви, использование только индивидуальной обуви. Во время лечения от онихомикоза обувь следует обрабатывать 1 раз в месяц в течение всего периода терапии и по ее завершению.
2. Ежедневная смена носков.
3. Применение антиперспирантов для ног при необходимости.
4. Использование индивидуального маникюрного набора.
5. Применение наружных антимикотических препаратов (спреи, крема) перед и после посещения общественных мест (баня, бассейн).
6. Своевременное выявление источника грибковой инфекции в семье и одновременное лечение всех членов семьи [38].

Споры гриба способны долгое оставаться в живом состоянии и быть источником повторного заражения, поэтому важно периодически осуществлять обработку личных вещей, обуви, полов и коврикков от патогенных грибов. Для обработки обуви применяют специальные

дезинфицирующие средства (20-40% раствор формалина, 40% раствор уксусной кислоты, 1% раствор хлоргексидина), а также облучение с использованием ультрафиолетовых ламп [16,29]. Данные средства обеспечивают кислую среду, являющуюся губительной для грибов. К минусам можно отнести то, что эти средства могут испортить обувь, а сама обработка весьма продолжительна по времени и не всегда является достаточно надежной, поэтому в настоящее время для дезинфекции обуви чаще применяют специальные ультрафиолетовые приборы, действие которых заключается в фунгицидном эффекте ультрафиолетового излучения [30].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

В качестве материала для исследования послужили инфицированные ногти 18 пациентов в возрасте от 50 до 68 лет с диагнозом онихомикоз. Клинический материал был получен из Республиканского кожно-венерологического диспансера №1 (г.Уфа) в день поступления и после лечения.

Практическая часть эксперимента была выполнена на кафедре фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского Государственного Медицинского университета.

2.2. Подготовка лабораторной посуды

Лабораторная посуда должна быть чисто вымыта, для этой цели используют нейтральные моющие средства, дополнительно для чистки могут использоваться специальные ершики и щетки. Вымытую в водопроводной воде посуду ополаскивают дистиллированной водой, после чего высушивают на лабораторных подносах при комнатной температуре. Далее вымытую и высушенную посуду заворачивают в бумагу и размещают в печи Пастера не слишком плотно друг к другу. Стерилизацию проводят 2 часа при температуре 150°C. По завершению стерилизации печь Пастера не открывают до тех пор, пока температура в ней не снизится до комнатной. После чего посуда может быть использована по необходимости [6].

Стерильные флаконы с питательной средой стерилизуют насыщенным паром под давлением (автоклавирование) при 1,1 атм (121°C) в течение 15 минут. По завершении стерилизации автоклав отключают, флакон со средой удаляется из автоклава, после чего производится разлив среды в необходимую посуду.

2.3. Приготовление питательной среды для культивирования грибов

Агар Сабуро – это питательная среда для выделения и культивирования дрожжеподобных и плесневых грибов. Сухая среда представляет собой мелкодисперсный гомогенный порошок светло-желтого цвета.

Таблица 1 – Состав питательной среды Сабуро

Ингредиенты	Грамм/литр
Панкреатический гидролизат рыбной муки	10,0
Панкреатический гидролизат казеина	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрия фосфат однозамещенный	2,0
Д-глюкоза	40,0
Агар	10,0±3,0

Приготовление:

1. Размешать 73,0 г среды в 1000мл дистиллированной воды.
2. Прокипятить 2 мин до полного растворения агара.
3. Профильтровать через ватно-марлевый фильтр.
4. Разлить в стерильные флаконы и автоклавировать при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.
5. Среду охладить до температуры 45-50°C и разлить в стерильные пробирки.
6. После застывания подсушить в термостате при температуре 23±2°C в течение 40±5 мин.

2.4. Методы исследования

2.4.1. КОН – тест как основной метод микроскопического исследования дерматофитии ногтей

Для исследования ногтевых пластинок на присутствие паразитарных грибов использовалась упрощенная методика (по П.Н. Кашкину): предварительно подготовленные срезы ногтевых пластинок опускали на дно пробирки, в которую добавляли 2мл 20% раствора КОН [20], выдерживали несколько дней до полного растворения ногтевых пластинок, после чего содержимое пробирки переливали в центрифужную пробирку и центрифугировали 15 минут при 10000 G, далее сливали верхний слой жидкости с помощью автоматического дозатора, а из осадка готовили препарат для исследования под микроскопом.

2.4.2. Метод световой микроскопии

Микропрепараты гриба рассматривались с помощью световой микроскопии. Световая микроскопия обеспечивает увеличение до 2-3х тысяч раз, предоставляет возможность долговременного наблюдать за одним и тем же объектом и оценивать его морфологические особенности. Картинка в световом микроскопе формируется благодаря тому, что происходит процесс избирательного поглощения объектом света с различной длиной волны.

Для увеличения разрешающей способности применялся иммерсионный объектив. Для этого на образцы, предварительно закрытые покровными стеклами, наносили каплю иммерсионного масла. После чего устанавливали объектив 100x и плавно поднимали предметный столик микроскопа до того момента, как линза объектива окажется в иммерсионном масле. При этом, следили за тем, чтобы линза объектива не касалась покровного стекла. Затем осуществляли настройку фокусировки с помощью макровинта, тонкую фокусировку производили с помощью микровинта. После окончания микроскопического исследования опускали предметный столик, снимали

препарат и осторожно протирали фронтальную линзу салфеткой, смоченной в спирте [13].

2.4.3. Метод культурального посева на скошенный агар

Перед посевом взяли сосуд с расплавленной и остуженной до 45°C средой и пробирку. Обожгли края пробирки и сосуда со средой над пламенем спиртовки, после чего внесли в пробирку необходимое количество среды и вновь обожгли горлышки емкостей, закрыв их пробками. Чтобы получить скошенный столбик, пробирки с расплавленной средой установили в наклонном положении на специальную подставку так, чтобы среда не заходила на 2/3 пробирки и не смачивала пробку. После застывания среды пробирки поставили вертикально в штатив, дав стечь конденсату вниз.

Для осуществления посева на скошенный агар пробирку брали в левую руку так, чтобы ее основание находилось на поверхности кисти руки, благодаря чему можно контролировать процесс посева глазом. Пробку из пробирки вынимали правой рукой, не прикасаясь к той части пробки, которая входит внутрь пробирки [4]. После удаления пробки пробирку с питательной средой держали в наклонном положении, чтобы в нее не попали посторонние микроорганизмы из воздуха. С помощью пинцета брали сегмент инфицированного ногтя и погружали в агар. После посева пробирки поместили в термостат при температуре 28°C. Через неделю провели анализ выросших колоний.

2.4.4. Метод дифференциального окрашивания по Граму

Метод заключался в следующем:

- 1) На фиксированный мазок с препаратом гриба наносился краситель генциан-фиолетовый в течение 1 мин.
- 2) Нанесение раствора Люголя – 30 сек.

- 3) Нанесение этилового спирта, до прекращения отхождения фиолетовых струек краски – 30 сек.
- 4) Промывание мазка водой.
- 5) Нанесение водного фуксина – 1-2 мин.
- 6) Промывание мазка водой и его высушивание [4].

При данном методе мицелий гриба окрашивается как грамположительный (в фиолетовый цвет).

