

Z życia naukowego

45. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej „Diagnostyka molekularna chorób pasożytniczych i grzybic, nowe możliwości terapii oraz inne zagadnienia mikologii i parazytologii”

45. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej odbył się 31 marca 2006 roku w Łodzi. Został zorganizowany przez członków Łódzkiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Zespołu Mikologii Komitetu Parazytologii PAN, pracowników Zakładu Biologii i Parazytologii Lekarskiej oraz Zakładu Diagnostyki i Leczenia Chorób Pasożytniczych i Grzybic Katedry Biologii i Genetyki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Tematem Dnia Klinicznego była „Diagnostyka molekularna chorób pasożytniczych i grzybic, nowe możliwości terapii oraz inne zagadnienia mikologii i parazytologii”. Program Dnia Klinicznego obejmował 27 referatów i doniesień. Obrady otworzyła Przewodnicząca ŁO Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego — prof. dr hab. Jolanta Kwaśniewska. Następnie Prezes Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego — prof. dr hab. Bożena Moskwa — odczytała i przekazała Przewodniczącej ŁO PTP list gratulacyjny od Zarządu Głównego PTP z okazji jubileuszowego 45. Zjazdu. Podziękowała za trud włożony w wieloletnią organizację DKPL i miłą atmosferę towarzyszącą corocznym spotkaniom. Podkreśliła różnorodność i aktualność zagadnień przedstawianych podczas kolejnych zjazdów. Prof. dr hab. Anna C. Majewska — Przewodnicząca Oddziału Poznańskiego PTP — również wręczyła list gratulacyjny i podziękowała za wytrwałość w organizowaniu łódzkich spotkań.

Część pierwszą obrad, której przewodniczyli Profesorowie: A. Jaworski, J. Kur i J. Wilczyński, rozpoczęła prezentacja dotycząca rekombinowanych antygenów *Toxoplasma gondii*, które mogą być wykorzystane do immunodiagnostyki pasożyta (prof. J. Kur, Politechnika Gdańska). W części wstępnej wystąpienia omówione zostały testy serologiczne i antygeny stosowane obecnie w diagnostyce toksoplazmozy. Przyczyną zainteresowania

antygenami rekombinowanymi jest trudność uzyskania natywnych antygenów pasożyta, duża ich zmienność wskutek licznych mutacji oraz zmienność antygenów w poszczególnych etapach cyklu rozwojowego. Antygeny rekombinowane pozwolą na obniżenie kosztów i rozpowszechnienie diagnostyki, a także na określenie stadium choroby. Antygeny *T. gondii* otrzymane w Katedrze Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej pochodzą z tachyzoitów i bradyzoitów; stanowią markery toksoplazmozy wczesnej bądź późnej. Są to: antygeny mikronem (MIC), antygeny roptrii (ROP), antygeny granul o wysokiej gęstości (GRA), antygeny powierzchniowe (SAG), antygen cytoplazmatyczny (BAG 1) i inne (np. enzymy). Antygeny te wykrywano w różnych stężeniach w surowicach pacjentów z toksoplazmozą ostrą i przewlekłą. W prezentacji omówiono białko antygenowe BAG 1 — stabilny marker stadium rozwojowego bradyzoitu, występujący w wysokim stężeniu w cytoplazmie podczas przemiany tachyzoitów w bradyzoity, a także proces amplifikacji DNA genu *bag1*, konstrukcję plazmidu rekombinowanego, immunoidentyfikację i oczyszczanie rekombinowanego białka BAG 1.

Kolejne doniesienie (dr D. Nowakowska, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ICZMP, Łódź) było poświęcone genotypowaniu *T. gondii*. Aktualnie znana jest sekwencja kilku genów pierwotniaka (np. *B1*, *P30*, *P23*, *P22*, *H4*, *H11*), co umożliwia bezpośrednią analizę obecności kwasów nukleinowych pasożyta w płynach ustrojowych żywiciela technikami biologii molekularnej. Metody genetyczne wykorzystywane w diagnostyce *T. gondii* w przeważającej większości opierają się na klasycznej reakcji łańcuchowej polimeryzacji PCR. Stosowane są także modyfikacje tej metody, najczęściej nested-PCR (polegająca na dwuetapowej reakcji PCR) i PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Analiza genetyczna polimorficznego

