WIADOMOŚCI PARAZYTOLOGICZNE
T. 48 (4) 2002: 333–342

PRACE ORYGINALNE

PODATNOŚĆ PŁYTEK PAZNOKCIOWYCH NA ZAKAŻENIA *SCOPULARIOPSIS BREVICAULIS*

ANNA B. MACURA, BOLESŁAW PAWLIK, MAGDALENA PERUN I MONIKA KRÓL

Zakład Mykologii, Katedra Mikrobiologii Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, ul. Czysta 18, 31-121 Kraków; E-mail: abmacura@poczta.onet.pl

ABSTRACT. Nail plate susceptibility to *Scopulariopsis brevicaulis* infection. Experimental *Scopulariopsis brevicaulis* infection of toe and finger nails collected from 79 persons of both sexes and at various age is presented. Crumbled nail fragments were incubated with a *S. brevicaulis* strain isolated from toenail *acauliosis*. The culture was inspected and evaluated under light microscope after seven days of incubation. Hyphe intensively penetrating nail fragments were found in 67.1% of toenails and 38% of fingernails. The infection was most intensive in the nails collected from males and elderly persons.

Key words: acauliosis, nail mycosis, *Scopulariopsis brevicaulis*.

WSTĘP

W zakażeniach człowieka grzybami pleśniowymi, które są wszechobecne w środowisku człowieka, duże znaczenie odgrywa stan jego odporności oraz wielkość ekspozycji organizmu na grzyby pleśniowe. Największe stężenie grzybów pleśniowych spotyka się w kurzu i w miejscach rozkładającej się materii organicznej. Zakażenia paznokci mogą być wywołane przez różne gatunki grzybów pleśniowych, zwłaszcza jako procesy wtórne po uszkodzeniu płytki, powstałym w wyniku urazu lub innej choroby. Pleśnica paznokci to schorzenie ludzi starszych, cierpiących na zaburzenia krążenia, żylaki, schorzenia ortopedyczne w zakresie stóp oraz cukrzycę. Czynnikami etiologicznymi pleśnicy paznokci są najczęściej grzyby z rodzaju *Scopulariopsis, Aspergillus, Alternaria* i *Chaetomium* (Ramani i wsp. 1993; Chang i Logemann 1994; Maleszka 1994, 1998; Baran 1998).

Scopulariopsis brevicaulis jest często znajdowany w glebie i/lub jako saprofit roślin, w piórach ptaków, we włosach ssaków oraz w ludzkich paznokciach. Jego rola w patogenezie grzybicy paznokci jest sprawą kontrowersyjną. Może

on być pierwotnym czynnikiem etiologicznym grzybicy paznokci lub wtórnym atakującym w wyniku wcześniejszego urazu czy też istniejącej choroby paznokci, np. zakażenia dermatofitami (Plomer-Niezgoda 1997, Filipello Marchisio i wsp. 2000, Filipello Marchisio i Fusconi 2001).

Celem pracy była ocena podatności na zakażenie grzybem pleśniowym *S. brevicaulis* opiłków paznokciowych stóp i rąk, pochodzących od osób w różnym wieku i obojga płci, za pomocą opracowanej przez nas metody zakażania w laboratorium (*ex vivo*).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań pochodził od 79 zdrowych osób (45 kobiet i 34 mężczyzn) w wieku od 6 do 86 lat, które nie stosowały leków przeciwgrzybiczych. Fragmenty płytek paznokciowych rąk i stóp przed zakażeniem były rozdrabniane na części o wymiarach około 1 × 1 mm; następnie poddawano je procesowi sterylizacji w autoklawie w temperaturze 121°C przez 15 minut. Do zakażania opiłków paznokciowych używano jednego szczepu *S. brevicaulis*, wyizolowanego z paznokcia palucha pacjenta z objawami klinicznymi grzybicy paznokci stóp. Inokulum stanowiła zawiesina 5×10^7 form tworzących kolonie, uzyskana w wyniku roztarcia hodowli grzybów w moździerzu do tkanek. Zakażanie wywoływano dodając po 0,3 ml inokulum do wyjałowionych, rozdrobnionych fragmentów paznokci w probówkach. Inkubację przeprowadzano w temp. 27°C przez 7 dni. Efektywność zakażenia oceniano na podstawie preparatów rozjaśnionych roztworem o składzie: 20 ml DMSO, 10 g KOH, 2,5 ml gliceryny, 30 ml wody destylowanej. Do przygotowania preparatów używano fragmentów opiłków paznokciowych, które zostały bardzo dokładnie przepłukane (dwukrotnie w soli fizjologicznej na wytrząsarce) w celu usunięcia ewentualnej powierzchniowej hodowli grzyba. Ocena mikroskopowa polegała na wykazaniu obecności nitek grzybni wrastających do fragmentów płytki paznokciowej lub braku ich obecności (−). Intensywność zakażenia oceniano w skali od (+) do (+ + +): słabe (+) − pojedyncze wrastające nitki; średnie (+ +) − liczniejsze nitki wrastające do powierzchni opiłka; intensywne (+ + +) − bardzo liczne nitki grzybni. Uzyskane wyniki dokumentowano wykonując w Pracowni Mikroskopii AGH w Krakowie zdjęcia pod mikroskopem elektronowym skaningowym wybranych paznokci oraz badanego szczepu z hodowli.