2.4.5. Метод статистической обработки данных

Данный метод позволил проанализировать частоту встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом до и после лечения. Метод выполнялся при помощи построения диаграмм, а именно: гистограммы и круговой диаграммы, что позволило наглядно увидеть необходимые показатели, полученные в ходе исследования, обобщить их и привести в систему, выявив в них скрытые закономерности.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Подтверждение видовой принадлежности гриба-дерматофита

Ногтевая пластинка больного онихомикозом до начала лечения имеет непрозрачный тусклый вид, расслаивается, присутствует подногтевой гиперкератоз – усиленное ороговение ногтевого ложа, что является реакцией на внедрение грибка. Свободный край пластинки имеет шероховатый вид и фрагментарно распадается [17].

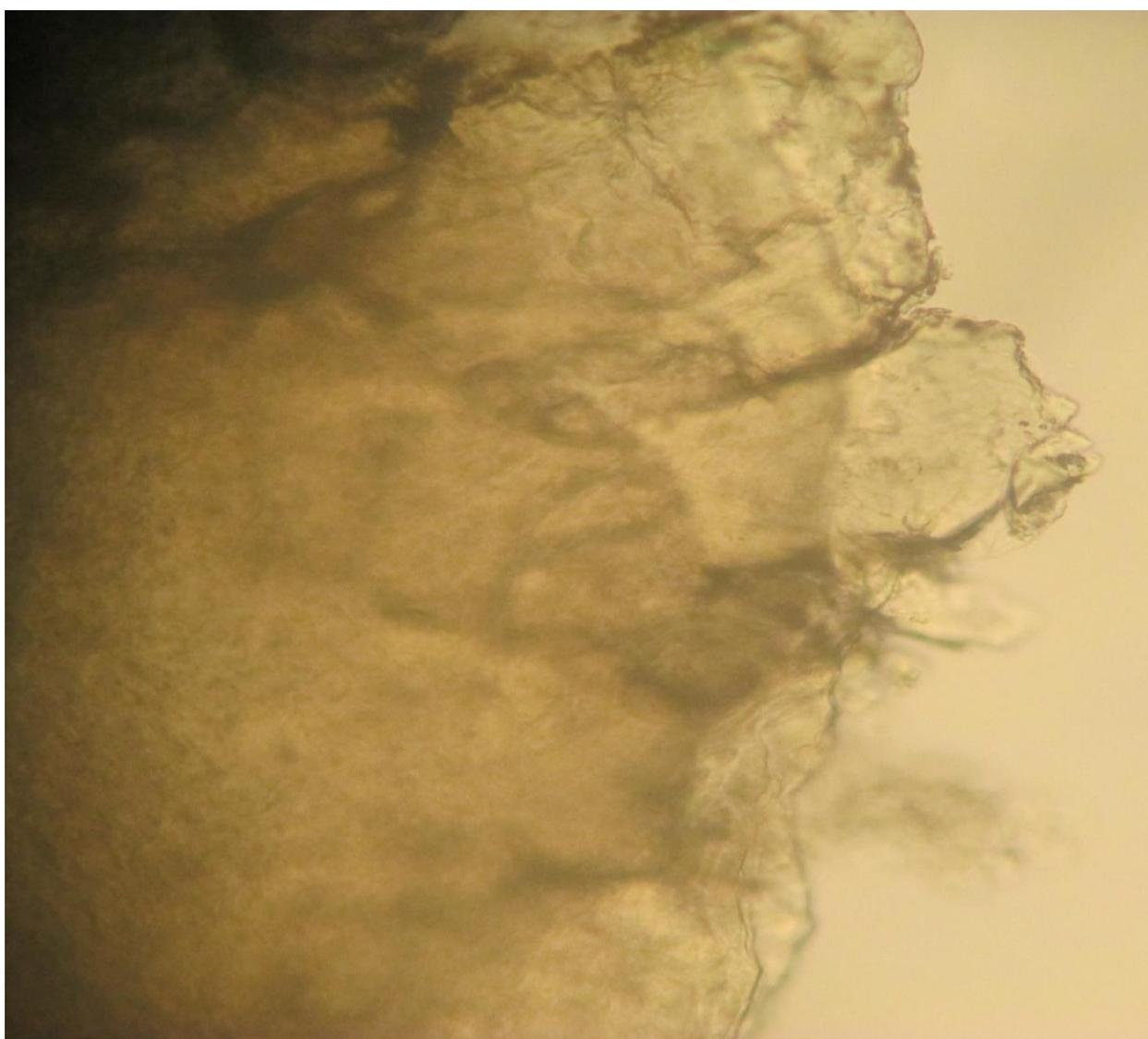


Рисунок 1 – микрофотография края ногтя больного онихомикозом в день поступления

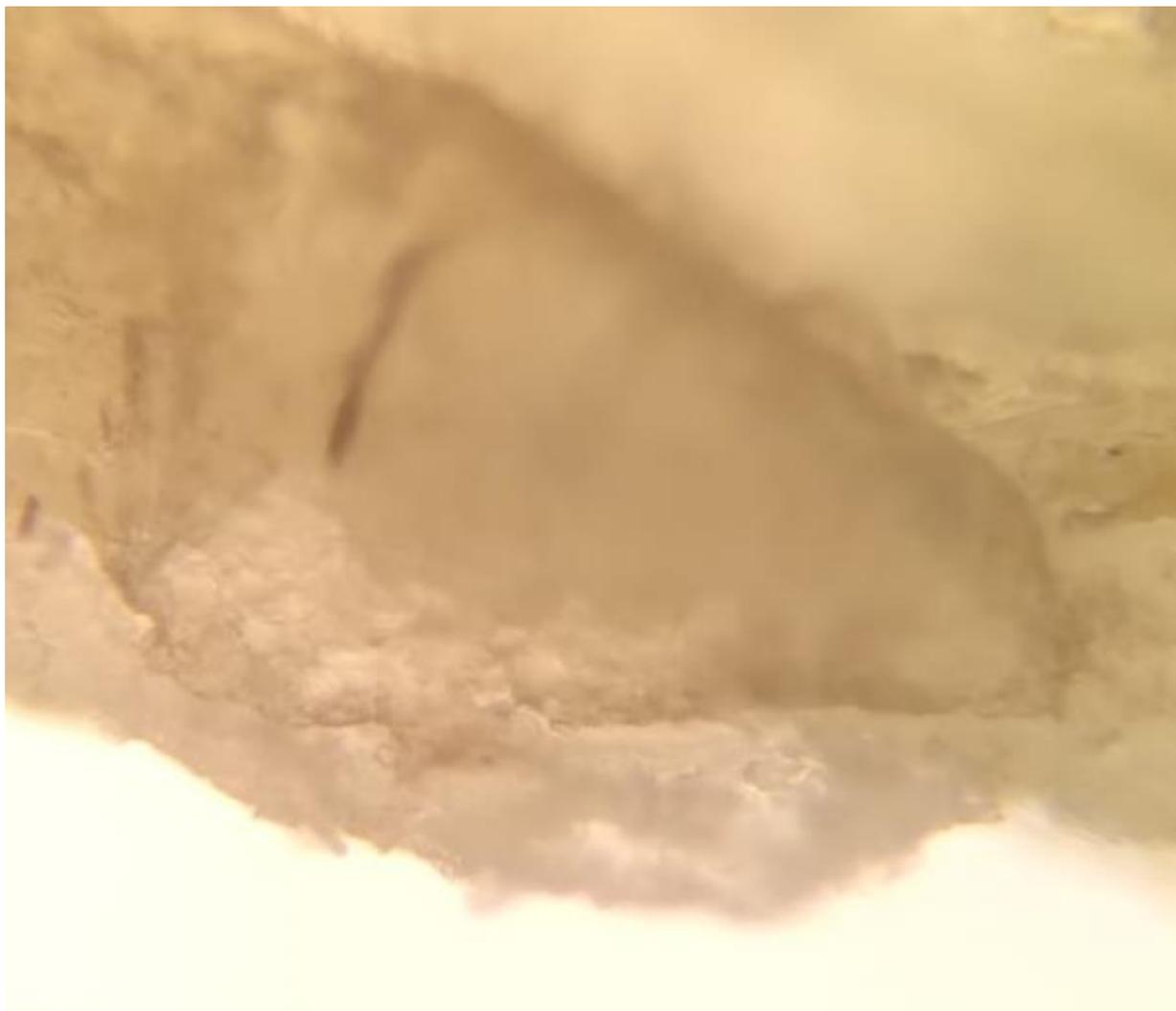


Рисунок 2 – микрофотография края ногтя больного онихомикозом в день поступления

