

Z życia naukowego

48. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej „Rezerwuary pasożytów i grzybów chorobotwórczych w populacji człowieka i środowisku”

48. Day of Medical Parasitology „Reservoirs of parasites and pathogenic fungi in human population and the environment”

48. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej odbył się 24 kwietnia 2009 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, którego program obejmował 24 referaty i doniesienia, były „Rezerwuary pasożytów i grzybów chorobotwórczych w populacji człowieka i środowisku”. Obrady otworzyła Przewodnicząca ŁO Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego – prof. dr hab. Jolanta Kwaśniewska – witając wszystkich przybyłych członków Towarzystwa, sympatyków i zainteresowanych problematyką parazytologii i mikologii. Następnie Prezes Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego i V-ce Przewodnicząca Komitetu Parazytologii PAN – prof. dr hab. Bożena Moskwa – witając uczestników, podkreśliła konsekwencję ośrodka łódzkiego w organizowaniu kolejnych DKPL, różnorodność i aktualność zagadnień przedstawianych podczas kolejnych zjazdów oraz miłą atmosferę towarzyszącą corocznym spotkaniom.

Pierwszą część obrad Sympozjum, której przewodniczyły prof. dr hab. Elżbieta Lonc i prof. dr hab. Bożena Moskwa, rozpoczęło wystąpienie zespołu z Uniwersytetu Wrocławskiego (prof. E. Lonc, prof. A. Wieliczko, mgr K. Plewa) pod tytułem „Mapowanie mikologicznych zagrożeń środowiskowych z zastosowaniem GIS”. Geograficzny System Informacyjny (GIS, Geographic Information System) to „Zorganizowany system składający

się z komputera, oprogramowania, danych geograficznych i obsługi, zaprojektowany w celu efektywnego przechowywania, uaktualniania, przetwarzania, analizowania i wyświetlania wszystkich form informacji mających odniesienie geograficzne” (Urbański 1997). Podstawą funkcjonowania systemu GIS jest zgromadzenie odpowiednich, wzajemnie ze sobą powiązanych, danych o środowisku: przestrzennych (graficznych – na podstawie zdjęć lotniczych, satelitarnych, map analogowych, pomiarów geodezyjnych, GPS) i atrybutowych (opisowych), w tym biologicznych, np. mikologicznych. Autorki przedstawiły konstruowanie mapy cyfrowej umiejscowienia patogenów – grzybów izolowanych w przeprowadzonych w 2008 roku badaniach sekcyjnych płuc jednodniowych kurcząt *Gallus gallus domesticus* z 15 wybranych ferm na terenie województwa dolnośląskiego. Efektem końcowym zastosowania programu komputerowego ArcView była mapa obejmująca: lokalizację ferm, diagramy kołowe przedstawiające najczęściej wykrywane w fermach grzyby powodujące inwazje płuc kurcząt (*Aspergillus fumigatus* stwierdzono w ok. 17% przypadków, *Aspergillus flavus* – w ok. 0,5% i *Candida* sp. – w 1,5%) oraz ekstensywność inwazji (wynosiła od 12 do 100%). Mapa taka umożliwiła wizualizację i analizę zagrożeń epidemiologicznych (np. odległość ferm i budynków mieszkalnych, zbiorników wodnych) oraz ułatwia podejmowanie działań profilaktycznych w zakresie ochrony zdrowia. Odpowiadając na pytania po prezentacji mgr K. Plewa wyjaśniła, że nie można mówić o grzybiccy u padłych kurcząt oraz, że planowane są badania oceniające liczbę zarodników grzybów w powietrzu ferm hodowlanych.