WYNIKI

Spośród 79 osób, od których pobrano opiłki paznokciowe, w grupie do 24 lat znalazło się 35 osób, w grupie od 25. do 59. r. życia − 27 osób oraz w grupie od 60. r. życia − 17 osób. W Tabeli 1 przedstawiono wyniki podatności płytek paznokciowych rąk na zakażenie *S. brevicaulis* w zależności

Tabela 1. Podatność płytek paznokciowych rąk na zakażenie *S. brevicaulis* w różnych grupach wiekowych

Wiek	Intensywność zakażenia paznokci				Ogółem (liczba przypadków)
	–	+	++	+++	
⩽ 24	2	9	14	10	35
25–59	1	5	11	10	27
⩾ 60	0	0	7	10	17
Ogółem	3	14	32	30	79
%	4,79	17,7	40,5	38,0	100

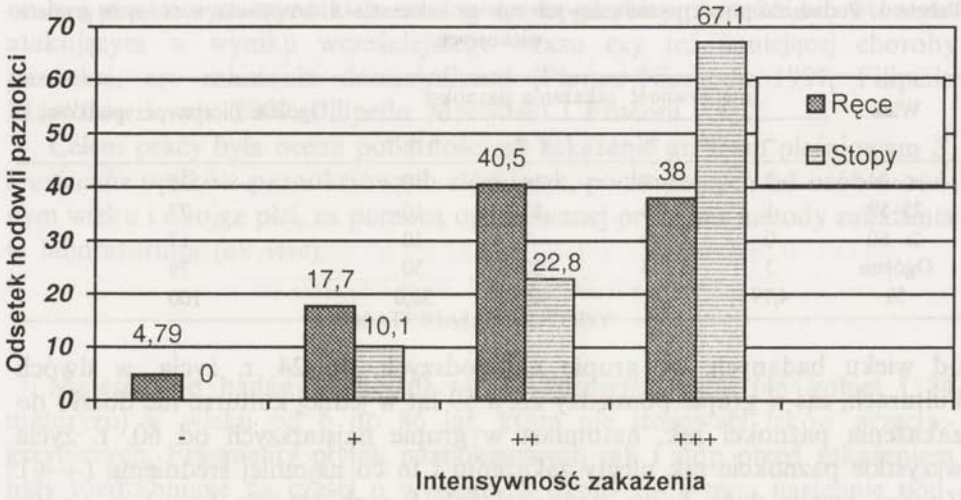
od wieku badanych. W grupie najmłodszych, do 24. r. życia, w dwóch kulturach, zaś w grupie pomiędzy 25. a 59 lat w jednej kulturze nie doszło do zakażenia paznokci rąk, natomiast w grupie najstarszych od 60. r. życia wszystkie paznokcie rąk uległy zakażeniu i to co najmniej średniemu (++). Zwraca uwagę duża liczba paznokci zakażonych średnio (++) w grupie najmłodszych, bo 14 na 35 badanych, co stanowi 40% tej grupy. Zakażeniu intensywnemu uległo po 10 paznokci w każdej grupie.