antygeny powierzchniowe SAG2 wskazuje na istnienie trzech odmiennych szczepów *T. gondii*. Autorka zwróciła uwagę na fakt, że trzy klony tego pierwotniaka (typ I, II, III) różnią się genotypowo jedynie w 2% na poziomie nukleotydu. W populacji człowieka zanotowano występowanie głównie typu II, który najczęściej wywołuje toksoplazmozę wrodzoną bezobjawową przewlekłą; jednakże może prowadzić także do obumierania płodu lub powstania poważnych powikłań ze strony OUN i narządu wzroku. Typ I *T. gondii* występuje bardzo rzadko u człowieka; wywołuje toksoplazmozę wrodzoną o ciężkim przebiegu. Typ III wykrywany jest najczęściej u zwierząt, rzadko u ludzi i wykazuje pośredni stopień wirulencji. Podkreślono, że obecnie ryzyko zarażenia kobiet w ciąży *T. gondii* ocenia się na 0,5%; przy założeniu występowania 40% transmisji dopłodowej u 2 płodów na 1000 żywo urodzonych rozpoznaje się toksoplazmozę wrodzoną. Należy pamiętać, że ryzyko zarażenia płodu wzrasta wraz z trwaniem ciąży, natomiast możliwość uszkodzenia płodu zmniejsza się w miarę upływu ciąży.

Wykorzystanie techniki FISH (*fluorescent hybridization in situ*) w diagnostyce parazytologicznej gatunków z rodzajów *Giardia* i *Cryptosporidium* oraz mikrosporydii — rodzajów *Encephalitozoon* i *Enterocytozoon*, przedstawiła prof. A. C. Majewska z Katedry i Zakładu Biologii i Parazytologii Lekarskiej Akademii Medycznej w Poznaniu. Pierwotniaki te są pasożytami licznych gatunków zwierząt i czynnikami etiologicznymi epidemii wodnopochodnych. Ich stadia dyspersyjne charakteryzuje duża oporność na działanie czynników środowiskowych i środków dezynfekcyjnych. W diagnostyce tych pierwotniaków jelitowych stosowane są metody mikroskopowego badania wydaliny i wydzieliny człowieka lub zwierząt, metody immunologiczne — poszukiwanie koproantygenów, cyst bądź oocyst, oraz techniki molekularne (PCR, RFLP). Metody te są zawodne, kosztowne i wymagają specjalistycznego wyposażenia. Technika FISH jest metodą czułą i specyficzną, umożliwiającą rozróżnienie żywych i martwych stadiów dyspersyjnych pierwotniaków. Jest także metodą tanią i mało pracochłonną. Wyniki badań techniką FISH ok. 2 tys. próbek kału różnych gatunków ssaków i ptaków, próbek wody i wrotków (*Rotifera*) przeprowadzone w ramach grantu NATO (Collaborative Linkage Grant CLG 979765) wykazały, jak powszechne jest występowanie cyst *Giardia* i oocyst *C. parvum*. Podobnie mikrosporidia gatunków *Encephalitozoon hellem*, *E. intestinalis* i *Enterocytozoon bienersi* stwierdzano

techniką FISH w kale licznych ptaków, niektórych ssaków i u wrotków.

Kolejna prezentacja przygotowana przez zespół z Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu i Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu (mgr P. Solarczyk, prof. A. C. Majewska, dr M. Dabert) dotyczyła znaczenia genotypowania izolatów *Giardia* i *Cryptosporidium*. Pierwotniaki należące do tych rodzajów stanowią czynniki etiologiczne wodno- i pokarmowo-pochodnych epidemii, a potencjalnym źródłem zarażenia może być wiele gatunków zwierząt dzikich, hodowlanych i domowych. Rocznie kilkaset milionów osób ulega zarażeniu. Izolaty *Giardia* i *Cryptosporidium* uzyskane z kału ludzi i różnych gatunków zwierząt w ZOO poddano genotypowaniu celem określenia ryzyka inwazji dla ludzi i dostarczenia dowodów transmisji zoonotycznej. W badaniach techniką PCR zastosowano jako startery: dla *Cryptosporidium* — fragmenty genu COWP, dla *Giardia* — genu β -gardiny. Uzyskane wyniki nie wykazały obecności oocyst *Cryptosporidium* w próbach. Natomiast cysty *Giardia* wykryto u 6% badanych osób i 3% zwierząt. Wszystkie izolaty należały do genotypu „B” (belgijskiego); nie są więc żywicielsko specyficzne.

W następnym referacie „Diagnostyka molekularna uogólnionej kandydozy” (dr K. Kuba, prof. P. Kurnatowski, UM Łódź) przedstawiono techniki PCR, PCR-EIA, Real-Time PCR, TaqMan PCR umożliwiające wykrycie gatunków z rodzaju *Candida* w różnych materiałach biologicznych.

