

GRZYBY JAKO CZYNNIK ETIOLOGICZNY CHORÓB GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH¹

PIOTR KURNATOWSKI¹ I GRAŻYNA RACZYŃSKA-WITOŃSKA²

¹Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, ²Zakład Diagnostyki i Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej Uniwersytet Medyczny, Pl. Gen. J. Hallera 1; 90-647 Łódź; Tel. (42) 63 93 370; Fax: (42) 63 93 371; E-mail: pkurnatowski@wp.pl

ABSTRACT. Fungi as an aetiological factor of upper respiratory diseases. Mycologic investigations were carried out in subjects suffering from upper respiratory tract ailments. The material for assessment was collected from various ontocenoses. Species of fungal strains were determined by means of the morphological and biochemical analyses. Special attention was paid to the frequency of fungi occurring in multiple foci of the same system. In patients presented with ailments of the upper respiratory tract the presence of fungi, predominantly species of *Candida* genus was detected in different ontocenoses. In 1/4 of cases the fungi were found in 2 or 3 foci, which can induce systemic transmission, interfere with treatment and result in recurrent infections.

Key words: fungi, upper respiratory tract.

WSTĘP

Przed laty odkryliśmy, że grzybice narządowe, niezależnie od umiejscowienia ogniska inwazji, cechuje duża skłonność do nawrotów. Z jednej strony można było sądzić, że w tym samym narządzie – inwazji pierwotnej – powstały dalsze siedliska grzybów, z drugiej strony przekonaliśmy się już wtedy, że grzyby łatwo ulegają transmisji wewnątrzustrojowej u człowieka (Kurnatowska i wsp. 1980, 1992). Ze zrozumiałych względów braliśmy też pod uwagę zmniejszanie się wrażliwości grzybów na leki, stosowane od wielu lat. Prawie w tym samym czasie wykazaliśmy istotnie wyższą prewalencję grzybów u dzieci i dorosłych z chorobami podstawowymi niż w próbkach populacji – w tym samym wieku – badanych w akcjach przesiewowych, oraz stwierdziliśmy gotowość osób z obniżeniem odporności, ogólnej i miejscowej, do ulegania zarażeniom wieloogniskowym.

Celem pracy było określenie prewalencji grzybów oraz inwazji jedno- i wieloogniskowych u pacjentów z dolegliwościami w zakresie górnych dróg oddechowych.

¹ Praca finansowana z działalności statutowej UM w Łodzi: 503-113-1

MATERIAŁ I METODY

Badaniami mikologicznymi objęto 348 osób, w wieku 20-70 lat, które zgłaszały się do Ośrodka Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic Katedry Biologii i Parazytologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Łodzi (obecnie: Zakład Diagnostyki i Leczenia Chorób Pasożytniczych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi) z dolegliwościami w zakresie górnych dróg oddechowych.

Do badań mikologicznych pobierano, w zależności od wyników badania podmiotowego i przedmiotowego pacjenta, materiał z jamy ustnej (wymaz/popłuczyny), wymazy z gardła, jam nosa, a także płwocinę i kał. Wszystkie materiały posiewano bezpośrednio po pobraniu na płynnym podłożu Sabourauda, często też na inne pożywki wybiórcze; inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny i wykonywano mikroskopowe preparaty, w których poszukiwano grzybów. Następnie hodowlę pozostawiano przez dalsze 48 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie ze wszystkich wyrosłych kolonii sporządzano preparaty bezpośrednie w 0,9% roztworze NaCl i poszukiwano pod mikroskopem (pow. 100, 400 lub 1000 razy) struktur grzybów, a w przypadku ich stwierdzenia zakładano hodowlę na agarze Sabourauda. Z hodowli ujemnych – po 72 h inkubacji – kolejne preparaty kontrolne wykonywano po 5-10 dniach i po dalszych 10 dniach w ten sam sposób; pozostawiano je pod obserwacją do 8 tygodni. Natomiast przesiewanie hodowli dodatnich na świeże podłoże pozwoliło na wyizolowanie czystych bezbakteryjnych szczepów (hodowle akseniczne). W pracy przyjęto tryb postępowania różnicującego szczepy, oparty na cechach morfologicznych i biochemicznych, opracowany w Katedrze (Kurnatowska 1995); ostatnio też wykorzystano testy komercyjne. Oceniając cechy makroskopowe kolonii grzyba uwzględniano ich barwę, połysk, kształt brzegu, strukturę powierzchni oraz stosunek do powierzchni agaru, a także zmianę barwy agaru pod wpływem wzrostu określonego mikroorganizmu.