W Tabeli 2 przestawiono podatność płytek paznokciowych stóp na zakażenie *S. brevicaulis* w różnych grupach wiekowych. Wszystkie objęte badaniami fragmenty płytek paznokciowych uległy zakażeniu. W grupie najmłodszych (do 24. r. życia) najwięcej było paznokci zakażonych intensywnie i średnio – odpowiednio 20 i 9. W grupie najstarszych (17 osób) najwięcej paznokci (15 hodowli) uległo zakażeniu intensywnemu, tylko w pozostałych 2 hodowlach z tej grupy zakażenie było średnie.

Tabela 2. Podatność płytek paznokciowych stóp na zakażenie *S. brevicaulis* w różnych grupach wiekowych

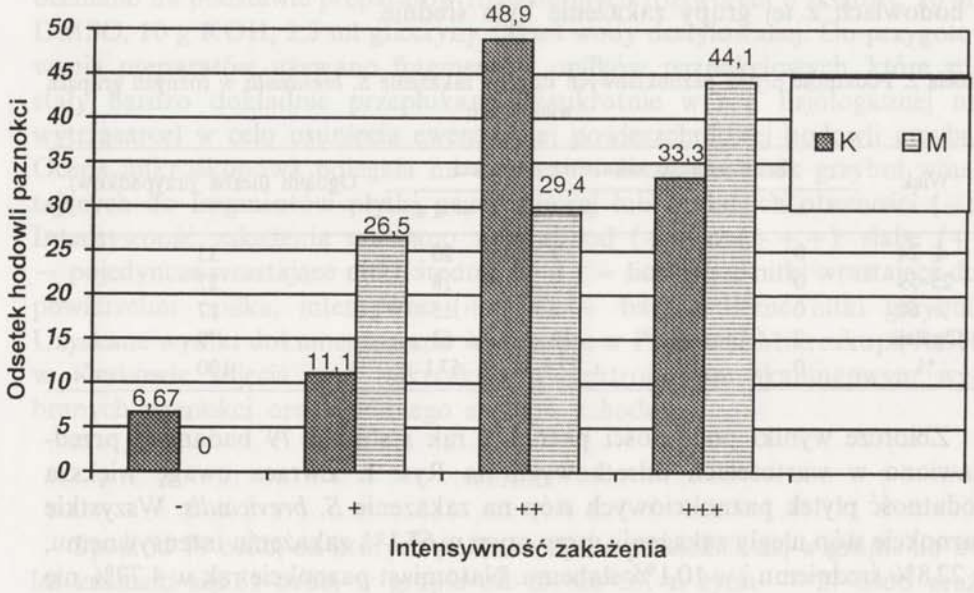
Wiek	Intensywność zakażenia paznokci				Ogółem (liczba przypadków)
	–	+	++	+++	
⩽ 24	0	6	9	20	35
25–59	0	2	7	18	27
⩾ 60	0	0	2	15	17
Ogółem	0	8	18	53	79
%	0	10,1	22,8	67,1	100

Zbiorcze wyniki podatności paznokci rąk i stóp u 79 badanych przedstawiono w wartościach odsetkowych na Rys. 1. Zwraca uwagę większa podatność płytek paznokciowych stóp na zakażenie *S. brevicaulis*. Wszystkie paznokcie stóp uległy zakażeniu, przy czym w 67,1% zakażeniu intensywnemu, w 22,8% średniemu i w 10,1% słabemu. Natomiast paznokcie rąk w 4,79% nie uległy zakażeniu, najwięcej, bo w 40,5% – średniemu i w 38% – intensywnemu.