Następnie zespół z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego (prof. M. Dynowska, mgr K. Góralaska, mgr J. Pacyńska, dr hab. W. Meissner) przedstawił prezentację zatytułowaną „Dzikie kaczki jako wektor i źródło zarażeń grzybami”. Ocenia się, że wśród grzybów wolno żyjących w przyrodzie ok. 300 gatunków, z różnych grup systematycznych i ekologicznych, wykazuje właściwości chorobotwórcze w stosunku do człowieka; w 1995 r., Richardson i Warnock wymieniali „jedynie” ok. 200 gatunków patogennych. Do tej liczby należy dodać gatunki grzybów wywołujące mikoalergozę („mould asthma”, „oculorhinitis”). Najnowsze badania epidemiologiczne wskazują na szczególną rolę dzikich ptaków (wróblowe, szpaki, gołębie, kruki, drozdy, przepiórki, sowy, łuszczeniaki, dzikie kaczki, gęsi, mewy, rybitwy, nurzyki) biorących udział w transmisji bakterii, wirusów i grzybów w środowisku. Wśród grzybów, przenoszonych często na znaczne odległości, wykrywano gatunki z rodzajów: *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Microsporium* i *Trichophyton*. We wcześniejszych, własnych badaniach ptaków siewkowych wyizolowano 41 gatunków, wśród których dominowały grzyby z rodzaju *Aspergillus* (45,5%), rzadziej *Candida* (20,5%) i *Rhodotorula* (13,5%); *Cryptococcus neoformans*, najczęściej kojarzony z ptakami, stanowił około 8% gatunków. Należy podkreślić wykrycie *A. clavatus* – występującego w klimacie tropikalnym i śródziemnomorskim i *A. versicolor* – w klimacie chłodnym. Z materiałów biologicznych pochodzących od kormoranów (dziób, kloaka, żołądek, dwunastnica, jelita) Autorzy uzyskali 14 gatunków z 8 rodzajów grzybów drożdżopodobnych: *Dipodascus*, *Galactomyces*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Saccharomycopsis*, *Candida*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* oraz jeden gatunek grzyba pleśniowego z rodzaju *Acremonium*. Zdecydowanym dominantem okazała się *Candida krusei* (28% izolatów dodatnich); rzadziej oznaczono *Debaryomyces hansenii* (12%) oraz *Dipodascus macrosporus* (8%), *Candida saitoana* (8%) i *Rhodotorula glutinis* (8%). W aktualnie prowadzonych, wspólnie z Zespołem Ekofizjologii Ptaków Katedry Ekologii i Zoologii Kręgowców Uniwersytetu Gdańskiego, badaniach 42 dzikich kaczek żerujących w wodach miejskich Gdańska i Olsztyna (wymazy z dzioba i kloaki pobrane przyżyciowo od zdrowych ptaków) wykryto 56 grzybów pleśniowych, należących do 21 gatunków oraz 54 – drożdżopodobnych, należących do 19 gatunków; najczęściej wykrywane były: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Penicillium ci-*

trinum, *P. chrysogenum* oraz *Candida albicans*, *C. krusei*, *Cryptococcus neoformans* i *C. laurentii*. Wszystkie stwierdzone gatunki to potencjalne antropopatogeny, które uwalnianie z wydalninami i wydzielinami ptaka namnażają się lub przeżywają w środowisku zewnętrznym, a następnie mogą być przenoszone do nowego gospodarza. Przedstawione wstępne obserwacje mikologiczne wskazują na bogactwo gatunkowe potencjalnie chorobotwórczych grzybów zasiedlających ontosferę dzikich kaczek z populacji miejskiej. Zastosowana metoda przyżyciowa pozwoliła także określić zakres i stopień komensalizmu między grzybem i ptakiem.

Kolejne wystąpienie dotyczyło zwierząt wolno żyjących jako rezerwuaru włośnicy w Polsce. Prezentacja zespołu z Instytutu Parazytologii PAN (prof. B. Moskwa, prof. W. Cabaj, dr J. Bień, dr K. Goździk) przypominała biologię włośnicy, historię odkrycia gatunku *Trichinella spiralis* i kolejnych gatunków tego rodzaju, a także dane dotyczące epidemiologii włośnicy na Świecie. Wykrycie obecności pasożyta w organizmie zwierzęcia umożliwiają metody wytrawiania i kompresorowa. Jednak, aby zidentyfikować gatunek, konieczne jest zastosowanie metod molekularnych, np. Multiplex-PCR, czy Multiplier Large Mitochondrial rRNA Amplification, pozwalających wykryć również inwazję mieszaną (do 4 gatunków pasożyta). Autorzy przebadali różne gatunki zwierząt i wykryli u świni domowej, wśród 21 izolatów – jeden przypadek *T. britovi* (4,7%) i 20 – *T. spiralis* (95,3%), wśród 95 izolatów u dzików – 22 *T. britovi* (21,6%), 66 *T. spiralis* (69,8%); 2 przypadki inwazji mieszanych wymienionymi gatunkami, 5 izolatów pozostało nierozpoznanych. Wśród zbadanych lisów 6,41 % było zarażonych; zidentyfikowano 74 izolaty: 52 (70,3%) – *T. britovi*, 6 (8,1%) – *T. spiralis*, 4 (5,4%) stanowiły inwazje mieszane *T. spiralis/T. britovi*; nie zidentyfikowano 12 (16,2%) izolatów. Wśród 10 wilków pochodzących z Bieszczad, 6 było zarażonych jedynie gatunkiem *T. britovi*. Pozostałe przebadane drapieżniki: ryś, tchórze i kuna były także zarażone. Inny gatunek, *T. pseudospiralis* rozpowszechniony z Papui Nowej Gwiney do Azji dotarł również do Europy, jednak badania potencjalnych żywicieli włośnicy – ptaków drapieżnych i wszystkożernych z terenów Polski nie ujawniły obecności tego pasożyta.

