WIADOMOŚCI PARAZYTOLOGICZNE
T. 48 (4) 2002: 435–439

ANALIZA PREWALENCJI GRZYBÓW I ICH GATUNKÓW W PRZEWODZIE POKARMOWYM OSÓB DOROSŁYCH I DZIECI

MAREK KURNATOWSKI[1], KRYSTYNA WĄSOWSKA-KRÓLIKOWSKA[1] AND ALICJA KURNATOWSKA[2]

[1] Klinika Gastroenterologii i Alergologii Dziecięcej Instytutu Pediatrii, Uniwersytet Medyczny, ul. Sporna 36/50, 91-738 Łódź; [2] Katedra Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny, al. Kościuszki 85, 90-436 Łódź, E-mail: katbiol@poczta.onet.pl

ABSTRACT. Analyse of fungi prevalence and their species in the digestive tract of adult persons and children. 1081 faecal sample were examined, 723 from adult persons and 358 from children. Fungal strains were recovered in 67.9% samples from adult persons and in 69.8% from children. There were found 8 species of fungi: *Candida albicans, C. famata, C. tropicalis, C. krusei, C. glabrata, C. guilliermondii, C. kefyr, Saccharomyces cerevisiae.*

Key words: digestive tract, fungal infections.

WSTĘP

W ostatnich latach obserwuje się rosnącą częstość wykrywania grzybic narządowych, w tym – układu trawiennego; objawy choroby zależą od narządu objętego inwazją (Kurnatowska 1995, 2001; Budak 1998). Diagnostyka mikologiczna opiera się na hodowlach i mikrohodowlach różnych materiałów biologicznych na podłożach wybiórczych. W przypadku podejrzenia grzybicy układu trawiennego do badań wykorzystuje się kał lub wymaz z odbytu.

Celem wykonanej pracy była analiza prewalencji grzybów z określeniem gatunków w przewodzie pokarmowym osób dorosłych i dzieci na podstawie badania próbek kału.

MATERIAŁ I METODY

W latach 1996–2001 w Ośrodku Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic Katedry Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM w Łodzi zbadano 1081 próbek kału, 723 od osób dorosłych (grupa I) i 358 od dzieci (grupa II). Wszyscy pacjenci skarżyli się na dolegliwości ze strony narządów przewodu pokarmowego.

Praca realizowana w ramach działalności statutowej Nr 503-127
The paper has been financed from statutory fund No 503-127

Próbki kału umieszczano w podłożu płynnym Sabourauda i inkubowano w temperaturze 20°, 25° i 37°C, przez okres 24 h. Hodowle pozostawiano w temperaturze pokojowej przez następne 48 h, a następnie sporządzano preparaty bezpośrednie z osadu i błonki na powierzchni pożywki oceniając je w mikroskopie świetlnym (pow. 100 i 400 ×); dalsze preparaty kontrolne wykonywano po 5–10 i dalszych 10 i 20 dniach, w ten sam sposób. W przypadku stwierdzenia w nich elementów grzybów hodowlę przesiewano kilkakrotnie na agar Sabourauda, w celu wyizolowania aksenicznych szczepów, z pojedynczych kolonii. Szczepy grzybów wysiewano na płytki Petriego z agarem Sabourauda i pozostawiano w temperaturze pokojowej. Następnie określano cechy makroskopowe kolonii: barwa, kształt, połysk, brzegi, struktura powierzchni, stosunek do powierzchni agaru, zmiana jego barwy (podczas wzrostu grzyba). Ze wszystkich wyrosłych kolonii sporządzano preparaty bezpośrednie i oceniano wielkość komórek wegetatywnych, obecność strzępek lub pseudostrzępek, blastospor, chlamydospor lub innych zarodników, a także zdolność tworzenia specjalnych wytworów grzybni. Do dalszych badań mikroskopowych z każdego wyodrębnionego szczepu grzyba zakładano mikrohodowle na szkiełkach podstawowych lub nakrywkowych powleczonych cienką warstwą pożywki agarowej. Umieszczano je w komorach wilgotnych na okres od 2 do 20 dni, kontrolując w odstępach 48 godzinnych. Odrębnie w obecności surowicy ludzkiej wykonywano test „germ tubes".

Dalszą diagnostykę mikologiczną prowadzono w oparciu o kryteria biochemiczne, stosując system opracowany w Katedrze oraz testy bioMérieux API 20 C i API 20C AUX, z wykorzystaniem zasady numerycznej identyfikacji (Kurnatowska 1995).