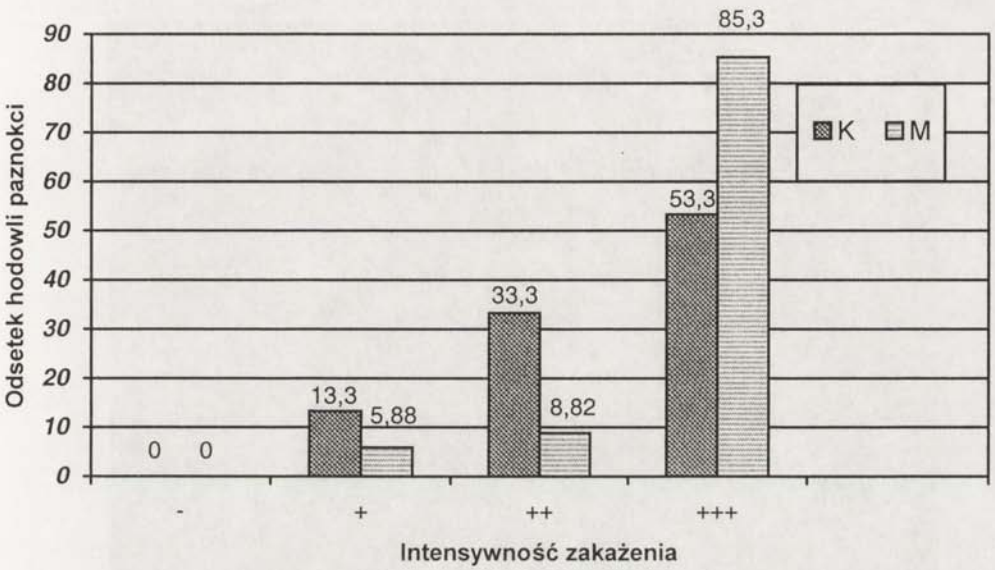


Rys. 1. Podatność płytek paznokciowych rąk i stóp na zakażenie *S. brevicaulis* – wyniki zbiorcze

Na Rys. 2 przedstawiono podatność płytek paznokciowych rąk na zakażenie *S. brevicaulis* w zależności od płci. Wszystkie paznokcie pobrane z rąk mężczyzn uległy zakażeniu, najczęściej, w 44,1% – intensywnemu i w 29,4% – średniemu. Paznokcie rąk kobiet zakażone były w średnim stopniu aż w 48,9% kultur, w 33,3% uległy zakażeniu intensywnemu, natomiast w 6,67% w ogóle nie uległy zakażeniu.



Rys. 2. Podatność płytek paznokciowych rąk na zakażenie *S. brevicaulis* w zależności od płci. K – kobiety, M – mężczyźni



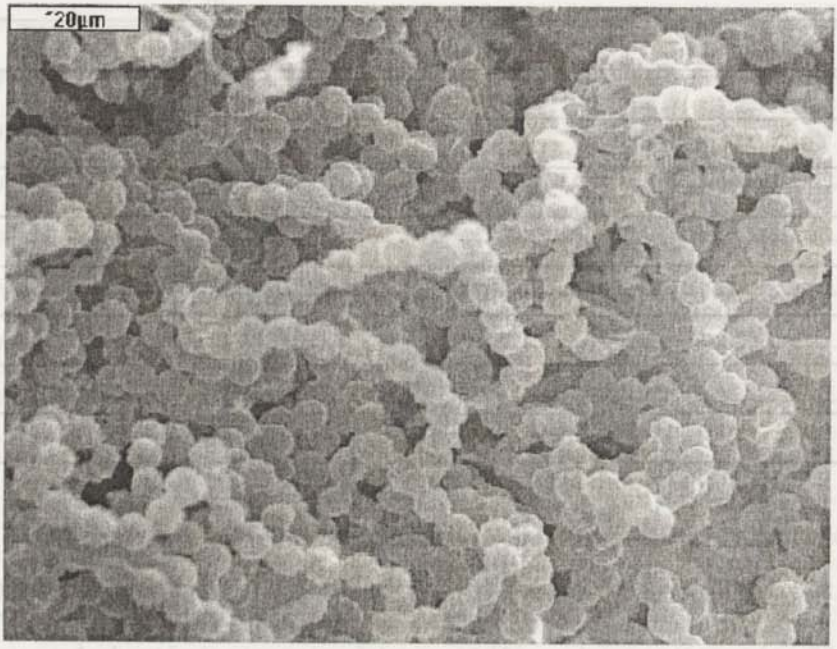
Rys. 3. Podatność płytek paznokciowych stóp na zakażenie *S. brevicaulis* w zależności od płci. K – kobiety, M – mężczyźni

Na Rys. 3 zbiorczo przedstawiono podatność płytek paznokciowych stóp na zakażenie *S. brevicaulis* w zależności od płci. Wszystkie paznokcie stóp mężczyzn uległy zakażeniu, przy czym w bardzo wysokim odsetku – 85,3% – było to zakażenie intensywne. Tylko 8,82% paznokci uległo średniemu i 5,88% słabemu zakażeniu. Paznokcie stóp kobiet również wszystkie uległy zakażeniu, najczęściej intensywnemu – 53,3% i średniemu – 33,3%.