W kolejnej prezentacji (dr M. Leśniak, prof. B. Dworecka-Kaszak, SGGW) omówiono różnicowanie genetyczne metodą RAPD-PCR grzybów *M. lassezia pachydermatis* izolowanych od zwierząt. Najtrudniejszym etapem pracy było uzyskanie genomowego DNA z powodu złożonej, wielowarstwowej budowy ściany komórkowej grzyba. Konieczne okazało się zastosowanie metody lizy alkalicznej z uprzednią destrukcją ściany komórkowej na drodze termicznej, mechanicznej i enzymatycznej. Produkty PCR izolatów *M. pachydermatis* wykorzystano do określenia profilu genetycznego ich DNA i skonstruowania dendrogramów, obrazujących filogenetyczną zależność, wobec stosowanych starterów. Grzyby tego gatunku wykazują znaczną heterogenność.

Zastosowanie metod molekularnych w diagnostyce dermatofitów izolowanych od pacjentów z regionu łódzkiego zaprezentował zespół z Zakładu Genetyki Drobnoustrojów Uniwersytetu Łódzkiego

(mgr A. Dobrowolska, dr P. Stączek, prof. A. Jaworski). Autorzy omówili „zsekwencjonowane” geny dermatofitów z rodzajów *Trichophyton*, *Epidermophyton* i *Microsporium*, reakcje łańcuchowej polimerazy (PCR) z zastosowaniem starterów ITS1 i ITS4, a następnie analizę restrykcyjną produktu PCR, z użyciem endonukleaz restrykcyjnych *Hind*I, *Hha*I i *Mva*II (Invitrogen). Przedstawili także różnice wykazane w badaniach identyfikacji szczepów metodami tradycyjnymi i molekularnymi. Różnice te mogą wynikać z zanieczyszczenia materiału klinicznego bakteriami lub innymi grzybami, a także ze zjawiska pleomorfizmu, bądź trudności w uzyskaniu wzrostu na podłożach hodowlanych. Metody molekularne mają wady — wykazują wysoką podatność na kontaminację prób; nie pozwalają na rozróżnienie żywych i martwych komórek patogenu. Konieczne jest ujednoczenie procedur izolacji i oczyszczania DNA, stworzenie banku wzorców molekularnych dla poszczególnych gatunków grzybów (RAPD i RFLP) oraz opracowanie gatunkowo-specyficznych sond molekularnych.

Znaczenie parazytologicznej diagnostyki molekularnej dla lekarza klinicysty omówił w kolejnym wystąpieniu prof. P. Myjak z Międzywydziałowego Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej Akademii Medycznej w Gdańsku. Podstawowe badania diagnostyczne pozwalają ocenić intensywność zarażenia, wykryć różne postacie rozwojowe, określić ich żywotność. Wykazują jednak wiele wad — trudności w identyfikacji gatunków podobnych lub bliźniaczych, niekiedy brak możliwości identyfikacji niektórych stadiów rozwojowych pasożytów, w odniesieniu do niektórych metod — również niską czułość. Techniki molekularne (PCR) wskazane są zwłaszcza w przypadkach niskiej intensywności zarażenia, trudności hodowania pasożytów oraz ich różnicowania w przypadkach, gdy badania serologiczne nie są rozstrzygające. Umożliwiają one także określenie lekooporności pasożyta — np. *Plasmodium falciparum*. Autor przedstawił porównanie wyników diagnostycznych badań mikroskopowych i serologicznych z techniką PCR w kierunku wykrycia gatunków *Plasmodium*, różnicowania *Entamoeba histolytica* sensu lato oraz torbieli bąblowców *Echinococcus multilocularis* i *E. granulosus*.

„Molekularne metody diagnozowania *Neospora caninum*” — to tytuł wystąpienia doc. B. Moskwy z Instytutu Parazytologii PAN. Żywicielem ostatecznym pasożytniczego pierwotniaka *N. caninum* jest pies, natomiast krąg żywicieli pośrednich jest bardzo szeroki, obejmuje również zwierzęta hodow-