При проведении КОН-микроскопии был выявлен равномерный септированный мицелий гриба, по периферии от которого имеются конидии – экзогенные споры бесполого размножения. Микроконидии (алейрии) – одноклеточные образования, по форме овальные, шаровидные, грушевидные. Макроконидий мало, они имеют тупоконечную форму.

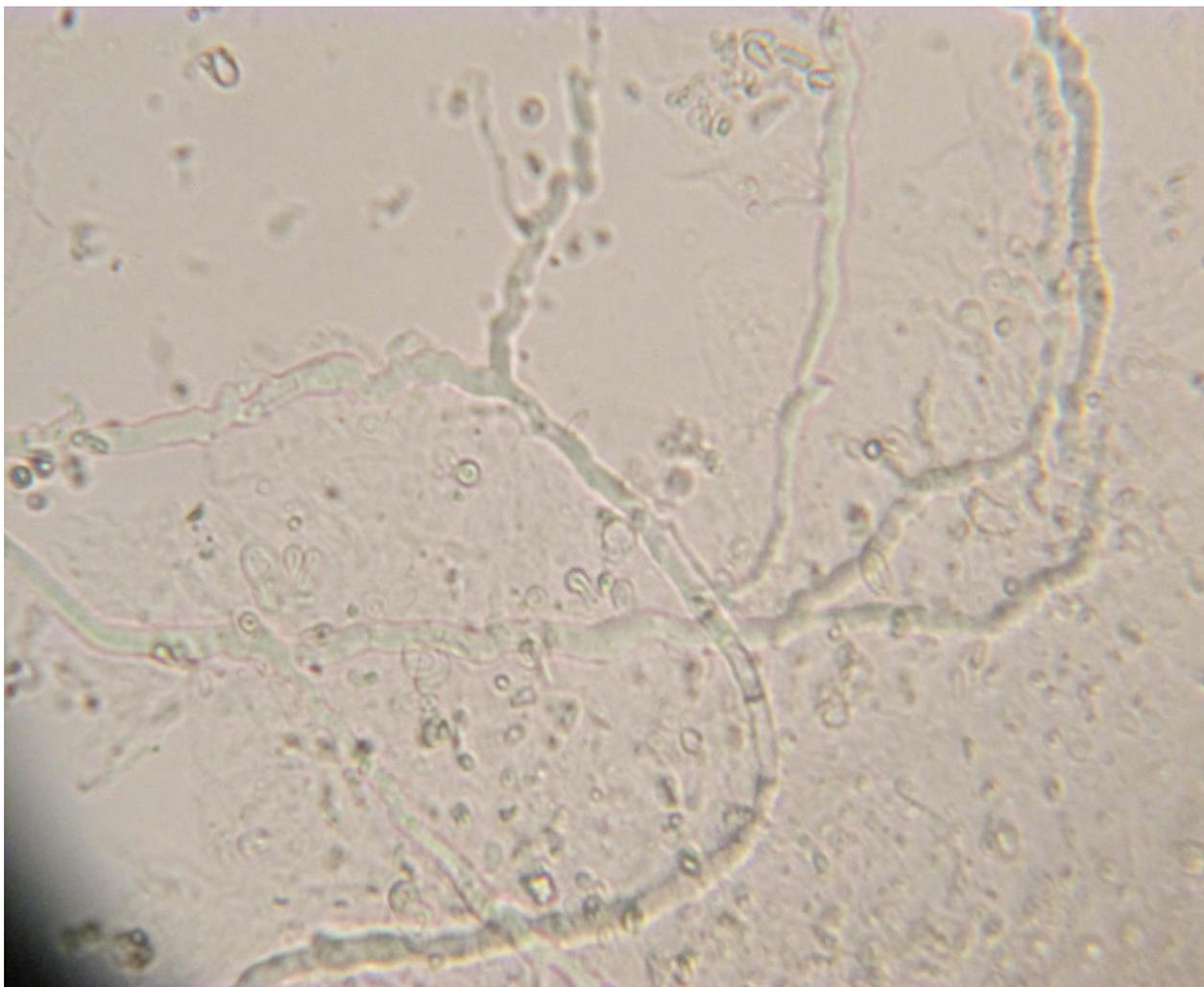


Рисунок 3 – микроморфология гриба. КОН-микроскопия

Вид гриба-возбудителя был определен при помощи культурального исследования с последующей микроскопией. Анализ колоний показал, что возбудителем является *Trichophyton rubrum* – вид антропофильных грибков-дерматофитов рода *Trichophyton* из отдела аскомицетов. Колонии гриба кремово-белые, бархатистой структуры, в дальнейшем могут становиться розоватого или пурпурно-красного цвета (обратная сторона колоний желтого или красного оттенка). *T. rubrum* является наиболее распространенным возбудителем грибковой инфекции ногтей, на его долю приходится около 80% всех случаев заболевания онихомикозом [16].