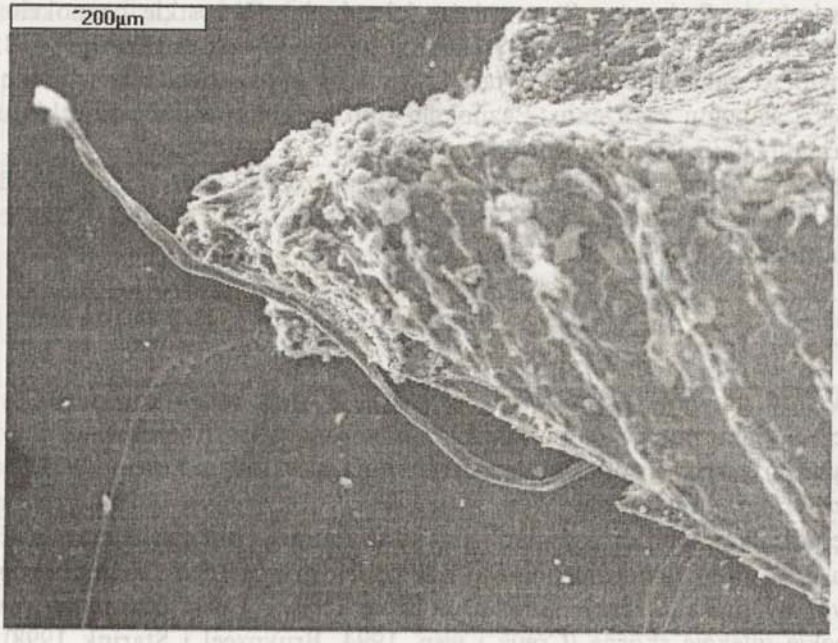
Na Rys. 4 przedstawiono obrazy badanego szczepu *S. brevicaulis* z hodowli. Natomiast na rysunkach 5, 6 i 7 paznokcie stóp i rąk zakażone szczepem *S. brevicaulis*.

DYSKUSJA

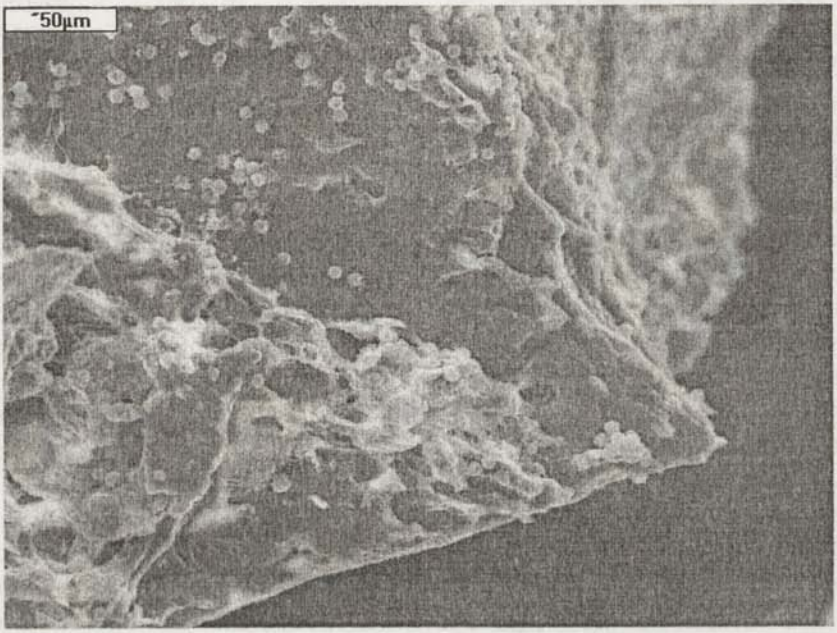
Wśród grzybów pleśniowych, w strefie klimatu umiarkowanego, istotne znaczenie jako potencjalne czynniki etiologiczne grzybic, uznawane są przede wszystkim grzyby z rodzaju *Aspergillus* oraz następne w kolejności z rodzaju *Scopulariopsis*, z najważniejszym gatunkiem *S. brevicaulis* wywołującym akauliozę paznokci. Oprócz paznokci, grzyby te sporadycznie mogą atakować inne tkanki. W piśmiennictwie opisano przypadek grzybiczego zapalenia rogówki wywołany przez *S. brevicaulis* (Del Prete i wsp. 1994). Znane są również głębokie infekcje skórne (Creus i wsp. 1994, Bruynzeel i Starink 1998) oraz zapalenie wsierdzia związane z kolonizacją przez *S. brevicaulis* sztucznych