lane — krowy, owce, konie. Pasożyt, wykazujący bliskie pokrewieństwo filogenetyczne z *Toxoplasma gondii*, jest przyczyną poważnych strat ekonomicznych. Tachyzoity przenikają przez łożysko i powodują obumieranie zarodków, płodów, ronicenia, porody martwych cieląt. Zarażone zwierzęta wykazują wiele zaburzeń ze strony układu nerwowego, wodogłowie, nieprawidłowości dotyczące zrastania kości czaszki i inne będące zwykle przyczyną ich śmierci. Diagnozowanie jest utrudnione ze względu na niespecyficzną lokalizację w oun i zwykle niewielką liczbę pasożytów oraz brak klasycznych metod parazytologicznych. Dostępny jest obecnie ELISA kit (IDEXX Laboratoria, Inc., Westbrook, Maine, USA) wykrywający przeciwciała anty-*Neospora caninum*. Przedstawiona metoda amplifikacji DNA ze starterami Np6 i Np2121 pozwala wykazać obecność pasożyta w nasieniu buhajów zarodowych lub u zarodków krów serododatnich. Autorka zwróciła uwagę, że postacie tachyzoitów pasożyta przeżywiają w mleku zarażonych krów; niszczy je promieniowanie UV, zamrażanie w -20oC, podgrzewanie do +100oC oraz sterylizacja.

W drugiej części obrad, której przewodniczyli: prof. Andrzej Kaszuba (UM, Łódź) i prof. Romuald Maleszka (AM, Szczecin) pierwszy wykład dotyczył wskazań klinicznych do stosowania itrakonazolu w dermatologii w oparciu o własne badania (prof. A. Kaszuba z UM, Łódź). Itrakonazol jest preparatem przeciwgrzybiczym o najszerszym spektrum grzybobójczym — działa na dermatofity, grzyby drożdżopodobne, pleśniowe i dimorficzne. Stosowanie terapii pulsowej tym lekiem w grzybicy paznokci wykazuje skuteczność powyżej 80%, zmniejsza ekspozycję na lek, a tym samym poprawia bezpieczeństwo terapii i zmniejsza ryzyko interakcji lekowych, obniża także koszty leczenia. Najbardziej skuteczną metodą leczenia umiarkowanych i ciężkich postaci tojetokowego zapalenia skóry było stosowanie itrakonazolu doustnie (pierwszy tydzień — 2x100 mg, następnie 200 mg dziennie przez pierwsze dwa dni 1x na dwa tygodnie — 3 cykle leczenia), w skojarzeniu z miejscowo stosowanym 1% kremem Clotrimazol oraz szamponem Nizoral.

Zespół z Katedry i Kliniki Chorób Skórnych i Wenerycznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie (prof. R. Maleszka, dr V. Ratajczak-Stefańska) omówił badania mikologiczne w różnych postaciach grzybicy paznokci. Przedstawił zdjęcia zmian płytek paznokciowych wywołanych przez różne gatunki dermatofitów, obrazy uzyski-

wanych preparatów mikroskopowych hodowli, preparatów histopatologicznych. Najczęściej wykrywanym gatunkiem wywołującym grzybicę paznokci był *Trichophyton rubrum* (46,6%), następnie *T. mentagrophytes* (21,5%), *Scopulariopsis brevicaulis* (11,9%), *Candida albicans* (10,4%); inne gatunki z rodzaju *Candida* stanowiły 4,4%, a *T. tonsurans* — 6,2%. Autorzy podkreślili, że w diagnostyce nie można opierać się wyłącznie na badaniu klinicznym, gdyż u ponad 50% pacjentów z charakterystycznymi dla onychomikozy zmianami płytek paznokciowych, badanie mikologiczne nie potwierdza grzybicy.

W kolejnym wystąpieniu (A.K. Kurnatowska, A. Kurnatowska, UM Łódź) przedstawiono „Wrażliwość różnych gatunków grzybów z rodzaju *Candida* na leki azolowe stosowane w grzybicach narządowych”. W oparciu o wartości MIC leku obliczonych z krzywych działania, w układzie półlogarytmicznym (wg prof. R. Kadłubowskiego), oceniano wrażliwość grzybów wyizolowanych z różnych ontocenoz. Stwierdzono, że wieloboki zmienności wartości MIC są zbliżone do rozkładu normalnego dla wszystkich ocenianych leków.

