

UDZIAŁ GRZYBÓW W ETIOPATOGENEZIE TRUDNO GOJĄCYCH SIĘ RAN PO ZABIEGACH ORTOPEDYCZNYCH*

GRAŻYNA RACZYŃSKA-WITOŃSKA¹, JOLANTA KWAŚNIEWSKA¹ I DARIUSZ
WITOŃSKI²

¹Zakład Diagnostyki i Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic, Katedra Biologii i Genetyki Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Pl. Hallera 1, 90-647 Łódź, E-mail:katbiol@poczta.onet.pl;

²II Katedra Ortopedii, Uniwersytet Medyczny, Drewnowska 75, 91-002 Łódź

ABSTRACT. The role of fungi in etiopathogenesis of delayed orthopaedic wound healing.

Mycological investigations were carried out in 20 patients due to the delayed wound healing, following orthopaedic surgery at the Department of Orthopaedics, Medical University of Łódź. The material samples for fungal assessment were taken from the wound, surrounding skin and oral cavity. In all patients, the fungi were isolated at least from one ontocenosis; from the wound in 40.0% of subjects studied, from the wound-surrounding skin in 55.0% and from the oral cavity in 85.0%. It should be emphasized that the occurrence of fungi was more frequently observed simultaneously in two or three ontocenoses (70.0%) than in one (30.0%). Unifocal infection was found only in the oral cavity, while the presence of fungi in the wound was accompanied by their appearance in the region of wound-surrounding skin and/or in the oral cavity.

Key words: *Candida*, *Candida albicans*, orthopaedic surgery.

WSTĘP

Do znaczących i częstych powikłań pooperacyjnych należą zakażenia bakteryjne i grzybicze, które w istotny sposób przedłużają pobyt chorego w szpitalu, wydłużają procesy gojenia, opóźniają dalsze etapy leczenia, np. rehabilitację. Przebieg zakażenia zależy od rodzaju i gatunku bakterii lub grzyba, mobilizacji procesów odpornościowych jako reakcji na zakażenie, wieku chorego, stanu ogólnego, chorób towarzyszących (Bowler i wsp. 2001). U pacjentów oddziałów zabiegowych czynnikiem potencjalnie patogennym mogą być drobnoustroje wchodzące w skład ontocenozy skóry i błon śluzowych (Giandoni i Grabski 1994). U chorych obserwuje się najczęściej niegojące się owrzodzenia o różnym stopniu rozległości, ropnie lub przetoki (Edlestein i Cabe 1991, Meier 1994, Sorensen i wsp. 1997).

Celem pracy była ocena prewalencji grzybów u pacjentów z trudno gojącymi się ranami po operacjach ortopedycznych.

* Praca finansowana z działalności statutowej UM w Łodzi: 503-213-1

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto grupę 20 chorych, w tym 12 mężczyzn i 8 kobiet w wieku 20-65 lat, po różnych zabiegach ortopedycznych, takich jak: alloplastyka stawu biodrowego, otwarte repozycje złamań, wydłużanie kończyn dolnych.

Materiał do badań mikologicznych stanowiły wymazy pobierane od pacjentów z ran pooperacyjnych, powierzchni otaczającej skóry oraz błony śluzowej jamy ustnej.

U chorych tych w toku dalszego leczenia wystąpiły powikłania gojenia się ran. W trakcie pobytu na oddziale pacjenci mieli wykonane posiewy treści pochodzącej z ran w kierunku obecności bakterii oraz antybiogramy; jednak mimo celowanego leczenia przeciwbakteryjnego miejscowego i ogólnego stan pacjentów nie ulegał poprawie, rany bardzo powoli, bądź w ogóle nie naskórkowały.

Pobrany materiał posiewano na agarze i bulionie Sabourauda. Jamę ustną polecano przepłukać jałowym bulionem Sabourauda. Posiewy inkubowano w temperaturze 27°C i 37°C przez 24 godziny, a następnie pozostawiano w temperaturze pokojowej. Po trzech dniach ze wszystkich wyrosłych kolonii sporządzano preparaty bezpośrednie. Kolonie grzybów przesiewano na świeże podłoże, celem uzyskania po kilku pasażach czystych bezbakteryjnych szczepów. Dla grzybów zakwalifikowanych wstępnie do rodziny *Cryptococcaceae*, wykonano zymogramy oraz auksanogramy cukrowe i azotowe za pomocą testów API 20C i API 20C AUX (bioMérieux) (Kurnatowska 1995).

Na podstawie wyników testu API 20C AUX ustalono asymilacyjne kody liczbowe badanych szczepów, wykorzystując zasadę numerycznej identyfikacji (Katalog Analytical Profile Index, bioMérieux, Lyon, 1990), polegającą na punktacji wyników uzyskanych w siedmiu grupach ocenianych 19 właściwości biochemicznych oraz jednej cechy morfologicznej – tworzenia strzępek lub pseudostrzępek. Uzyskane wyniki reakcji przekształcono w postać liczbową, otrzymując siedmiocyfrowy kod.