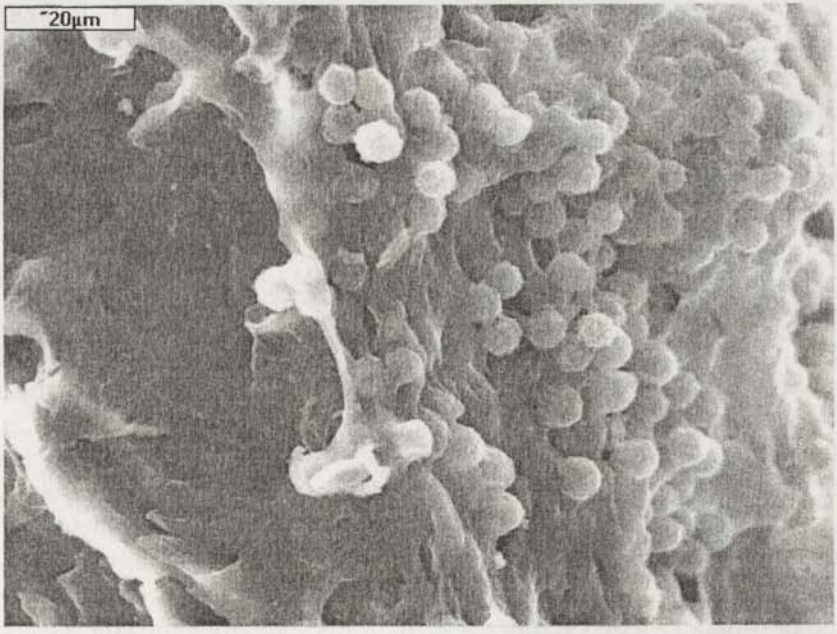
Rys. 4. Badany szczep *S. brevicaulis* z hodowli. Powiększenie 1000x



Rys. 5. Paznokcie rąk zakażone intensywnie. Powiększenie 150x



Rys. 6. Paznakcie stóp zakażone intensywnie. Powiększenie 350x



Rys. 7. Paznakcie stóp zakażone intensywnie. Powiększenie 1000x

zastawek serca (Gentry i wsp. 1995, Migrino i wsp. 1995). Najczęściej te inwazyjne grzybice występują u pacjentów z obniżoną opornością (Neglia i wsp. 1987).

Istnieje szereg doniesień w literaturze, które sugerują zależność pomiędzy aktywnością biochemiczną poszczególnych grzybów, a ich patogennością. Powierzchnia nabłonka żywiciela stanowi główną przeszkodę dla biernego wnikania grzybów (Plomer-Niezgoda 1997, Filipello Marchisio i wsp. 2000, Filipello Marchisio i Fusconi 2001). Wydaje się, że ich wnikanie jest uzależnione od enzymatycznego rozkładu makrocząsteczek powierzchniowych, w tej liczbie również keratyn. Znajdujące się w skórze, włosach i paznokciach α-keratyny są bardzo odporne na rozkładanie przez drobnoustroje, ponieważ ich łańcuchy polipeptydowe są ciasno upakowane w postaci α-helix i połączone mostkami dwusiarczkowymi. Można więc przypuszczać, że aktywność keratolityczna drobnoustroju warunkuje jego wirulencję. Dotychczas nie ma przekonujących dowodów na istnienie silnej aktywności keratolitycznej u grzybów *S. brevicaulis*, natomiast działanie takie zostało wykazane u innych gatunków z rodzaju *Scopulariopsis* (Filipello Marchisio i Fusconi 2001). Należy jednak rozróżnić dwa rodzaje drobnoustrojów kolonizujących substrat keratynowy. Postacie keratynolityczne mają zdolność trawienia α-keratyny, natomiast postacie keratynofilne potrafią zużytkować jedynie substancje występujące w naturalnych warunkach razem z keratynami, bądź będące produktem ich rozkładu. U *S. brevicaulis* wykazano obecność dwóch proteaz zewnątrzkomórkowych, zdolnych do degradacji białek, nie będących keratyną. Proteazy te jednak nie są w stanie rozerwać mostków dwusiarczkowych w keratynie, co jest pierwszym krokiem w procesie jej rozkładu. Z medycznego punktu widzenia, wykazanie działania keratolitycznego niektórych szczepów *S. brevicaulis*, obojętnie w jakim stopniu skutecznego, pozwala uznać ten drobnoustrój za patogen pierwotny, zdolny do przełamania barier nabłonkowych i wykorzystania keratyny jako źródła węgla, azotu i siarki (Filipello Marchisio i wsp. 2000).