Odpowiadając na pytanie uczestników DKPL, prof. B. Moskwa wyjaśniła, że w Polsce liczba osób zarażających się włośnicą, w ostatnich latach jest znikoma – od 2000 r. obserwowano od 40 do 100

przypadków trichinelozy rocznie, głównie związanej ze spożywaniem mięsa upolowanych dzików, nie poddanych kontroli weterynaryjnej. Wiek osób, hospitalizowanych z powodu tej parazytozy wynosił od ok. 2. do 70 r. ż.

„Różnicowanie grzybów *Candida* sp. izolowanych z mleka krów z objawami *mastitis*” to tytuł prezentacji zespołu z SGGW z Warszawy (mgr inż. D. Szopa, mgr A. Krutkiewicz., dr M. Biegańska, prof. M. Kleczkowski, prof. B. Dworecka-Kaszak). Grzyby z rodzaju *Candida* są jednym z najczęściej izolowanych czynników etiologicznych chorób skóry, błon śluzowych u ludzi, a także u tzw. „pets”, czyli zwierząt towarzyszących człowiekowi oraz u zwierząt hodowlanych. W literaturze zwraca się też uwagę na narastający odsetek przypadków grzybiczego zapalenia gruczołu mlekowego u krów (*mycotic mastitis*), a także na częstą izolację grzybów z rodzaju *Candida* z przetworów mlecznych i mleka, nawet pasteryzowanego. Stan zapalny wymienia powoduje różne zmiany jakościowe w mleku, obniżające jego przydatność spożywczą. W naszym kraju ok. 30% krów w ciągu roku choruje na *mastitis* z objawami klinicznymi, a ok. 40% stale wykazuje w wymieniu zmiany subkliniczne. Czynniki etiologicznymi *mastitis* u krów są bakterie, grzyby, mykoplazmy, a także wirusy i algi. Drobnoustroje te mogą przedostać się do mleka pośrednio z otoczenia (niedostateczna higiena) oraz bezpośrednio, wskutek wydalania ich do mleka przez zakażone zwierzę, powodując u ludzi i zwierząt zakażenia zwane mlekopochodnymi (*milkborne diseases*). Celem pracy było określenie częstości izolacji drożdży i grzybów drożdżopodobnych z mleka krów wykazujących kliniczne objawy zapalenia gruczołu mlekowego. Przebadano ogółem 66 próbek pochodzących od 44 zwierząt, w tym 26 z okolic Łomży i 18 z okolic Warszawy. Z 15% próbek mleka pobranego od chorych krów wyizolowano drobnoustroje typowe dla bakteryjnych zakażeń gruczołu mlekowego (*Str. agalactiae*, *Str. alfa-hemolityczny*, *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus* sp.). W 57% próbek grzyby stanowiły czynnik towarzyszący wymienionym bakteriom, a w 14% – były jedynym mikroorganizmem odpowiedzialnym za chorobę. Dominowały grzyby należące do rodzaju *Candida*: *C. parapsilosis* (46%), *C. krusei* (27%), *C. famata* (9%), *C. lusitaniae* (9%), *C. guiliermondii* (5%), *C. tropicalis* (2%) i *C. albicans* (2%). Z próbek mleka wyizolowano także grzyby z rodzajów: *Trichosporon* (w 7 próbkach), *Geotrichum* (3), *Cryptococcus* (9), *Saccharomyces* (5) oraz *Rhodoturula*

(3). Badania lekooporności izolatów grzybów wykazały, iż jest ona zróżnicowana, zależna od gatunku, ale również od terytorialnej dystrybucji szczepów. Wydaje się zatem, że zwierzęta i pozyskiwane od nich produkty, w tym mleko, przeznaczone do spożycia dla ludzi mogą stanowić rezerwuuar grzybów z rodzaju *Candida*.