W doniesieniu dr M. Ogrodzińskiego i prof. A. Kurnatowskiej (UM, Łódź) przedstawiono prevalencję oraz cechy fenotypowe grzybów, wyodrębnionych z narządów płciowych kobiet w badaniach przesiewowych i klinicznych w regionie pomorsko-drawskim. Podkreślono, że spośród wyizolowanych grzybów najczęstszym gatunkiem była *Candida albicans* (77,1%) i *C. glabrata* (11,8%), zaś łączna prevalencja grzybów w narządach płciowych kobiet z tego regionu wyniosła 27,3+3,41. Potwierdzono wysoką zbieżność występowania grzybów z rozpoznaniem klinicznym choroby oraz poszczególnymi objawami grzybicy, np. obrzękiem ściany pochwy, zmianami grudkowatymi ścian pochwy, treścią serowatą w pochwie. Wykazano natomiast wskaźnikiem Q rozbieżność występowania grzybów i następujących parametrów: antykoncepcji hormonalnej, hormonalnej terapii zastępczej, antykoncepcyjnej wkładki wewnątrzmacicznej, obecności treści surowiczej w pochwie. Zwrócono uwagę na fakt, że cechy fenotypowe biochemiczne w największym stopniu charakteryzują poszczególne gatunki *Candida*, co m.in. wyraża się odpowiednim kodem cyfrowym, zależnym od zdolności asymilacji określonych związków chemicznych. Największą różnorodność kodów stwierdzono wśród szczepów *C. albicans*. Spośród 19 zbadanych hydrolaz — niezależnie od gatunku *Candida* — najwyższą

aktywnością cechowały się fosfataza kwaśna i aryamidaza leucynowa.

W dwóch kolejnych doniesieniach, zespół z Kliniki Patologii Noworodków, Niemowląt i Kardiologii oraz Zakładu Propedeutyki Pediatrii AM w Lublinie przedstawił rzadkie przypadki zarażeń grzybiczych u noworodków. Podkreślono, że choroby infekcyjne, w tym zarażenia grzybami, są najczęstszą przyczyną umieralności noworodków. Niedojrzałość ich układu immunologicznego sprzyja uogólnianiu się zarażeń, które przybierają zazwyczaj charakter fungemii z powstawaniem krwiopochodnych zmian zapalnych i martwiczych w wielu narządach. W pierwszym zaprezentowanym przypadku klinicznym zwrócono uwagę na możliwość wystąpienia grzybiczego zapalenia wsierdza, jako powikłanie przewlekłej antybiotykoterapii, u niemowlęcia bez wady serca (dr M. Kątska, dr G. Polkowska, prof. W. Furmaga-Jabłońska). Czynnikiem etiologicznym zapalenia wsierdza był szczep *C. albicans* wrażliwy na amfoterycynę B i ketokonazol. Kardiologiczne trudności diagnostyczne (kilkakrotnie wykonane echo serca było prawidłowe) i późne potwierdzenie etiologii grzybiczej choroby, przy jednoczesnym bardzo złym stanie ogólnym dziecka (zmiany zapalne w płucach, niewydolność oddechu, wada rozwojowa — wytrzewienie jelit, antybiotykoterapia od 1. doby życia) były czynnikami opóźniającymi wprowadzenie skutecznej terapii ratującej życie niemowlęciu. Drugi przedstawiony przypadek dotyczył trudności diagnostyczno-leczniczych u noworodka z zapaleniem wielostawowym o etiologii grzybiczej (dr Grażyna Polkowska, dr Elżbieta Szponar, dr Beata Kulik-Rechberger, prof. W. Furmaga-Jabłońska — AM, Lublin). Noworodek z podejrzeniem posocznicy gronkowcowej oraz wrodzonego zapalenia płuc był hospitalizowany od 1. doby po urodzeniu na Oddziale Noworodkowym Szpitala Rejonowego, a następnie na Oddziale Patologii Noworodków DSK w Lublinie. W 19. dobie życia z posiewu krwi wyizolowano szczep *C. albicans* wrażliwy na amfoterycynę, itrakonazol, flukonazol, flucytozynę. Po włączeniu do leczenia woriakonazolu nadal narastały objawy zapalenia stawu ramieniowego mimo, że kolejne kontrolne posiewy krwi w kierunku bakterii i grzybów były ujemne. Dopiero w 53. dobie z płynu stawowego uzyskano wzrost szczepu *C. albicans* wrażliwego na amfoterycynę B. Po 10 dniach stosowania amfoterycyny B objawy zapalenia stawów stopniowo ustąpiły; niemowlę wypisano w 97. dobie życia w stanie ogólnym dobrym, bez ograniczeń ruchowych w sta-

wach, lecz z obustronnym niedosłuchem. W obu przedstawionych przypadkach klinicznych zwrócono uwagę na duże trudności w wykryciu grzybów w materiałach biologicznych pobieranych od noworodków.