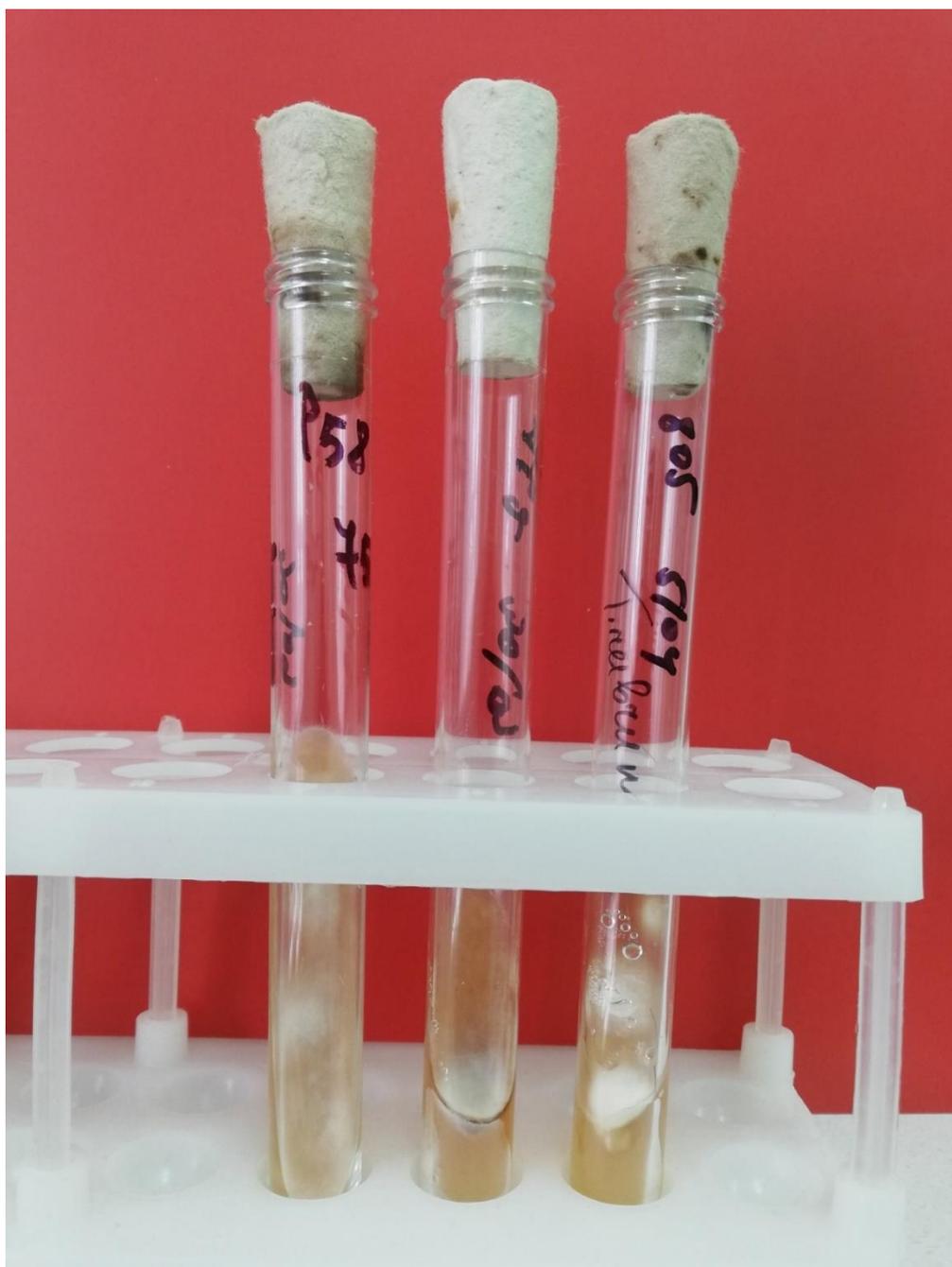


Рисунок 4 – культуры гриба *Trichophyton rubrum* на питательной среде Сабуро.

3.2. Выявление в микропрепаратах гриба дерматофитом

КОН-микроскопия позволила обнаружить в исследуемом препарате дерматофитомы. Дерматофитомы – это образования овальной формы, содержащие жизнеспособные элементы гриба и покрытые пленкой, состоящей из микроорганизмов, которые продуцируют полисахариды. Полисахариды, в

свою очередь, обуславливают резистентность гриба к антимикотическим препаратам [28].

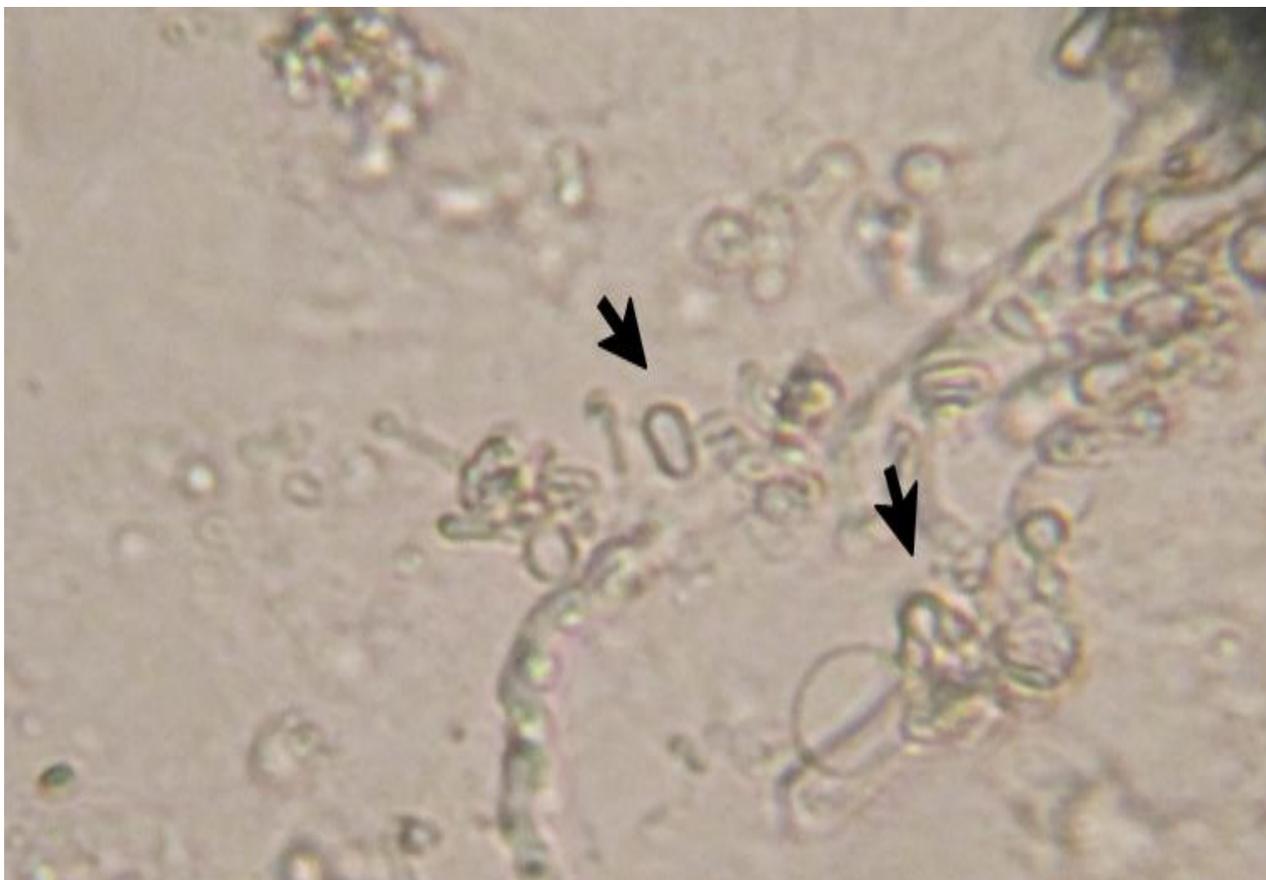


Рисунок 5 – дерматофитомы, обнаруживаемые в пораженной ногтевой пластине больного (увеличение 40х). КОН-микроскопия.

Метод дифференциального окрашивания по Граму также позволил обнаружить в микропрепаратах мицелий гриба и дерматофитому, имеющую толстую стенку. *Trichophyton rubrum* окрашивается как грамположительный – в фиолетовый цвет.



Рисунок 6 – микрофотография мицелия *Trichophyton rubrum*, окрашенного по методу Грама (увеличение 40х). Стрелкой указана дерматофитома.

Ногтевая пластинка пациента в возрасте 68 лет после курса противогрибковой терапии имеет розоватый оттенок, она не расслаивается, также отсутствует подногтевой гиперкератоз. Свободный край пластинки целостный, без повреждений.