Następnie zespół z Kliniki Gastroenterologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi (dr A. Ryngajło, dr L. Bąk-Romaniszyn, dr M. Łudzicki, dr J. Mielczarek, prof. E. Małecka-Panas) przedstawił pracę pt. „Ocena środowiskowych czynników ryzyka zarażenia *Ascaris* sp. u dzieci z rozpoznaną glistnicą”. Sytuacja epidemiologiczna glistnicy w Polsce nie jest w pełni rozpoznana. Częstość tej parazytozy oceniana w różnych okresach jest bardzo zmienna (1992/93 – 0,85%, 1997/98 – 2,8%, 2002/03 – 0,83%), co znacząco warunkują czynniki środowiskowe. Badaniem objęto 200 dzieci w wieku od 3 do 18 lat, w tym 100 dzieci z rozpoznanym zarażeniem *Ascaris* sp. oraz 100 dzieci z wykluczonym zarażeniem *Ascaris* sp. Kryterium zarażenia była obecność przeciwciał p/*Ascaris* sp. klasy G w surowicy, wykrywanych metodą ELISA. Przeprowadzono ankiety, zawierające pytania dotyczące m.in. warunków sanitarnych, higieny spożywania posiłków, kontaktów ze zwierzętami gospodarczymi, posiadania ogródków działkowych i stosowania nawozu naturalnego. Stwierdzono istotną zależność między występowaniem zarażenia *Ascaris* sp. u dzieci a spożywaniem wody czerpanej ze studni, odprowadzaniem ścieków do szamba, spożywaniem niemytych jarzyn, brakiem mycia rąk przed posiłkami i po skorzystaniu z toalety.

Na zakończenie pierwszej części Sympozjum prof. Henryka Długońska (UŁ, Łódź), w wystąpieniu zatytułowanym „Harald zur Hausen – badacz z pasją”, przedstawiła sylwetkę i osiągnięcia naukowej laureata nagrody Nobla z zakresu fizjologii i medycyny z 2008 r. Ten wybitny niemiecki wirusolog dzięki swoim badaniom wirusów papilloma, stworzył podstawy do uzyskania szczepionki przeciwko rakowi szyjki macicy. Autorka prezentacji omówiła również budowę i właściwości różnych typów wirusów HPV, onkogennych dla ludzi.

Prof. Elżbieta Lonc kończąc pierwszą sesję zwróciła uwagę na konieczność wprowadzenia szczepień przeciw rakowi szyjki macicy dla dziewcząt, ale również dla starszych kobiet.

Drugą część obrad, której przewodniczyli prof. dr hab. Henryka Długońska i prof. dr hab. Ro-

man Nowicki, rozpoczęła prezentacja pt. „Dermatomikozy w rejonie Gdańska (1984–2004)” (prof. R. Nowicki; AM, Gdańsk). W okresie 25 lat stwierdzono u ok. 50 000 pacjentów 9 261 dermatomikoz zlokalizowanych najczęściej w paznokciach stóp (30%), rzadziej na skórze gładkiej (17,5%), w paznokciach rąk (16,5%), na stopach (15%), w jamie ustnej (5,5%), na skórze owłosionej (5%), w pachwinach (4%), na dłoniach (3,5%) i narządach płciowych (3%). W 51,9% były one wywołane przez dermatofity, głównie *Trichophyton mentagrophytes* i *T. rubrum* (po 36%), a także przez *Microsporum canis* (21%), *Epidermophyton floccosum* (5%) i inne (1%). Pozostałe dermatomikozy spowodowane były przede wszystkim grzybami z rodzaju *Candida* (39,6%); *Malassezia* spp. była przyczyną 5,1% przypadków, a pleśnie – 3,4%. Autor przedstawił szczegółowe dane dotyczące poszczególnych dermatomikoz (gatunków je wywołujących, umiejscowienia zmian na skórze pacjentów), bogato ilustrując je zdjęciami obrazów klinicznych chorób.