Dr Izabela Żelazny i prof. Roman Nowicki (AM, Gdańsk) przedstawili problem jakości życia chorych z grzybicą paznokci. Autorzy podkreślili, że w ciągu ostatnich lat obserwuje się wzrost zainteresowania pojęciem jakości życia, również w naukach medycznych. Pojęcie to oznacza funkcjonalny efekt choroby i jej leczenia, odczuwalny przez pacjenta. Zastosowanie metody pomiaru tego parametru, z wykorzystaniem kwestionariusza Skindex, u pacjentów z grzybicą paznokci leczonych ambulatoryjnie w Klinice Dermatologii AMG w Gdańsku potwierdziło, że ten rodzaj grzybicy bardzo istotnie obniża jakość życia uwarunkowaną stanem zdrowia.

Obrodom części III zjazdu przewodniczyli: prof. dr Tomasz Ferenc (UM, Łódź), prof. dr Jan Kuydowicz (UM, Łódź), prof. dr Barbara Machnicka-Rowińska (IP PAN, Warszawa) i doc. dr Eugeniusz Małafiej (ICZMP, Łódź).

Uwarunkowania środowiskowe powstawania nowych i wznowienia znanych infekcji były tematem pierwszego wykładu w tej części obrad (prof. B. Machnicka-Rowińska, dr E. Dziemian, dr M. Kołodziej-Sobocińska — IP PAN, Warszawa). Przedstawiono szczegółową listę patogenów rozpoznanych od roku 1973 (m.in. *Rotavirus* 1973, *Ebola virus* 1977, *Helicobacter pylori* 1983, *Hepatitis G virus* 1995, *Avian influenza virus* (H5N1) 1997). Zwrócono uwagę na różnorodność czynników etiologicznych nowych chorób. Ze strony patogenu wpływają na to mutacja, rekombinacja, dryf genetyczny; ze strony żywiciela — immunosupresja, z czynników ekologicznych: zmiany w użytkowaniu ziemi, urbanizacja. Obecnie ocenia się, że spośród znanych 1415 gatunków infekcyjnych dla człowieka aż 175 gatunków wywołuje nowe choroby, wśród nich 132 gatunki to zoonozy. Podkreślono, że zoonotyczne patogeny są dwukrotnie częściej przyczyną nowych chorób niż niezoonotyczne. Największą skłonność do wywoływania nowych chorób wykazują wirusy i pierwotniaki, najmniejszą helminaty. Wirusy obarczają ludzi najwyższym wskaźnikiem (RR — czynnik ryzyka) rozwinięcia się nowych chorób człowieka i zwierząt domowych ze względu na krótki okres generacji, duży stopień mutagenności i brak skutecznych leków. Dla populacji człowieka niepokojący jest fakt przekroczenia

przez niektóre patogeny (np. wirus ptasiej grypy — H5N1) barier gatunkowych i ograniczeń geograficznych.

Następnie zespół z Łodzi (dr K. Dzitko, dr J. Gatkowska, dr P. Stączek, prof. H. Długońska — UŁ) przedstawił zjawisko reinwazji *Toxoplasma gondii* na modelu doświadczalnej toksoplazmozy u myszy szczepu BALB/c. Zwierzęta zarażano 5 cystami mózgowymi mało zjadliwego szczepu *T. gondii* DX, wywołując u nich przewlekłą toksoplazmozę. Użyty w doświadczeniu szczep DX należy do wewnątrzgatunkowego typu II, który u ludzi najczęściej powoduje przewlekłą toksoplazmozę i jest przyczyną toksoplazmozy wrodzonej. Dwie grupy myszy (z prawidłową i obniżoną odpornością po zastosowaniu cyklofosfamid) po 15 dniach od pierwotnego zarażenia, były wtórnie zarażane szczepem *T. gondii* DX lub BK (należącego do typu I, wysoce zjadliwego dla myszy). Uzyskane wyniki wykazały, że zarażenie pierwotne *T. gondii* DX indukuje wytworzenie silnej odporności, której nie przełamuje nawet stan głębokiej immunosupresji; ponadto nie zaobserwowano reaktywacji latentnego zarażenia. Podkreślono, że silna swoista odporność zapobiega rozwojowi zarażenia wywołanego wyłącznie szczepem homologicznym, natomiast nie chroni przed reinwazją szczepu innego genotypu.