Nasze dotychczasowe badania, prowadzone od 1972 roku nad florą mikologiczną izolowaną z paznokci pacjentów zgłaszających się z powodu zmian klinicznych płytek paznokciowych, wykazały zmniejszanie się liczby przypadków akauliozy paznokci. O ile w latach 70. i 80. stwierdzano obecność tych grzybów w paznokciach stóp mężczyzn w 19,6%, a u kobiet 17,3%, o tyle w latach 90. odsetki te wynosiły odpowiednio 8,19% i 6,35%. Podobny spadek izolacji grzybów *S. brevicaulis* zaobserwowano w przypadku paznokci rąk. Przed ponad 20 laty izolowano je od mężczyzn w 10,1%, a od kobiet w 5,78%, natomiast w ostatnim dziesięcioleciu tylko w 1,55% z paznokci rąk mężczyzn i w 1,29% z paznokci rąk kobiet. W tym samym okresie zanotowano wzrost zakażeń paznokci wywołanych przez dermatofity i grzyby z rodzaju *Aspergillus* (Macura i wsp.1984, Macura i Pawlik 1998).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że płytki paznokciowe stóp są bardziej podatne na zakażenie *S. brevicaulis*, aniżeli paznokcie rąk. Intensywnemu zakażeniu uległo 67,1% paznokci stóp i 38% rąk. Wszystkie kultury paznokci stóp uległy zakażeniu, natomiast 4,79 paznokci rąk w ogóle nie uległo zakażeniu. Również obserwacje kliniczne i epidemiologiczne potwierdzają, że *S. brevicaulis* jest częściej izolowany z opiłków paznokciowych stóp. Wykazano też, że płytki paznokciowe osób starszych łatwiej ulegają zakażeniu, aniżeli osób młodych. Podobnie różnice zaobserwowano w zależności od płci osób od których pochodziły paznokcie. Wyższą podatność na zakażenie płytek paznokciowych *S. brevicaulis* stwierdzono u mężczyzn, i to zarówno dla rąk, jak i dla stóp – ze szczególnie zaznaczoną różnicą w przypadku płytek paznokciowych stóp. Paznokcie stóp mężczyzn ulegały intensywnemu zakażeniu aż w 85,3%. Z danych z literatury oraz własnych obserwacji wynika, że akaulioza dotyczy przede wszystkim paznokci paluchów stóp, najczęściej atakując je u osób starszych (Macura i wsp. 1984, Ramani i wsp. 1993, Baran 1998, Maleszka 1998).

Przeprowadzone badania zakażania płytek paznokciowych w warunkach laboratoryjnych jednym szczepem *S. brevicaulis* pozwoliło na ocenę podatności na zakażenie paznokci pochodzących od różnych osób. W naszych dotychczasowych badaniach prowadzonych nad wrażliwością paznokci na zakażenie dermatofitem *Trichophyton mentagrophytes* (Macura i Pawlik 2001) oraz grzybem pleśniowym *Aspergillus flavus* (Macura i Pawlik 2002) otrzymaliśmy duże różnice w podatności. Dermatofit wnikał w głąb paznokcia, dając intensywne zakażenie wraz z destrukcją paznokcia, natomiast szczep *A. flavus* zakażał opiłki paznokciowe średnio lub słabo, zdecydowanie słabiej niż *S. brevicaulis*. Jest to o tyle interesujące, że częściej z materiałów klinicznych izoluje się grzyby z rodzaju *Aspergillus* niż *Scopulariopsis*. Wydaje się, że różnica ta wystąpiła dlatego, iż gatunkiem bardziej patogennym i najczęściej izolowanym ze zmian klinicznych jest niebadany przez nas *Aspergillus fumigatus* (Plomer-Niezgoda 1997).