Molekularna diagnostyka grzybiczych zakażeń skórnych u zwierząt była przedmiotem kolejnego wystąpienia przedstawionego przez zespół z SGGW z Warszawy (prof. B. Dworecka-Kaszak, mgr A. Krutkiewicz, dr M. J. Biegańska). Większość dermatofitów mających znaczenie w weterynarii należy do rodzajów *Trichophyton* lub *Microsporum*. Dla człowieka dużym zagrożeniem epidemiologicznym są zarażenia zwierząt domowych oraz gospodarskich. Zwierzęta chore lub bezobjawowi nosiciele są bardzo istotnym rezerwuarem dermatofitów w środowisku i stanowią źródło zarażenia dla innych zwierząt i ludzi. Szerzenie się dermatofitów w stadach zwierząt przynosi znaczne straty ekonomiczne i ogranicza wartość hodowlaną zwierząt. Rutynowa diagnostyka laboratoryjna grzybic oparta na metodach klasycznych jest czasochłonna i nie pozwala niejednokrotnie, ze względu na duży pleomorfizm i zmienność grzybów, na jednoznaczne określenie przynależności gatunkowej wyizolowanych szczepów. Metody biologii molekularnej stosowane w wykrywaniu zarażeń grzybiczych oraz w identyfikowaniu i ustalaniu pokrewieństwa genetycznego grzybów to metody oparte na: 1. analizie całego materiału genetycznego [elektroforeza pulsacyjna (PFGE), techniki oparte o ligację adaptorów oligonukleotydowych, m.in. analiza polimorfizmu amplifikowanych fragmentów (AFLP, amplified fragment length polymorphism)]; 2. amplifikacji DNA techniką PCR [PCR *fingerprinting*: amplifi-

kacja losowa polimorficznych fragmentów DNA (RAPD, random amplification of polymorphic DNA), amplifikacja znanych regionów genomu połączona z analizą restrykcyjną (PCR-RFLP) – analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych, analiza restrykcyjna sekwencji rybosomalnego rRNA (LSUrRNA)]; 3. sekwencjonowaniu genów (DNA sequence analysis); 4. elektroforezie w gradiencie denaturującym (DGGE, denaturing gradient gel electrophoresis). Metodą polecaną do identyfikacji już wyhodowanych gatunków jest obecnie analiza restrykcyjna sekwencji konserwatywnych regionów ITS (intergenic transcribed spacer) rybosomalnego rRNA, w której wykorzystuje się konserwatywne startery do amplifikacji i analizy sekwencji genów rDNA swoistych dla różnych taksonów (kladów) grzybów. Autorki omówiły analizowane sekwencje DNA, stosowane startery oraz enzymy. Głównym problemem w diagnostyce molekularnej grzybów wydaje się być uzyskanie z próbek odpowiedniej ilości DNA niezbędnej do badań i standaryzacji tych metod.

Kolejną prezentację pt. „Procedury potwierdzające wieloogniskowość inwazji grzybami w kolejnych narządach przewodu pokarmowego” przedstawił zespół z Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi i Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (dr B. Fortak, dr J. Trojanowska-Lipczyk, prof. A. Kurnatowska, dr hab. E. Czekwaniac). Omówiono procedury kliniczne (badanie podmiotowe – dane z wywiadu: przebyte choroby, stosowane leki, czas trwania dolegliwości, ich charakter, lokalizacja, stopień nasilenia, obecny stan ogólny dziecka; badanie przedmiotowe – przeprowadzone wg ogólnie przyjętych zasad), procedury endoskopowe (przygotowanie do zabiegu, kryteria oceny endoskopowej), ocena histopatologiczna zapalenia błony śluzowej przewodu pokarmowego w mikroskopie świetlnym (ocena aktywności procesu zapalnego, a także ocena zaniku i metaplazji; obecność zwyrodnienia i regeneracji nabłonka; obecność i rodzaj nadżerek, grudek chłonnych, obrzęku, włóknienia), ocena cytologiczna materiału z rozmazu szczoteczki, obecność białych nalotów: pojedynczych lub mnogich. Następnie przeprowadzone procedury umożliwiają wykrycie elementów grzyba w materiale pobranym endoskopowo (ocena cytologiczna w poszukiwaniu komórek pączkujących lub różnokształtnych zarodników i fragmentów grzybni) i procedury mikologiczne (preparaty bezpośrednie, preparaty trwale barwione, hodowle na podłożach wybiórczych, mikrohodowle na podłożach wybiórczych).

czych, cechy morfologiczne makroskopowe i mikroskopowe, cechy biochemiczne: zymogram, auksanogram, enzymogram, biotypy). W prezentowanych badaniach z zastosowaniem ww. procedur stwierdzono wysoką prevalencję grzybów w przewodzie pokarmowym dzieci z przewlekłymi bólami brzucha. W większości wykrywano inwazje wielonarządowe: dwuogniskowe (39,2%), trójogniskowe (37,3%); jednoogniskowe i czteroogniskowe były rzadsze (odpowiednio 17,7% i 5,9%). W poszczególnych ontocenozach przewodu pokarmowego najczęściej rozpoznano *Candida albicans*, rzadziej: *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. tropicalis* i *Saccharomyces cerevisiae*. Duża zmienność wewnątrzgatunkowa szczepów uzasadnia ich szczegółową diagnostykę: kodowanie cech biochemicznych (dendrogramy) i ocenę aktywności hydrolaz zewnątrzkomórkowych (enzymogramy, biotypy).