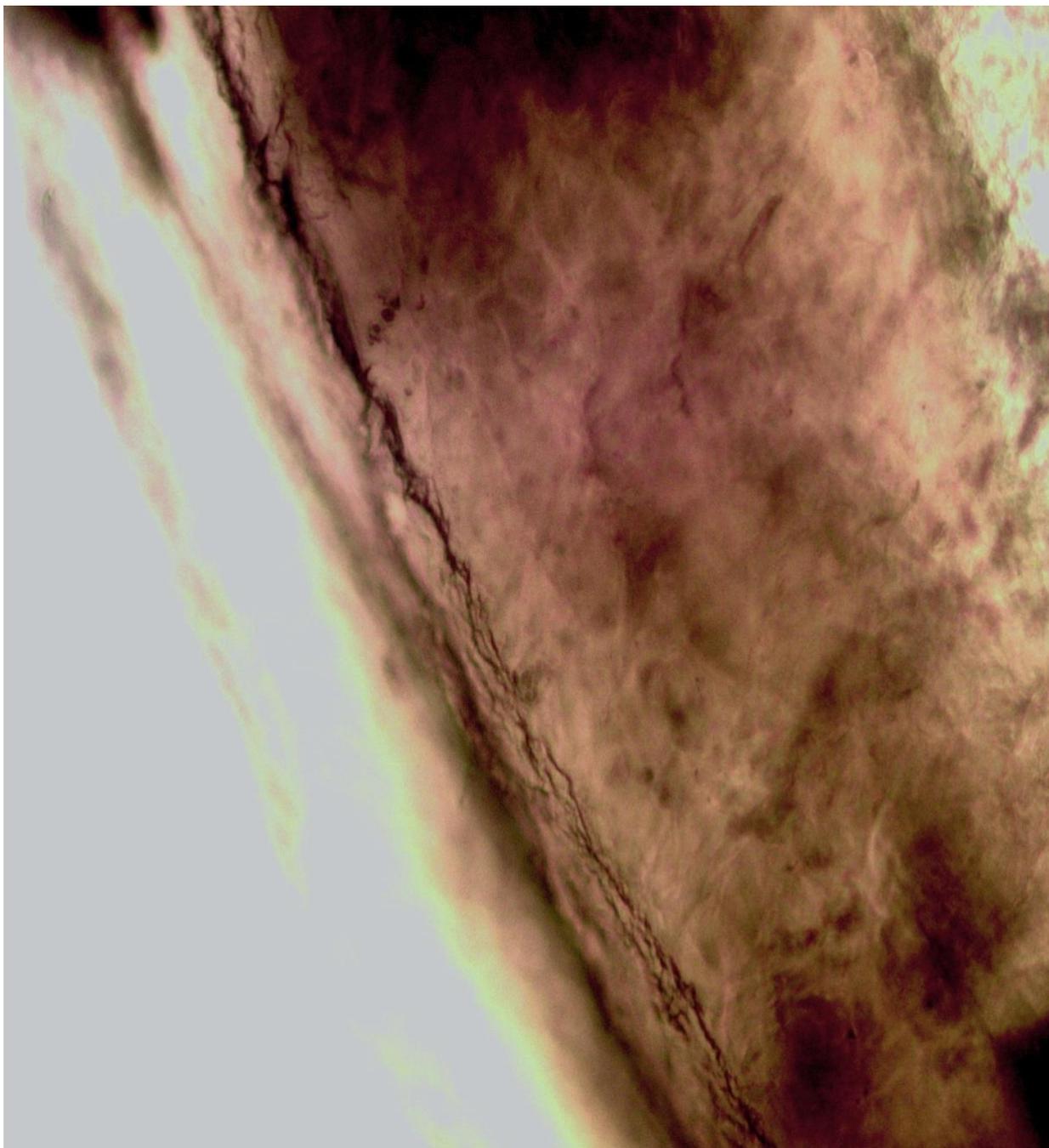


Рисунок 7 – микрофотография отросшего ногтя больного (68 лет) с диагнозом онихомикоз после курса лечения.

После мацерации отросшего ногтя 20% раствором КОН на препарате было выявлено отсутствие мицелия гриба, но при этом присутствовала дерматофитома, которая может быть причиной низкой эффективности антимикотиков и рецидивов заболевания [60].



Рисунок 8 – цитологический препарат отросшего ногтя после курса лечения, мацерированного 20% раствором КОН (увеличение 10х). Стрелкой указана дерматофитома.

Для увеличения разрешающей способности применялся иммерсионный объектив, который позволил более отчетливо увидеть дерматофитомы, содержащие споры гриба.

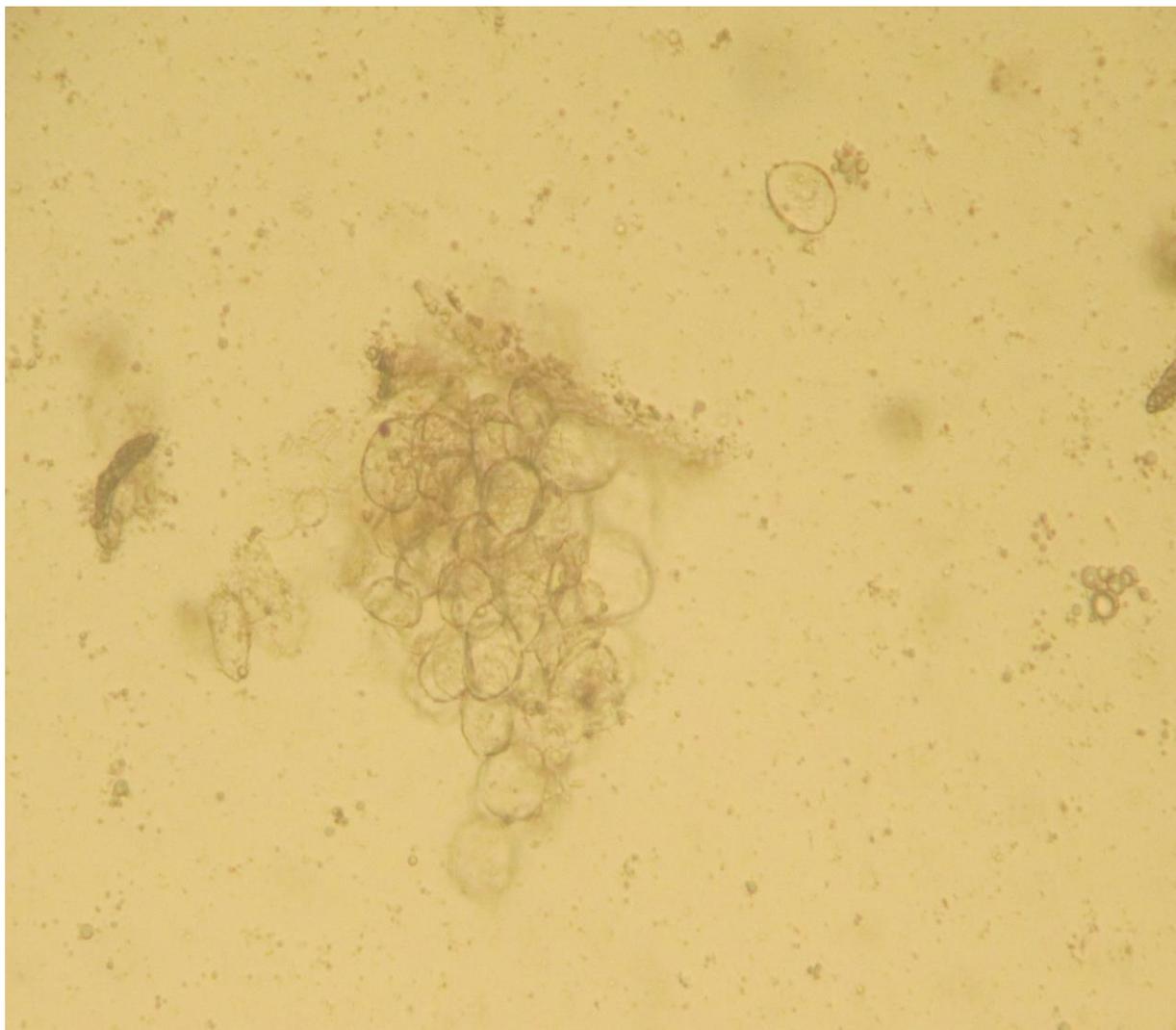


Рисунок 9 – дерматофитомы, содержащие споры гриба. Иммерсия (увеличение 100х).