LITERATURA

Baran E. 1998. Zakażenia skóry i paznokci wywołane grzybami pleśniowymi. W: *Zarys mikologii lekarskiej* (Red. E. Baran). Volumed, Wrocław, 343–348.

Bruynzeel I., Starink T.M. 1998. Granulomatous skin infection caused by *Scopulariopsis brevicaulis*. *Journal of American Academy of Dermatology* 39: 365–367.

Chang P., Logemann H. 1994. Onychomycosis in children. *International Journal of Dermatology* 33: 550–551.

Creus L., Umbert P., Torres-Rodriguez J.M., Lopez-Gil F. 1994. Ulcerous granulomatous cheilitis with lymphatic invasion caused by *Scopulariopsis brevicaulis infection*. *Journal of American Academy of Dermatology* 31: 8881–8883.

Del Prete A., Sepe G., Ferrante M., Loffredo C., Masciello M., Sebastiani A. 1994. Fungal keretitis due to *Scopulariopsis brevicaulis* in an eye previously suffering from herpetic keratitis. *Ophthalmologica* 208: 333–335.

Filipello Marchisio V.F., Fusconi A. 2001. Morphological evidence for keratinolytic activity of *Scopulariopsis* spp. isolates from nail lesions and the air. *Medical Mycology* 39: 287–294.

Filipello Marchisio V.F., Fusconi A., Querio F.L. 2000. *Scopulariopsis brevicaulis*: a keratinophilic or a keratinolytic fungus? *Mycoses* 43: 281–292.

Gentry L.O., Nasser M.M., Kielhoffner M. 1995. *Scopulariopsis endocarditis* associated with Duran ring valvuloplasty. *Texas Heart Institute Journal* 22: 81–85.

Macura A.B., Pawlik B. 1998. Analiza flory mykologicznej wywołującej grzybice powierzchniowe w ostatnim dziesięcioleciu. *Postępy Dermatologii* 15: 51–61.

Macura A.B., Pawlik B. 2001. Podatność płytek paznokciowych na zakażenia dermatofitami – badania eksperymentalne. *Przegląd Dermatologiczny* 88: 333–337.

Macura A.B., Pawlik B. 2002. Podatność płytek paznokciowych na zakażenie *Aspergillus flavus* – badania eksperymentalne. *Przegląd Dermatologiczny* 89: 49–54.

Macura A.B., Laskownicka Z., Macura C. 1984. Fungi causing superficial cutaneous mycoses in the district of Cracow. Part two: The incidence of yeast-like fungi and moulds. *Mycosen* 27: 102–106.

Maleszka R. 1994. Problemy diagnostyczne w grzybicy paznokci. *Postępy Dermatologii* 31: 78–81.

Maleszka R. 1998. Grzybica paznokci. W: Zarys mikologii lekarskiej (Red. E. Baran). Volumed, Wrocław, 349–372.

Migrino R.Q., Hall G.S., Longworth D.L. 1995. Deep tissue infections caused by *Scopulariopsis brevicaulis* report of a case of prosthetic valve endocarditis and review. *Clinic of Infectious Diseases* 21: 672–674.

Neglia J.P., Hurd D.D., Ferrieri P., Snover D.C. 1987. Invasive *Scopulariopsis* in the immunocompromised host. *American Journal of Medicine* 83: 1163–1166.

Plomer-Niezgoda E. 1997. Patogenność wybranych grzybów pleśniowych. *Mikologia Lekarska* 4: 179–183.

Ramani R., Srinivas C,R,. Ramani A. 1993. Moulds in onychomycosis. *International Journal of Dermatology* 32: 877–878.