W oparciu o te cechy wstępne rozdzielono szczepy tworzące puszyste kolonie, różnicując je szczegółowo w kierunku grzybów z rodzin: *Mucoraceae* (*Zygomycota*), *Dipodascaceae* i *Trichocomaceae* (*Ascomycota*), uwzględniając też szczepy grzybów wyrastające na powierzchni podłoża płynnego w postaci puszystego kożucha. W preparatach bezpośrednich poszukiwano fragmentów strzępek zarodnikotwórczych dla określenia rodzajów i sposobu tworzenia się z nich zarodników. Ze wszystkich wyizolowanych szczepów zakładano mikrohodowle, które oceniano w preparatach mikroskopowych niebarwionych lub barwionych fuksyną kwaśną. Dla uniknięcia pomyłki diagnostycznej, wiążącej się z kwalifikowaniem szczepów pochodzących z zanieczyszczeń laboratoryjnych, w każdym przypadku wyodrębnienia szczepów tworzących puszyste kolonie wykonywano kolejne posiewy od tego samego pacjenta, aby potwierdzić obecność szczepu o tych samych właściwościach.

Odrębnie klasyfikowano szczepy grzybów tworzące na agarze Sabourauda kolonie gładkie różnicując je w kierunku następujących rodzin: *Saccharomycetaceae*,

Endomycetaceae, *Metschnikowiaceae*, *Lipomycetaceae*, *Ascoideaceae* (*Ascomycota*) oraz *Sporidiobolaceae* i *Filobasidiaceae* (*Basidiomycota*) (de Hoog i wsp. 2000).

WYNIKI

Spośród 348 zbadanych pacjentów u 204 (58,6±2,64%) wykryto grzyby w różnych pobranych materiałach. Ogółem wykonano 552 posiewy, z których wyizolowano 349 szczepów grzybów (63,2%).

Najczęściej dodatnie posiewy uzyskiwano z płwociny (82,9%), treści jamy ustnej (75,4%), kału (73,2%) oraz wymazu z języka (71,0%). Analizując posiewy pobrane od poszczególnych pacjentów, stwierdzono w większości przypadków (84,0±2,18%) obecność grzybów w jednym ognisku; szczegółowe dane na ten temat zawiera Tabela 1. Aż w 65,6 (±2,83)% przypadków jedną z ontocenoz, w której wykryto grzyby była jama ustna, która może stanowić wrota inwazji dla innych ontocenoz.

Tabela 1. Liczba dodatnich posiewów w zależności od miejsca pobrania

Miejsce pobrania	Liczba pacjentów	Liczba dodatnich posiewów	Odsetek dodatnich posiewów ± błąd frakcji
Nos	13	2	15,4±10,0
Jama ustna	83	61	73,5±4,84
Język	100	71	71,0±4,54
Proteza	23	13	56,5±10,3
Gardło	95	58	61,1±5,0
Krtań	2	0	0
Dolne drogi oddechowe	26	20	76,9±8,27
Przewód pokarmowy	18	12	66,7±11,1
J.ustna + gardło	33	22	66,7±8,2
J.ustna + przewód pokarmowy	6	6	100,0
J.ustna + dolne drogi oddechowe	4	4	100,0
Nos + gardło	1	0	0
Gardło + przewód pokarmowy	8	3	37,5±17,1
Krtań + dolne drogi oddechowe	1	1	
Dolne drogi oddechowe + przewód pokarmowy	1	1	
J.ustna + przewód pokarmowy + dolne drogi oddechowe	3	3	
J.ustna + gardło + przewód pokarmowy	5	5	

W oparciu o metody różnicowania wyodrębnione szczepy grzybów zaliczono do rodzajów *Candida* (*Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*), *Penicillium* lub *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus*). Szczegółowe dane na ten temat zawiera Tabela 2.