3.3. Результаты статистической обработки данных

При помощи статистического метода была проанализирована частота встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом в возрасте от 50 до 68 лет до и после лечения. Средний возраст всех испытуемых равен 61 году.

Анализ частоты встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом до и после лечения показал, что среди 18 человек, до начала лечения дерматофитомы были выявлены у 5 пациентов, что составило 28%, у 13

человек в возрасте 50-60 лет (72%) данные микотические образования не были обнаружены (рисунок 9).

После лечения дерматофитомы были найдены в образцах у 3 пациентов (17%) (рисунок 10). Следует отметить, что у данных пациентов в анамнезе были такие сопутствующие заболевания, как: сахарный диабет и варикозное расширение вен.

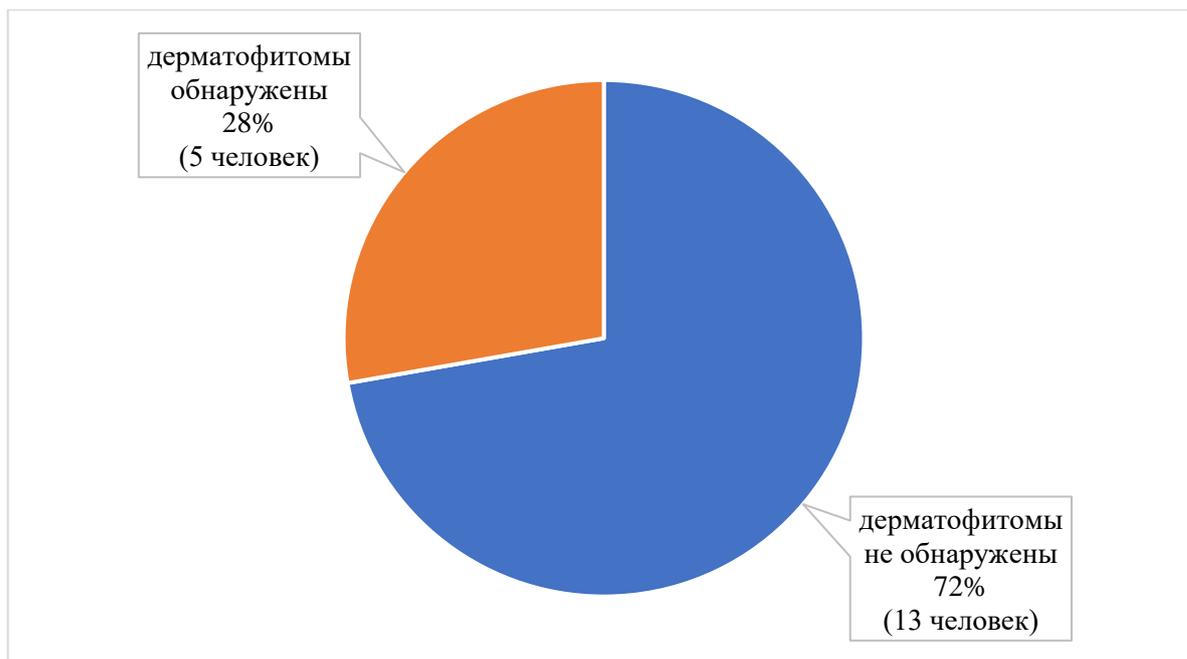


Рисунок 10 – частота встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом до лечения.

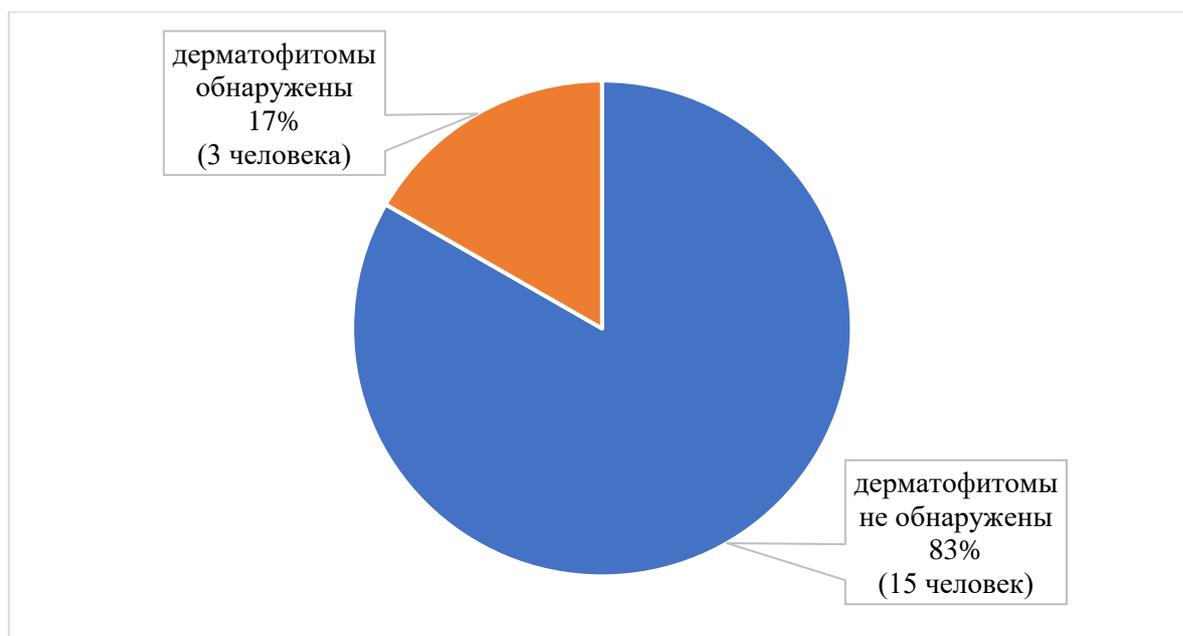


Рисунок 11 – частота встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом после лечения.

Возрастную группу 61-68 лет составляли 11 человек, у 5 из них были выявлены дерматофитомы. У 7 человек в возрасте 50-60 лет дерматофитомы не были обнаружены (рисунок 11).