WYNIKI

Od 20 pacjentów uzyskano 60 posiewów, z których wyizolowano 36 szczepów grzybów. U 8 pacjentów (40,0%) stwierdzono obecność grzybów w ranie, u 11 (55,0%) – w wymazach pochodzących ze skóry, u 17 (85,0%) – w jamie ustnej. U dwóch chorych grzyby wykazano we wszystkich trzech ontocenozach, u 12 zaś w dwóch ogniskach. Spośród nich u 3 pacjentów grzyby wykryto w ranie i w jamie ustnej, w ranie i otaczającej skórze także u 3. U pozostałych 6 osób zarażenia dwuogniskowe dotyczyły jamy ustnej i skóry. Zarażenia jednoogniskowe wykazano u 6 pacjentów; grzyby stwierdzono wyłącznie w jamie ustnej. Wyodrębnione szczepy grzybów zaliczono do 2 rodzajów: *Candida* i *Saccharomyces*. Szczepy z rodzaju

Tabela 1. Gatunki i kody liczbowe szczepów grzybów wyodrębnionych od pacjentów z trudno gojącymi się ranami po zabiegach ortopedycznych

Pacjent	Ontocenoza		
	Rana	Skóra	Jama ustna
3105	<i>C. glabrata</i> 2000000	<i>S. cerevisiae</i> 2040030	<i>S. cerevisiae</i> 2040030
3712	<i>C. parapsilosis</i> 6756171	<i>C. albicans</i> 2776174	<i>C. albicans</i> 2000000
4410			<i>C. glabrata</i> 2000000
3101	<i>C. albicans</i> 2776174	<i>C. albicans</i> 2776174	
6706	<i>C. albicans</i> 2776174		<i>C. albicans</i> 2776174
6201	<i>C. albicans</i> 2776174	<i>C. glabrata</i> 2000000	
2205			<i>C. kefir</i> 2240073
3501	<i>C. albicans</i> 2776174		<i>C. albicans</i> 2776174
5508		<i>S. cerevisiae</i> 2040030	<i>S. cerevisiae</i> 2040030
4605		<i>C. albicans</i> 2476174	<i>S. cerevisiae</i> 2776174
8310		<i>C. glabrata</i> 2000000	<i>C. tropicalis</i> 2575175
7809		<i>S. cerevisiae</i> 2040030	<i>S. cerevisiae</i> 2040030
5609			<i>C. kefir</i> 2240073
6306	<i>C. glabrata</i> 2000000		<i>S. cerevisiae</i> 2040030
8109		<i>C. albicans</i> 2570114	<i>C. albicans</i> 2776174
3206			<i>C. tropicalis</i> 2575175
5403		<i>S. cerevisiae</i> 2040030	<i>C. tropicalis</i> 2575175
4405			<i>S. cerevisiae</i> 2040030
2704			<i>C. kefir</i> 2240073
4203	<i>C. albicans</i> 2776174	<i>C. glabrata</i> 2000000	

Candida zakwalifikowano do 5 gatunków, a mianowicie *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. kefir*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*. Spośród grzybów z rodzaju *Candida* najczęściej występowały szczepy z gatunku *C. albicans* (52,0%). Grzyby z rodzaju *Sac-*

charomyces należały do jednego gatunku – *S. cerevisiae* i stanowiły 1/4 wyodrębnionych szczepów. U szczepów *C. albicans* wyróżniono trzy asymilacyjne kody 2776174, 2476174, 2570114, po jednym zaś u *C. glabrata* – 2000000, *C. kefyr* – 2240073, *C. parapsilosis* – 6756171 i *C. tropicalis* – 2575175. U szczepów *S. cerevisiae* izolowanych z jamy ustnej i skóry wykazano kod 2040030 (Tabela 1).

Zgodność gatunków i kodów liczbowych stwierdzono u 5 zbadanych pacjentów. U jednego dotyczyła ona ontocenozy rany i skóry, u 2 – rany i jamy ustnej, także u 2 – skóry i jamy ustnej.

DYSKUSJA

Przedstawione wstępne dane mogą sugerować, że w przypadku trudno gojących się ran należy brać pod uwagę obecność grzybów jako przyczynę powikłania poporacyjnego, którym jest zahamowanie prawidłowego procesu gojenia się rany. W piśmiennictwie zwraca się uwagę na obecność różnych mikroorganizmów w ranach u pacjentów oddziałów szpitalnych. Aczkolwiek większość autorów skupia się przede wszystkim na poszukiwaniu bakterii, jako przyczyny utrudnionego gojenia się ran (Sorensen i wsp. 1997), inni wskazują na obecność także grzybów, zwłaszcza z rodzaju *Candida* (Simpson i wsp. 1977, Arnold i Dini 1981, Giandoni i Grabski 1994, Vindenes i Bjercknes 1995). Sorensen i wsp. (1997) wyizolowali bakterie z ran u pacjentów oddziałów ortopedycznych w 58,0%. Vindenes i Bjercknes (1995) szacują obecność grzybów w ranach u osób przebywających w oddziałach leczenia oparzeń na ok. 10,0%, zaliczając szczepy do rodzaju *Candida*, bez różnicowania gatunków. Autorzy ci zwracają uwagę na jednoczesne występowanie bakterii *Staphylococcus aureus* (14,0%), *Enterococcus* sp. (11,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (10,9%). W naszych badaniach obecność grzybów w ranach stwierdzono u 40,0% badanych; wszystkie szczepy wyodrębnione z tego materiału należały do rodzaju *Candida*, najczęściej do gatunku *C. albicans*.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleźliśmy doniesień o jednoczesnym występowaniu grzybów w ranie, otaczającej skórze i jamie ustnej u pacjentów po zabiegach ortopedycznych. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż nie wykazano występowania grzybów wyłącznie w materiale z rany, bez ich obecności w jamie ustnej bądź w okolicy otaczającej skóry.