Zespół z Łodzi i Warszawy — dr D. Nowakowska, prof. K. Szaflik, dr E. Gołąb, dr E. Śpiewak, doc. E. Małafiej, prof. J. Wilczyński (UM, ICZMP, Łódź; PZH, Warszawa) przedstawił różne aspekty toksoplazmozy wrodzonej, diagnostyki prenatalnej oraz okresu noworodkowego w oparciu o własne przypadki kliniczne. Podkreślono, że w profilaktyce toksoplazmozy wrodzonej rekomendowane jest badanie kobiet jeszcze przed zajściem w ciążę, a następnie w I, II i III trymestrze. W praktyce najczęściej pierwsze badanie matki ma miejsce dopiero w 35 tygodniu ciąży. Podstawą diagnostyki prenatalnej toksoplazmozy jest wykrycie DNA *T. gondii* w płynie owodniowym płodu przy użyciu technik biologii molekularnej, głównie reakcji PCR. Badaniem uzupełniającym jest próba biologiczna polegająca na inokulacji myszy odwirowanym płynem owodniowym. Kontrola serologiczna zwierząt dokonuje się po upływie 4 do 6 tygodni; po stwierdzeniu u nich przeciwciał anti-*T. gondii* poszukuje się cyst pierwotniaka w mózgu zarażonego zwierzęcia. Diagnostyka neonatalna prowadzona jest u noworodków matek, u których stwierdzono serokonwersję w ciąży. Badania dotyczą noworodków, u których nie wykonano diagnostyki prenatalnej,

rozpoznano *in utero* toksoplazmozę wrodzoną oraz nie stwierdzono zarażenia *T. gondii* w oparciu o wyniki badań przeprowadzonych prenatalnie. W diagnostyce neonatalnej parazytologicznej poszukuje się pierwotniaków w łożysku przy użyciu techniki PCR i inokulacji myszy. Diagnostykę serologiczną stosuje się w celu zbadania obecności swoistych przeciwciał IgA, IgG i IgM w krwi pępowinowej. Dla rozróżnienia przeciwciał matczynych i płodowych stosuje się metody ELISA i *Western Blot*, umożliwiające porównanie elektroforetycznego profilu antygenowego badanych przeciwciał. Diagnostyka postnatalna polega na wielokrotnej kontroli serologicznej przeciwciał IgG, IgM i IgA w krwi niemowlęcia do pierwszego roku życia dziecka. Wymagana jest u dzieci matek zarażonych w trakcie trwania ciąży, u których nie przeprowadzono diagnostyki prenatalnej i okresu noworodkowego. Szczegółowo omówione przypadki dotyczyły toksoplazmozy wrodzonej wykrytej u płodów w różnych okresach ciąży (28, 32 tygodniu), w Klinice Medycyny Matczyno-Płodowej ICZMP w Łodzi.

Dwa kolejne przypadki toksoplazmozy wrodzonej przedstawił zespół z Kliniki Patologii Noworodków, Niemowląt i Kardiologii AM w Lublinie. Podkreślono, że zakażenie *T. gondii* u płodu/novorodka może mieć charakter objawowy lub przebiegać bezobjawowo. Ocenia się, że 85% niemowląt z bezobjawową, nieleczoną toksoplazmozą w przyszłości może wykazywać zaburzenia ze strony OUN (20-75%), narządu wzroku (80-90%), narządu słuchu (10-30%). Omówiono śmiertelny przypadek ostrego zapalenia mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych u noworodka z toksoplazmozą wrodzoną (dr E. Szponar, dr B. Kulik-Rechberger, dr G. Polkowska, prof. W. Furmaga-Jabłońska — AM, Lublin). W 18 dobie życia noworodek w stanie ciężkim z objawami zapalenia mózgu został hospitalizowany na Oddziale Noworodkowym Szpitala Rejonowego. W badaniu okulistycznym wykryto zrosty okrężne, wysięk w ciele szklistym, pasma tkanki łącznej. Po 3 dobach noworodek z rozpoznaniem toksokarozy został skierowany do Kliniki Patologii Noworodków DSK w Lublinie, gdzie badaniem serologicznym wykryto toksoplazmozę wrodzoną. Pomimo zastosowania leków przeciwprzywrotniakowych, złożonej antybiotykoterapii, podaży immunoglobulin i leków wspomagających dziecko po 2 i 1/2 miesięcznym leczeniu zmarło. Następnie zaprezentowano objawowy przypadek toksoplazmozy wrodzonej u jednego z bliźniąt (dr B. Kulik-Rechberger, dr G.

Polkowska, dr E. Szponar, prof. W. Furmaga-Jabłońska — AM, Lublin). W 30 tygodniu ciąży u jednego z płodów (badaniem USG) rozpoznano wodogłowie wewnętrzne. Na podstawie badań serologicznych u matki wykryto toksoplazmozę. Pomimo zastosowanego leczenia nastąpiło trwałe uszkodzenie płodu. Niemowlę badane w 7 miesiącu życia wykazywało upośledzenie sprawności ruchowej, słabo reagowało na bodźce wzrokowe. Rozwój psychomotoryczny był bardzo opóźniony, a wiek rozwojowy oceniono na 1 miesiąc.