„Charakterystyka grzybów obecnych w środowisku oddziału chemioterapii” to temat kolejnego wystąpienia (dr A. Gniadek, prof. A. B. Macura; CM UJ, Kraków). Celem pracy była ocena występowania grzybów w środowisku oddziału, w którym przebywali pacjenci poddawani chemioterapii oraz określenie cytotoxyczości wybranych szczepów grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Badania przeprowadzono w ciągu 5 kolejnych dni grudnia 2008 roku w Klinice Nowotworów Układowych i Uogólnionych Centrum Onkologii Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Krakowie, pobierając materiał dwukrotnie: rano i wieczorem. Łącznie oceniono 130 próbek powietrza pobranych przy użyciu aparatu MAS 100 (Merck) z 5 sal chorych, dwóch łazienek, pokoju zabiegowego, pokoju do przygotowywania cytotatyków, brudownika, dyżurki pielęgniarskiej, korytarza, kuchni oddziałowej oraz 65 odcisków (metoda Count-Tact) ze ścian zbadanych pomieszczeń. Liczebność grzybów izolowanych z powietrza wahała się między 5–130 j. t. k. i była niska w porównaniu z innymi oddziałami szpitalnymi. Statystycznie więcej grzybów obserwowano w poborach dokonanych wieczorem. Dominującymi mikroorganizmami były grzyby pleśniowe, należące do rodzajów *Penicillium* i *Aspergillus* (w tym *A. fumigatus* 58,1% i *A. flavus* 28,7% izolatów z tego rodzaju). Sporadycznie w powietrzu oznaczano grzyby drożdżopodobne oraz pleśniowe z rodzajów *Mucor*, *Rhizopus* i *Absidia*. Dwadzieścia jeden wyizolowanych szczepów grzybów z rodzaju *Aspergillus* poddano badaniu testem cytotoxyczości MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide); cytotoxyczość potwier-

dzono dla 15 z nich. Autorki zwróciły uwagę, że zmiana flory fizjologicznej i osiedlanie się na błonach śluzowych u zdrowego człowieka drobnoustrojów potencjalnie patogennych, zazwyczaj daje tylko kolonizację. U pacjenta z obniżoną odpornością może doprowadzać do zakażeń miejscowych lub układowych. Kolonizacja drobnoustrojami potencjalnie chorobotwórczymi jest szczególnie niebezpieczna u chorych leczonych wysokimi dawkami cytotatyków. Dlatego też istotnym wydaje się, aby w ocenie mikroflory pomieszczeń, w których przebywają pacjenci o obniżonej odporności, określać liczbę i rodzaj bytujących grzybów oraz dokonywać oceny ich toksyczości.

Wpływ zarażenia grzybami przewodu pokarmowego na zaburzenia rozwoju fizycznego u dzieci był tematem wystąpienia kolejnego zespołu z Łodzi (dr hab. E. Czkwianiac, dr R. Stawerska, dr M. Kolas-Kicińska, prof. I. Płaneta-Małecka, prof. A. Lewiński; UM i ICZMP, Łódź). Przyczynami niedoboru wzrostu u dzieci może być wiele czynników, takich jak: nieprawidłowości stylu życia, choroby przewodu pokarmowego, choroby przewlekłe, zapalne, alergiczne, choroby genetyczne, zaburzenia hormonalne w zakresie osi somatotropinowej (GHD, IGFD), choroby innych gruczołów dokrewnych, czy idiopatyczny niedobór wzrostu (ISS). Przyczyną proliferacji drożdży w przewodzie pokarmowym mogą być natomiast: antybiotykoterapia przeciwbakteryjna, steroidoterapia, hormonalne środki antykoncepcyjne, cytotatyki, środki zobojętniające lub hamujące wydzielanie kwasu żołądkowego (H₂ blokery, PPI), dieta nadmiernie bogata w cukry, środki konserwujące, chlorowana woda. Istotną rolę w mechanizmach kontrolowania apetytu i masy ciała odgrywają neuropetydy. Teoria „mimikry molekularnej” sugeruje, że niektóre antygeny mogłyby indukować powstanie autoprzeciwciał krzyżowo reagujących z peptydami regulującymi apetyt. Mikroflora przewodu pokarmowego jest największym źródłem rozmaitych antygenów. Wg ostatnich doniesień źródłem antygenów dla przeciwciał reagujących krzyżowo z większością tych peptydów mogą być grzyby bytujące w przewodzie pokarmowym. W przedstawionych badaniach oceniano 65 dzieci (27 dziewcząt i 38 chłopców) z niedoborem wzrostu HSDS < -2,0; (HSDS – height standard deviation score, wskaźnik SD wzrostu każdego dziecka, który jest miarą rozrzutu wokół średniej, czyli 50 centyla) w wieku od 5,5 do 14,5 lat (śr. 10,6 ± 3,1 lat); żadne z dzieci nie zgłaszało dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego.