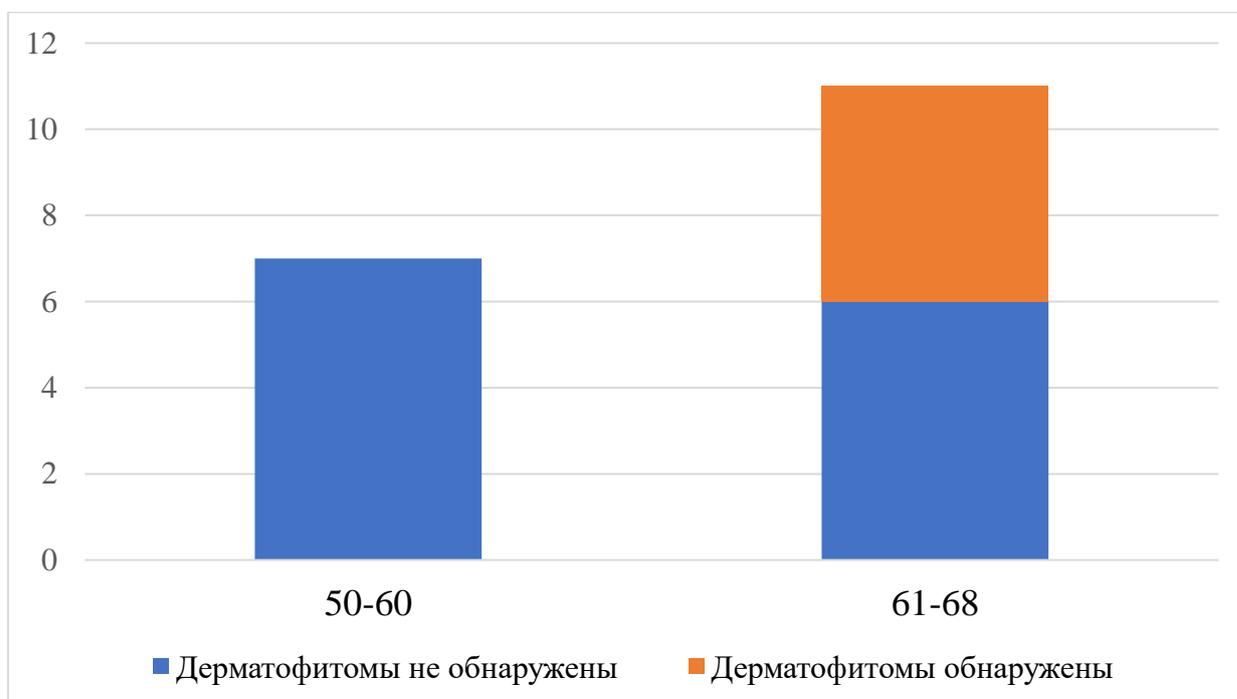


Рисунок 12 – частота встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом по возрастам. По вертикали – количество исследуемых пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Онихомикоз представляет собой широко распространенное инфекционное заболевание ногтевых пластинок и окружающих их структур: ногтевого ложа, ногтевых валиков и матрикса. Возбудителями данного заболевания являются патогенные или условно-патогенные грибы. Главная роль в этиологии онихомикозов принадлежит грибам рода *Trichophyton*. Данное заболевание является актуальной проблемой современной медицинской микологии.

Способность дерматофитов разрушать кератин обуславливается наличием у них рецепторов прилипания и ферментов кератиназы, липазы, и коллагеназы. Вследствие поражения ногтевой пластины грибами, происходит ее деформация, разрушение и отсоединение от ногтевого ложа.

Риск повторного заражения остается даже несмотря на ликвидацию грибковой инфекции после противогрибковой терапии.

Дерматофитомы (микотические образования), формирующиеся в толще ногтевой пластины, недоступны воздействию антимикотического препарата, и, в связи с этим, являются одной из причин неудач лечения онихомикоза и его рецидивов.

Цитологические методы, являющиеся на сегодняшний день основными при диагностике онихомикозов, позволили обнаружить элементы гриба – дерматофитомы.

В работе впервые изучено влияние дерматофитом, которые могут быть причиной длительного течения болезни и ее рецидивов, на динамику лечения больных онихомикозом.

ВЫВОДЫ

1. У всех 18 исследуемых пациентов с диагнозом онихомикоз был выделен гриб-дерматофит *Trichophyton rubrum*, принадлежащий к роду *Trichophyton* из отдела аскомицетов.
2. В микропрепаратах гриба выявлены дерматофитомы, дающие положительную окраску по Граму, которые могут быть причиной низкой эффективности антимикотических препаратов и рецидивов заболевания.
3. Частота встречаемости дерматофитом у больных онихомикозом до и после лечения составляет 28% (5 человек) и 17% (3 человека) соответственно, входящих в возрастную группу от 61 до 68 лет. У 3х пациентов с дерматофитомами в цитологических препаратах после лечения в анамнезе были такие сопутствующие заболевания, как: сахарный диабет и варикозное расширение вен.
4. Цитологические методы являются основными при диагностике онихомикозов. Благодаря им возможно быстро и эффективно выявить грибковую инфекцию, что позволяет начать своевременную терапию, и использовать их для выявления элементов гриба в виде скоплений спор, объединенных общей полисахаридной оболочкой – дерматофитом после лечения антимикотиками.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонов В.А., Липницкий Ф.В. Современная таксономия возбудителей особо опасных микозов (обзор) // Проблемы медицинской микологии. – 2005.
2. Белоусова Т.А. Онихомикозы: особенности современного течения и рациональные терапевтические решения // РМЖ. – 2007. – №19. – 1383с.
3. Богуш П.Г., Лещенко В.М. Орунгал в терапии онихомикозов у больных сахарным диабетом // РЖКВБ. – 2001. – № 3. – С. 42-43.
4. Васильев Д.А., Золотухин С.Н., Корнеев Е.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: УГСХА, 2003. – С. 23-24, 54-57
5. Гараева З.Ш., Юнусова Е.И., Юсупова Л.А. Особенности современного течения и терапии онихомикоза // Лечащий врач. – 2017. – №11.– С. 7-10.
6. Егорова М.А., Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
7. Жукова О.В. Современные методы наружной терапии онихомикозов // Клиническая дерматология и венерология. – 2012. – №5. – С. 76-79.
8. Иванов О.Л. Диагностика и лечение микозов кожи, волос и ногтей // Лечащий врач. – 2001. – №4. – С. 12-15.
9. Иванов О.Л., Ломоносов К.М. Цыкин А.А. К диагностике онихомикозов // Альманах клинической медицины. – 2007. – Т.15.
10. Кириллова Н.Н., Стерлигова Н.Д., Туманян А.А. К лабораторной диагностике онихомикозов. Успехи медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2006. – 8384с. (Под ред. Ю. В. Сергеева; Т. 8.).
11. Климко Н.Н., Потехаев Н.Н., Потехаев Н.С. Роль тербинафина (ламизила) в терапии онихомикоза // Вестник дерматологии и венерологии. – 2006. – №1. – С. 19-31.
12. Кожичкина Н.В. Плесневой онихомикоз (диагностика, клиника, лечение и профилактика): дис. ...канд. мед. наук: 14.00.11. Кожичкина Наталья Владимировна. – Москва, 2005. – 125с.