Tabela 2. Prewalencja gatunków grzybów wykrywanych w ontocenozach narządowych

Gatunek	Jamy nosa	Jama ustna	Gardło	Krtąń	Dolne drogi oddechowe	Przewód pokarmowy
<i>Candida albicans</i>	50,0	43,8	73,8		58,6	37,4
<i>C. tropicalis</i>		15,7	11,9			23,4
<i>C. krusei</i>		9,7	4,8			6,46
<i>C. kefyr</i>		9,7	7,1			2,8
<i>C. guilliermondii</i>		4,9	2,4			2,8
<i>C. parapsilosis</i>		4,3				
<i>C. famata</i>						23,4
<i>C. glabrata</i>		5,9				3,74
<i>Geotrichum candidum</i>		5,9				
<i>Penicillium</i> sp.					6,9	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	50,0			100,0	34,5	

DYSKUSJA

Wobec wykrywania w środowisku naturalnym i w ustroju człowieka ciągle nowych gatunków grzybów, prowadzenie szczegółowych badań mikologicznych stało się koniecznością. Obecnie opisano, w oparciu o cechy fenotypowe i genotypowe, już 393 gatunki chorobotwórcze, ważne w etiopatogenezie chorób narządowych (de Hoog i wsp. 2000).

Nicolai i wsp. (1988) oraz deShazo i wsp. (1997) podają, że 6-13% zapaleń zatok wywoływana jest przez grzyby; w 80% przypadków są to różne gatunki rodzaju *Aspergillus*, które można wyhodować również z jam nosa 40% pacjentów. We wcześniejszych badaniach własnych obecność grzybów z rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*) i *Aspergillus* (*A. fumigatus*) w jamach nosa wynosiła od 1,0 do 9,9% zbadanych (Kurnatowski 1977).

Prewalencja zakażeń grzybami jamy ustnej waha się od kilku do prawie 100% zbadanych; tak duże różnice mogą wiązać się z porą doby, roku, rodzajem przyjmowanych pokarmów, częstością i sposobem mycia zębów, a także ze sposobem pobierania materiału i metod jego badania (Kurnatowska 1995). Czynniki etiologicznymi grzybic jamy ustnej mogą być wszystkie gatunki wykrywane w jej ontocenozie. Najczęściej wykrywanym gatunkiem jest *Candida albicans* (19,9-66,3%), inne zaś gatunki tego rodzaju występują z różną częstością. W badaniach własnych grzyby stwierdzaliśmy u 49,0-95,2% zbadanych; najczęściej oznaczanymi gatunkami były *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* i *C. parapsilosis*; przy czym w sumie zarejestrowaliśmy 33 gatunki, które w aktualnej klasyfikacji znajdują się w 6 rodzajach, w 9 rodzinach (Kurnatowska 2001).

Z danych piśmiennictwa wynika, że grzyby występują na błonie śluzowej gardła u 24,5-53,6% pacjentów z przewlekłym zapaleniem gardła i w około 2/3 przypad-

ków migdałków podniebiennych, zaś tylko w 1/5 – migdałka gardłowego. Najczęściej izolowano szczepy rodzaju *Candida* (40-64,5%), rzadziej *Aspergillus* lub *Saccharomyces* (11,6%) i *Penicillium* (10%). W przypadkach przewlekających się anginy lub anginy nawrotowych prewalencja zarażeń grzybami wynosi odpowiednio 30,9% oraz 70,8-94 % (Dąbkowska 1975, Trojanowska 1999, Biedunkiewicz 2001). We wcześniejszych badaniach częściej wykrywaliśmy grzyby w wymazach ze ścian gardła (65,8%), niż w homogenacie migdałków, usuwanych z powodu przewlekłych stanów zapalnych (41,3%); analiza cech morfologicznych i biochemicznych wyizolowanych szczepów pozwoliła na zakwalifikowanie ich do rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*) (Kurnatowski i wsp. 1996).