Zespół z Krakowa (dr A. Gniadek, prof. A. B. Macura — UJ) omówił występowanie grzybów w środowisku oddziału położniczo-noworodkowego pracującego w systemie rooming-in. Zwrócono uwagę na fakt, że większość infekcji grzybiczych notowanych wśród noworodków wywołana jest szczepami *Candida* (ponad 90% wszystkich zarażeń grzybiczych w pierwszych tygodniach życia dziecka), niemniej jednak coraz częściej obserwuje się zarażenia grzybami z rodzaju *Aspergillus*. U zdrowych noworodków, zarówno urodzonych o czasie, jak i u wcześniaków, może rozwinąć się pierwotna aspergiloza skórna, która w warunkach obniżonej odporności organizmu może przejść w uogólnioną aspergilozę wtórną. Materiał do badań mikologicznych stanowiło powietrze pobrane w godzinach rannych i wieczorem z 14 różnych pomieszczeń oraz powierzchni ścian Oddziału Położniczo-Noworodkowego Szpitala im. S. Żeromskiego w Krakowie. Zaobserwowano, że pora dnia nie ma istotnego wpływu na liczbę grzybów wyhodowanych z prób powietrza. Uzyskane wyniki potwierdzają, że źródłem zarażeń grzybiczych na tych oddziałach może być powietrze zawierające oportunistyczne grzyby z rodzaju *Aspergillus*, głównie *A. fumigatus*, który izolowano z powietrza wszystkich badanych pomieszczeń.

W dalszej kolejności przedstawiono (dr A. Maciejewska, dr A. Jaskółowska, prof. J. Kwaśniewska — UM, Łódź) aktywność wybranych enzymów hydrolitycznych w szczepach *C. albicans* i *C. glabrata*, wyizolowanych z różnych ontocenoz pacjentek z cukrzycą typu 2. Podkreślono, że cukrzyca jest jednym z czynników sprzyjających rozwojowi grzybiczy wywołanej gatunkami oportunistycznymi. W szczepach *C. albicans* wyodrębnionych od pacjentek hospitalizowanych wykazano istotnie wyższą aktywność N-acetylo-(-glukozamidazy i (-glukozydazy niż w szczepach od chorych leczonych ambulatoryjnie. Natomiast w szczepach *C. glabrata* wyizolowanych od kobiet leczonych ambulatoryjnie

wykryto wyższą aktywność fosfohydrolazy naftolowej niż w szczepach od pacjentek poddanych hospitalizacji. Zdaniem autorek stwierdzenie różnic aktywności niektórych enzymów w szczepach *Candida* w zależności od grupy pacjentek z cukrzycą typu 2 pozwala na bliższą charakterystykę szczepu grzyba i może wiązać się z jego patogennością.

Obrady cz. III Dnia Klinicznego zakończyły doniesienia poświęcone występowaniu kleszcza pospolitego *Ixodes ricinus* L. w środowiskach o różnym stopniu antropopresji (dr W. Biaduń, dr S. Krasnodębski — AM, Lublin) oraz kleszcza łąkowego *Dermacentor reticulatus* Fabricius, 1794 na Lubelszczyźnie (dr W. Biaduń, dr J. Chybowski, mgr inż. N. Najda AM, Lublin). Zwrócono uwagę na fakt, że obecnie kleszcz pospolity ze względu na swoją niespecyficzną żywicielską (gatunki dzikie i synantropijne) występuje we wszystkich środowiskach, zarówno naturalnych jak i silnie zmienionych antropogenicznie. Natomiast miejscem stałego występowania kleszcza łąkowego jest region lubelski. Praw-

dopodobnie ma to związek z wyraźną zmianą zasięgu i wzrostem liczebności łosia, który obok jelenia jest głównym żywicielem *Dermacentor reticulatus*. Niepokojącym jest fakt wykrycia krętków *Borrelia burgdorferi* u kleszczy zebranych z jeleni.

Na zakończenie obrad, Przewodnicząca Łódzkiego Oddziału PTP prof. Jolanta Kwaśniewska, podziękowała wszystkim uczestnikom i serdecznie zaprosiła na kolejny 46. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej. Tematem będą zagadnienia dotyczące prewencji, diagnostyki, terapii w odniesieniu do grzybów i pasożytów u pacjentów z grup podwyższonego ryzyka zarażenia.

Anna Wójcik
Joanna Błaszowska
Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej
Katedra Biologii i Genetyki Medycznej
Uniwersytet Medyczny
Łódź