13. Концевая И.И. Микробиология: практическое пособие для студентов. – Гомель: УО «ГГУ им. Ф. Скорины», 2011. – 126с.
14. Корнишева В.Г. Дерматомикозы. – СПб, 2015. – С. 98-99.
15. Корнишева В.Г. Фотодинамическая терапия онихомикоза (обзор) // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т. 17. – №1. – С. 3-7.
16. Круглова Л.С., Куратова И.В., Цыкин А.А. К вопросу о профилактических мероприятиях при онихомикозах // Клиническая дерматология и венерология. – 2014. – Т.12. – №5. – С. 54-57.
17. Кубанова А.А., Потехаев Н.Н., Потехаев Н.С. Руководство по практической микологии. – М.: Финансовый издательский дом «Деловой экспресс», 2001. – 141с.
18. Кудрина М.И., Потехаев Н.Н., Потехаев Н.С. Дерматофитии в геронтологии: Критерии распознавания и принципы лечения // “Вестник дерматологии и венерологии”. – 1999. – №5. – С. 12-15.
19. Лещенко В.М. Онихомикозы // Consilium Medicum. – 2005. – Т.7. – №1. – С. 27-31.
20. Ломоносов К.М., Цыкин А.А. Онихомикоз: этиология, диагностика, клиника и лечение // РМЖ. – 2007. – №19. – 1371с.
21. Лысенко В.И., Потехаев Н.Н. Заболевания кожи: диагностика, лечение, профилактика // Медицина для всех. – 2001. – № 2.
22. Медведева Т.В. Онихомикозы // Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т.7. – № 4. – С. 12-18.
23. Местная и комбинированная терапия онихомикозов. Пособие для врачей. (Под ред. Ю.В. Сергеева). – М.: Национальная академия микологии, 2003. – 32с.
24. Национальная академия микологии. Общероссийская общественная организация. Школа миколога. Курс-семинар «Онихомикоз». – 2016. – 45с.
25. Пархоменко Ю.Г., Потехаев Н.Н., Потехаев Н.С. Патогистологические особенности дерматофитийного онихомикоза // “Архив патологии”. – 2001. – Т.8. – С. 51-54.

26. Потекаев Н.С. Программа лечения онихомикоза у взрослых // РМЖ. – 2005. – №5. – 249с.
27. Потекаев Н.Н. Онихомикоз // РМЖ. – 2001. – №3. – 138с.
28. Потекаев Н.Н., Потекаев Н.С., Рукавишникова В.А. Ламизил: 10 лет в России. – 2003. – 96с.
29. РОДВК Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология. – М.: Деловой экспресс, 2016. – С. 275-284.
30. Рукавишникова В.М. Микозы стоп. – М.: 2003. – 317с.
31. Салий Е.А. Онихомикоз – современные взгляды и подходы к решению проблемы // ДВКС. – 2013.
32. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Онихомикозы. Грибковые инфекции ногтей. – М.: Геотар-Медицина, 1998. – С.14-22, 33-42, 75-120.
33. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции (руководство для врачей). – М.: ООО «Бином-пресс», 2003. – С. 185-193.
34. Сергеев В.Ю., Сергеев Ю.Ю. Дерматоскопическая диагностика и стратегия ранней интервенции при онихомикозе // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2017. – №2. – С. 52-60.
35. Сергеев А.Ю. Грибковые заболевания ногтей. – М.: «Медицина для всех» – Национальная академия микологии, 2001. – 160с.
36. Сергеев А.Ю. Руководство по лабораторной диагностике онихомикозов. – М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. – 154с.
37. Сергеев А.Ю. Эволюция антимикотиков и революции в терапии микозов // Успехи медицинской микологии. – 2002. – №1. – С. 111-2.
38. Филиппова И.В. Онихомикоз (грибок ногтей) – симптомы и лечение // ПроБолезни. – 2019.
39. Юсупова Л.А. Иммунопатология хронических дерматозов. – М.: Казань: Участок роторной печати НБ КГМА, 2017. – 108 с.
40. Юсупова Л.А. Современное состояние проблемы онихомикозов // Медэксперт. – 2015. – №1. – С. 49-54.

41. Alley M.R., Baker S.J., Beutner K.R. Recent progress on the topical therapy of onychomycosis // *Expert Opin Investig Drugs*. – 2007. – №16. – P. 157-167.
42. Aly R. Ecology and epidemiology of dermatophyte infections // *J Am Acad Dermatol*. – 1994; – №31. – 21p.
43. Bagheri B., Moossavi M., Scher R.K. Systemic antifungal therapy // *Dermatol. Clin*. – 2001; – V. 19. – P. 35-52.
44. Baran R., *Onychomycosis: the current approach to diagnosis and therapy* // London: Malden MA, 1999.
45. Barton R.C., Yazdanparast S.A. Arthroconidia production in *Trichophyton rubrum* and a new ex vivo model of onychomycosis // *J Med Microbiol* 55. – 2006. – P. 1577-1581.
46. Burgdooorf W., Paus R., Sterrj W. *Dermatology* // Germany, 2006.
47. Cham P.M., Chen S.C., Grill J. P. Validity of self-reported nail counts in patients with onychomycosis: A retrospective pilot analysis // *J. Am. Acad. Dermatol*. – V. 58. – №1. – P. 136-141.
48. Ellis D.H., Marley J.E., Watson A.B., Mycology Unit. *Woman's and Children's Hospital* // North Adelaide Australia, 2006.
49. Epstein E. How often does oral treatment of toenail onychomycosis produce a disease-free nail? An analysis of published data // *Arch Dermatol*. – 1998. – V. 134. – №12. – P. 1551-1554.
50. Favre B., Leitner I, Osborne C.S., Antifungal drug response in an in vitro model of dermatophyte nail infection // *Med Mycol*. – 2004. – №42. – P. 159-163.
51. Gene J., Guarro J., Hoog G.S. *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed. Utrecht-Reus, 2000.
52. Ghannoum M.A., Long L., Pfister W.R. Determination of the efficacy of terbinafine hydrochloride nail solution in the topical treatment of dermatophytosis in a guinea pig model // *Mycoses*. – 2009. – №52. – P. 35-43.
53. Ghannoum M., Herbert J., Isham N. Activity of TDT 067 (Terbinafine in Transfersome) against Agents of Onychomycosis, as Determined by Minimum

Inhibitory and Fungicidal Concentrations // *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – №49. – P. 1716-1720.

54. Ghannoum M.A., Mukherjee P.K., Warshaw E.M., et al. Molecular analysis of dermatophytes suggest spread of infection among household members // *Cutis.* – 2013. – №91. – P. 37-246.

55. Gupta A.K., Jain H.C., Lynde C.W., et al. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter Canadian survey of 15,000 patients // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2000. – №43. – P. 244-248.

56. Gupta A.K., Simpson F.C. Laser therapy for onychomycosis // *J. Cutan. Med. Surg.* – 2013. – №17. – P. 301-307.

57. Harris F., Pierpoint L. Photodynamic therapy based on 5-aminolevulinic acid and its use as an antimicrobial agent // *Med Res Rev.* – 2012. – №32. – P. 1292-1327.

58. Havu Andre J.V. European experience with itraconazole puls therapy in the treatment of toenail onychomycosis // *Proceedings of the II International Symposium on Onychomycosis, Florence.* – 1995. – P. 22-25.

59. Lipner S.R., Scher R.K. Onychomycosis: Clinical overview and diagnosis // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2019. – V. 80. – №4. – P. 835-851.

60. Olafsson J.H., Sigurgeirsson B., Steinsson J., et al. Long-term effectiveness of treatment with terbinafine vs itraconazole in onychomycosis: a 5-year blinded prospective follow-up study // *Arch. Dermatol.* – 2002. – №138. – P. 353-7.

61. Ortiz A.E., et al. A Review of lasers and light for the treatment of onychomycosis // *Lasers in Surgery and Medicine.* – 2014. – №46. – P. 117-124.