U dzieci przeprowadzono badania przewodu pokarmowego, badania serologiczne, biochemiczne, posiewy mikologiczne z gardła, kału, biopłatów lub wymazów z błon śluzowych oraz oznaczono stężenie GH. Dla każdego dziecka obliczano wartość BMI oraz wskaźnik BMI SDS (BMI standard deviation score). Wartość BMI $< -2,0$ SD wskazuje na niedobór masy ciała, zaś BMI $> +2,0$ SD – na otyłość, a im niższa wartość BMI SDS, tym gorszy jest stan odżywienia dziecka. Analizując wyniki dzieci podzielono na grupy: A – u których wykryto *C. albicans*, AC – dzieci z *C. albicans* i celiakią, AHp – dzieci z *C. albicans* i *H. pylori*, GHD – bez objawów chorobowych z przewodu pokarmowego, ISS – bez objawów chorobowych z przewodu pokarmowego. Uzyskane dane wskazują, iż niedobór GH powoduje znaczny niedobór wzrostu u dzieci, natomiast zazwyczaj masa ciała pozostaje prawidłowa lub nawet zwiększona (niedobór GH sprzyja akumulacji tkanki tłuszczowej brzusznej i otyłości), dzieci z ISS bez objawów ze strony przewodu pokarmowego charakteryzują się mniejszym niedoborem wzrostu niż dzieci z GHD i prawidłową masą ciała, natomiast dzieci, u których wykazano *C. albicans* wykazują niedobór wzrostu z towarzyszącym niedoborem masy ciała.

W kolejnym wystąpieniu przedstawiono ocenę prewalencji grzybów w przewodzie pokarmowym u dzieci z niskorosłością oraz niedoborem masy ciała (dr M. Kolasa-Kicińska, dr R. Stawerska, dr B. Fortak, prof. I. Płaneta-Małecka; ICZMP i UM, Łódź). Analizując przyczyny niskorosłości (wysokość ciała poniżej 3 percentyla dla danego wieku kalendarzowego) oraz niedoborów masy ciała u dzieci (masa ciała poniżej 3 percentyla dla danego wieku kalendarzowego) ze skąpoobjawowymi chorobami przewodu pokarmowego odnotowano znaczną liczbę przypadków z zarażeniem grzybami przewodu pokarmowego. Ta obserwacja oraz pojedyncze doniesienia piśmiennictwa o możliwej potencjalnej roli mikroflory przewodu pokarmowego (zwłaszcza grzybów drożdżopodobnych) w zaburzeniach odżywiania stały się przesłanką do ustalenia prewalencji grzybów z rodzaju *Candida* w grupie dzieci niskorosłych i/lub z niedoborem masy ciała. Badaniami objęto 189 dzieci w wieku od 2 do 18 lat z niedoborem wzrostu i/lub masy ciała. Najczęściej izolowanym gatunkiem grzyba w przewodzie pokarmowym u tych dzieci była *Candida albicans*. Stwierdzono wyższą (63,4%) statystycznie istotną ($p < 0,01$) prewalencję grzybów rodzaju *Candida* w przewodzie pokarmowym u dzieci z ni-

skorosłością i niedoborem masy ciała w porównaniu z grupą zdrowych dzieci eutroficznych (24,5%). Prewalencja grzybów w przewodzie pokarmowym była najwyższa u dzieci w okresie szkolnym i młodzieńczym.