Warto dodać, że stwierdzenie tych samych gatunków szczepów grzybów w różnych ogniskach zarażenia ustroju pacjenta nie stanowi obecnie wystarczającego kryterium umożliwiającego bliższą charakterystykę wyizolowanych szczepów. Nawiązując do wcześniejszych badań nad różnicowaniem wewnątrzgatunkowym szczepów grzybów (Kurnatowska i wsp. 1987), wykorzystano w badaniach własnych zasadę numerycznej identyfikacji, pozwalającą na ustalenie asymilacyjnych kodów liczbowych wyodrębnionych szczepów. Zgodność tych kodów – obok zgodności gatunków – wykazano u szczepów wyizolowanych z rany i jamy ustnej od 2

pacjentów, z rany i skóry – od jednego, oraz ze skóry i jamy ustnej u 2 pacjentów.

Zwraca także uwagę występowanie w badanych ontocenozach – poza najczęściej rozpoznawanym gatunkiem *C. albicans* – także innych gatunków z rodzaju *Candida*. Zwiększenie częstości wykrywania *C. glabrata* lub *C. tropicalis* można wiązać z selekcją szczepów *C. albicans*, bardziej wrażliwych na niektóre leki przeciwgrzybicze (Giandoni i Grabski 1994). Podejmuje się próby wyjaśnienia tego zjawiska stosowaniem w profilaktyce zarażeń grzybami pochodnych azolowych, które miałyby pełnić rolę czynnika selekcyjnego. Może mieć też znaczenie przedłużony okres hospitalizacji. Wydaje się jednak, że najważniejszym mechanizmem jest transmisja endogenna, przy czym za najczęstsze siedlisko grzyba uważa się przewód pokarmowy (Pfaller 1996, Stéphan i wsp. 2002).

W podsumowaniu warto podkreślić, że u pacjentów z przewlekającym się gojeniem ran po różnych zabiegach ortopedycznych należy brać pod uwagę współistniejące zarażenie grzybami. U takich chorych częściej stwierdza się obecność grzybów w kilku ontocenozach, co może ułatwić transmisję szczepu grzyba w obrębie organizmu pacjenta.

LITERATURA

- Arnold H.J., Dini A. 1981. *Candida albicans* arthritis in health adult. *South Medical Journal* 74 : 84-85.
- Bowler P.G., Duerden B.I., Armstrong D.G. 2001. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clinical Microbiology Review* 14: 244-269.
- Edlestein H., Cabe R. 1991. *Candida albicans* septic arthritis and osteomyelitis of the sternoclavicular joint in patient, with human immunodeficiency virus infection. *Journal of Rheumatology* 18: 110-114.
- Giandoni M.B., Grabski W.J. 1994. Cutaneous candidiasis as a cause of delayed surgical wound healing. *Journal of American Academy of Dermatology* 30: 881-884.
- Kurnatowska A. 1995. Wybrane zagadnienia mikologii medycznej. Promedi, Łódź.
- Kurnatowska A., Bialasiewicz D., Głowacka A., Horwatt E., Kwaśniewska J., Różga A., Sosnowska E. 1987. Różnicowanie wewnątrzgatunkowe *Candida* jako ważny składnik analizy inwazji rodzinnych. Materiały Naukowe XXXI Zjazdu Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. Olsztyn: 141.
- Meier J.L. 1994. Mycobacterial and fungal infection of bone and joints. *Current Opinion in Rheumatology* 6: 408-414.
- Pfaller M.A. 1996. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs and modes of transmission. *Clinical Infectious Diseases*.22: 89-94.
- Simpson M.B., Jr, Merz W.G., Kurlinski J.P., Salomon M.H. 1977. Opportunistic mycotic osteomyelitis: bone infection due to *Aspergillus* and *Candida* species. *Medicine* 56: 475-482.
- Sorensen T.S., Sorensen A.I. Bremmelgaard A. 1997. Orthopedic wound infections. 182 cases after 8913 operations during an 8-years survey. *Acta Orthopædica Scandinavica* 68: 466-469.
- Stéphan F., Bah M.S., Desterke C., Rézaigula-Delclaux S., Foulet F., Duvaldestin P., Bretagne S. 2002. Molecular diversity and routes of colonization of *Candida albicans* in a surgical intensive care unit, as studied using microsatellite markers. *Clinical Infectious Diseases* 35: 1477- 1483.
- Vindenes H., Bjerknes R. 1995. Microbial colonization of large wounds. *Burns*: 575-579.