Dla porównania wyników użyto wskaźnika różnicy istotnej t Fishera (liczba Studenta), wykorzystując błędy frakcji.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Prewalencja grzybów w układzie trawiennym u osób dorosłych (grupa I) wyniosła 67,9 ± 1,7%, zaś u dzieci (grupa II) 69,8 ± 5,9%; brak było różnicy statystycznie istotnej ($p > 0,05$) między tymi odsetkami. W grupie I porównano wyniki otrzymane w kolejnych okresach dwuletnich; dane te zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Prewalencja grzybów w układzie trawiennym w oparciu o dodatnie posiewy próbek kału osób dorosłych

Lata	Liczba badań	Liczba dodatnich posiewów kału	% ± s*
1996–1997	199	147	73,9 ± 3,1
1998–1999	149	107	71,8 ± 3,7
2000–2001	375	237	63,2 ± 2,5
Razem	723	491	67,9 ± 1,7

*s – błąd frakcji

W omawianym materiale najwyższą prewalencję grzybów uzyskano w latach 1996–1997 (73,9 ± 3,1%), najniższą zaś w latach 2000–2001 (63,2 ± 2,5%); wartość wskaźnika Fishera (t = 2,6763) świadczyła o istotności różnicy między omawianymi odsetkami ($p < 0,01$). Niełatwo wytłumaczyć ten wynik sugerujący obniżanie się prewalencji grzybów, gdyż pacjenci zgłaszają się do konsultacji w naszym Ośrodku ze skierowaniami od lekarzy – nie tylko z Łodzi, lecz także innych stron Polski – z podejrzeniem choroby pasożytniczej lub grzybicy. Osoby trafiające do analizy w kolejnych okresach dwuletnich były grupowane przypadkowo. Konieczne są dalsze badania, aby określić tendencję wzrostową lub spadkową prewalencji grzybów w układzie trawiennym osób dorosłych w regionie łódzkim.

Warto przypomnieć, że przed 20 laty, badając pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego i chorobami układu krążenia stwierdziliśmy, także metodą hodowli, prewalencję grzybów w przewodzie pokarmowym na poziomie 21–25% (Kurnatowska i wsp. 1980). Wyniki uzyskane w ostatnich latach są kilkakrotnie wyższe.

W grupie II uznano za ważne porównanie prewalencji grzybów w przewodzie pokarmowym w zależności od wieku dziecka, w 3 grupach badanych; wyniki podano w Tabeli 2.

Tabela 2. Prewalencja grzybów w układzie trawiennym w oparciu o dodatnie posiewy próbek kału dzieci

Wiek dzieci	Liczba badań	Liczba dodatnich posiewów kału	% ± s*
1–5 lat	68	37	54,4 ± 6,0
6–10 lat	163	122	74,8 ± 3,4
11–15 lat	127	91	71,7 ± 4,0
Razem	358	250	69,8 ± 5,9

* – błąd frakcji

Jak wynika z tych danych prewalencja grzybów u dzieci najmłodszych była istotnie niższa (t = 2,9582) niż w grupie dzieci 6–10 lat ($p < 0,01$). Może się to wiązać z większym narażeniem dzieci we wczesnym okresie szkolnym na szersze kontakty środowiskowe z innymi dziećmi, częste zakażenia i konieczność stosowania u nich antybiotyków przeciwbakteryjnych, a także – sytuacje stresujące, które sprzyjają zaburzeniom w układzie trawiennym. We wcześniejszych badaniach własnych (Kurnatowski 1998) wśród dzieci między 5. a 18. rokiem życia grzyby wykrywano u 80% pacjentów z zapaleniem błony śluzowej górnego odcinka przewodu pokarmowego (potwierdzone badaniem histopatologicznym bioptatów pobranych w trakcie gastrofiberoskopii). U większości tych dzieci zmiany zapalne występowały jednocześnie w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy (52%), a u ponad jednej trzeciej pacjentów (36%) tylko w żołądku lub w dwunastnicy. U 10% dzieci rozpoznano współistniejące zapalenie błony śluzowej przełyku. Niektórzy autorzy udowodnili, że grzyby

istotnie częściej izoluje się z błony śluzowej pacjentów z zapaleniem przełyku (42% dorosłych) niż bez tych zmian (11%) (Vermeersch i wsp. 1989). Warnock i Richardson (1991) udowodnili, że z przełyku – częściej niż z innych narządów – następuje transmisja grzybów do układu krwionośnego (fungemia), co stwarza dla chorych śmiertelne niebezpieczeństwo. Ci sami autorzy (Richardson i Warnock 1995) podkreślają też, że kandydoza przewodu pokarmowego – rzadko prawidłowo rozpoznawana przyżyciowo – może prowadzić do uogólnionej inwazji, zwłaszcza gdy występują owrzodzenia lub inne ubytki błony śluzowej. Ocenę korelacji między występowaniem ognisk inwazji grzybów a zmianami patomorfologicznymi ułatwia wykorzystanie gastrofiberoskopii, jeżeli istnieją wskazania lekarskie do tego badania (Knoke i Bernhardt 1980, Kurnatowski 1998).