Grzybice krtani towarzyszą często zmianom zlokalizowanym w górnych lub dolnych drogach oddechowych; rzadko występują jako postaci izolowane. W piśmiennictwie podaje się głównie opisy pojedynczych przypadków wywoływanych przez różne rodzaje grzybów. W badaniach własnych przeprowadzonych u chorych z nowotworami krtani stwierdziliśmy obecność grzybów z rodzaju *Candida* u 29,5% zbadanych (Raczyńska-Witońska 1993).

Wykryte w tej pracy gatunki mieszczą się w 4 rodzajach. Spostrzegano 8 postaci klinicznych kandydozy (candidosis) i 3 – aspergilozy (aspergillosis) niedostatecznie opisywane w literaturze, wymagające dalszych badań, bowiem znane grzybice układu oddechowego – oryginalnie opracowane w Polsce – dotyczą przede wszystkim dolnych dróg oddechowych (Krakówka i wsp. 1986), a więc chorych przebywających w klinikach pulmonologicznych lub ftyzjatrycznych. Należy podkreślić, że wykrycie grzybów w kilku ontocenozach znacznie zwiększa ryzyko powstania grzybic inwazyjnych.

WNIOSKI

(1) U pacjentów zgłaszających objawy ze strony górnych dróg oddechowych stwierdza się obecność grzybów, głównie z rodzaju *Candida*, w różnych ontocenozach.

(2) W 1/6 przypadków grzyby występują w dwu lub trzech ogniskach, co może sprzyjać transmisji wewnątrzustrojowej, utrudniać leczenie i być przyczyną zarażeń nawracających.

LITERATURA

- Biedunkiewicz A. 2001. Dynamika mikroflory układu oddechowego. Rozprawa doktorska, UWM w Olsztynie.
- Dąbkowska M. 1975. Kandydoza (candidosis) migdałków podniebiennych u dzieci. Rozprawa doktorska, AM w Łodzi.
- de Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. 2000. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor

- schimmelcultures, Utrecht/Universitat Rovira i Virgili, Reus.
- Krakówka P., Halweg H., Podsiadło B. 1986. Grzybice układu oddechowego. W: *Grzybice i sposoby ich zwalczania*. (Red. Z. Kowszyk-Gindifer, W. Sobiczewski), PZWL, Warszawa, 152-184.
- Kurnatowska A. 1995. Wybrane zagadnienia mikologii medycznej. Promedi, Łódź.
- Kurnatowska A., Kurnatowski P., Kalinowska-Graczyk H. 1980. Wieloogniskowość zarażeń grzybami u chorych zgłaszających się do laryngologa. *Otolaryngologia Polska* 34: 475-479.
- Kurnatowska A., Kurnatowski P., Raczyńska-Witońska G. 1992. Analiza wskaźników identyczności gatunków grzybów wyodrębnionych z wieloogniskowych inwazji górnych dróg oddechowych oraz ucha i innych narządów. *Otolaryngologia Polska* 46: 636-40.
- Kurnatowska A.J. 2001. Search for correlation between symptoms and signs of changes in the oral mucosa and presence of fungi. *Mycoses* 44: 379-382.
- Kurnatowski P. 1977. Udział grzybów w przewlekłych zapaleniach zatok. *Otolaryngologia Polska* 31: 329-332.
- Kurnatowski P., Jaskółowska A., Loga G. 1996. Prewalencja zarażeń grzybami migdałków podniebiennych. *Mikologia Lekarska* 3: 27-32.
- Nicolai P., Tomenzoli D., Berlucchi M. 1998. Il trattamento endoscopico dell'aspergilloma sfenoidale. *Acta Otorhinolaryngologica Italica* 18: 23-9.
- Raczyńska-Witońska G. 1993. Zbieżność między wykrywaniem grzybów w górnych drogach oddechowych a rozpoznaniem klinicznym, ze szczególnym uwzględnieniem raka krtani. Rozprawa doktorska, AM w Łodzi.
- deShazo R.D., Chapin K., Swain R.E. 1997. Fungal sinusitis. *New England Journal of Medicine* 337: 254- 259.
- Trojanowska D. 1999. Ocena metod stosowanych w diagnostyce mikologicznej u chorych z zaburzeniami odporności. Rozprawa doktorska, UJ w Krakowie.

Zaakceptowano do druku 13 maja 2004