U osób powyżej 18 roku życia (grupa I) kolejność prewalencji gatunków była następująca: *Candida albicans* (37,4 ± 3,06%), *C. famata* (23,4 ± 2,68%), *C. tropicalis* (23,4 ± 2,68%), *C. krusei* (6,46 ± 1,57%). Inne gatunki wykrywano w odsetkach poniżej 4%. Warto zwrócić uwagę, że u dzieci (grupa II) częstość występowania *C. albicans* (89,5 ± 1,20%) była istotnie wyższa ($p < 0,001$) niż u osób dorosłych (37,4 ± 3,06%). Natomiast inne gatunki rodzaju *Candida* w omawianej grupie były wykrywane rzadziej ($p < 0,01$), tylko gatunek *C. kefyr* występował w podobnym procencie w obu grupach (I – 2,80 ± 1,04%, II – 2,96 ± 0,66), zaś *C. krusei* wyodrębniono wyłącznie z przewodu pokarmowego osób dorosłych. Dokładne dane zebrano w Tabeli 3.

Tabela 3. Gatunki szczepów grzybów wyizolowanych z kału osób dorosłych (grupa I) i dzieci (grupa II)

Gatunek	Częstość wykrywania (% ± s*)	
	Grupa I	Grupa II
Candida albicans (Robin, 1853) Berkhout, 1923	37,4 ± 3,06	89,5 ± 1,20
Candida famata (Harrison, 1928), Meyer et Yarrow, 1978	23,4 ± 2,68	2,02 ± 0,55
Candida glabrata (Anderson, 1917) Meyer et Yarrow, 1978	3,74 ± 1,20	0,62 ± 0,30
Candida guilliermondii Langeron et Guerra, 1938	2,80 ± 1,04	0,78 ± 0,35
Candida kefyr (Beijerinck)Van Uden et Buckley, 1970	2,80 ± 1,04	2,96 ± 0,66
Candida krusei Berkhout, 1923	6,46 ± 1,57	0
Candida tropicalis (Castellani, 1910) Berkhout, 1923	23,4 ± 2,68	1,87 ± 0,54
Saccharomyces cerevisiae Hansen, 1883	0	2,18 ± 0,58

* – błąd frakcji

Trzeba podkreślić, że wszystkie gatunki wykazane w toku omawianej pracy są zaliczone do wysoce chorobotwórczych dla człowieka (de Hoog i wsp. 2000). Wszyscy pacjenci mieli dolegliwości ze strony układu trawiennego, część kliniczna wymaga jednak oddzielnego opracowania.

LITERATURA

Budak A. 1998. Grzybice przewodu pokarmowego. W: *Zarys mikologii lekarskiej.* (Red. E. Baran). Volumed, Wrocław.

De Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. 2000. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virgili.

Knocke M., Bernhardt H. 1980. Endoscopic aspects of mycosis in the upper digestive tract. *Endoscopy* 12: 295–298.

Kurnatowska A. 1995. Wybrane zagadnienia mikologii medycznej. Promedi, Łódź.

Kurnatowska A. 2001. Ekologiczne uwarunkowania wieloogniskowych zarażeń grzybami, zwłaszcza układu trawiennego. W: *Ekologia* (Red. A. Kurnatowska). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 167–189.

Kurnatowska A., Mazurowa A., Jodłowska R., Merc-Gołębiowska Z. 1980. Wieloogniskowe inwazje grzybami u chorych z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego i innymi chorobami narządów wewnętrznych. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 63: 375–382.

Kurnatowski M. 1998. Charakterystyka grzybów występujących w ontocenozach przewodu pokarmowego u dzieci w stanach uszkodzenia integralności błony śluzowej. Praca doktorska, Akademia Medyczna, Łódź.

Richardson M.D., Warnock D.W. 1995. Grzybice. Rozpoznawanie i leczenie. Springer, PWN, Warszawa.

Vermeersch B., Kysselaere M., Dekeyser K., Resquin K., DeVos M., Elewant A., Barbier F. 1989. Fungal colonization of the esophagus. *American Journal of Gastroenterology* 84: 1079–1083.

Warnock D.W., Richardson M.D. 1991. Fungal Infection in the Compromised Patient. John Wiley and Sons, Chichester.