Temat ostatniego doniesienia w II części obrad to: „Zarażenie pasożytnicze jako przyczyna różnicowanych dolegliwości klinicznych u dzieci” (lek. M. Żukiewicz, dr B. M. Tomaszewska, dr K. Sidor, prof. M. Kaczmarski; UM, Białymstok i Szpital, Dąbrowa Białostocka). Zwrócono uwagę na trudności diagnostyki chorób pasożytniczych wynikające z faktu, że objawy pasożytów w populacji dzieci często pokrywają się z objawami innych, częściej występujących chorób tego okresu rozwojowego takich, jak: choroby alergiczne, nieżyt żołądkowo-jelitowy, infekcje dróg oddechowych, zakażenie układu moczowego, niedokrwistość, objawy neurologiczne (rozdrażnienie, bóle głowy, bezsenność). Badaniami objęto 50 dzieci w wieku od 1 do 17 lat (średnia wieku 8 lat) ze środowiska miejskiego (56%) i wiejskiego (44%) – pacjentów Oddziału Dziecięcego Szpitala w Dąbrowie Białostockiej oraz przyszpitalnej poradni pediatrycznej – w okresie od grudnia 2008 r. do marca 2009 r. Wykonywano rutynowe badania kału na obecność postaci rozwojowych pasożytów (metoda mikroskopii po 24 godz. flotacji). Obecność białka *G. lamblia* w stolcu wykrywano jakościowym testem immunochromatograficznym RIDA Quick *Giardia* (N1103). Stwierdzono następującą częstość występowania zarażeń pasożytniczych w zbadanej grupie dzieci: glistnica – 35 (70%), lamblioza – 7 (14%), węgoreczka – 5 (10%), owsica – 3 (6%). W posumowaniu podkreślono, że najczęstszą pasożytozą wieku dziecięcego jest glistnica. Wysoka częstość zarażenia pasożytami i ich inwazje nawracające są spowodowane brakiem przestrzegania zasad higieny i obecnością u dzieci specyficznych, sprzyjających zarażeniu, niekorzystnych nawyków, polegających na kontakcie rąk z jamą ustną.

Obradom części III zjazdu przewodniczyli: prof. dr hab. Ewa Andrzejewska (UM, Łódź), dr hab. Elżbieta Czkwianianc (ICZMP, Łódź) i prof. dr hab. Eugeniusz Małafiej (ICZMP, Łódź). Zespół z Uniwersytetu Łódzkiego (dr K. Dzitko, stud. D. Dudzińska, dr J. Gatkowska, dr B. Dziadek, prof. H. Długońska) zaprezentował doniesienie nt. „Prolaktyna a *Toxoplasma gondii* – badanie *in vitro* wpływu hormonu na tachyzoity pasożyta”. Podkreślono, że ochronne działanie prolaktyny (PRL) w zarażeniu wewnątrzkomórkowym pierwotnia-

kiem *Toxoplasma gondii* wykazano wcześniej na modelu doświadczalnej toksoplazmozy u myszy. Prolaktyna podawana z cytokinami IFN-g lub TNF- γ powodowała przeżywalność myszy zarażonych śmiertelną dawką pierwotniaków. Ponadto obserwowano u kobiet spadek prewalencji *T. gondii* wraz ze wzrostem poziomu prolaktyny w surowicy. Na podstawie badań *in vitro* przeprowadzonych w Zakładzie Immunoparazytologii UŁ stwierdzono, że PRL w stężeniu 20 ng/ml, hamuje replikację *T. gondii* w komórkach HeLa oraz L929. W badaniach własnych zbadano testem cytotoksyczności MTT i XTT wpływ PRL na żywotność tachyzoitów *T. gondii*. Oceniano intensywność redukcji soli tetrazolowych MTT oraz XTT, przez tachyzoity *T. gondii* szczepu BK po 30, 60 i 180 min. inkubacji z solą w środowisku różnych stężeń PRL (0–100 ng/ml). Uzyskane wyniki nie wykazały istotnego wpływu prolaktyny w testowanych stężeniach na przeżywalność tachyzoitów tego pierwotniaka.

W kolejnym doniesieniu (dr hab. E. Czkwianianc, dr M. Kolasa-Kicińska, dr R. Stawerska, prof. A. Lewiński, prof. E. Małecka-Panas; ICZMP, UM, Łódź) przedstawiono wpływ zarażenia grzybami przewodu pokarmowego na wydzielanie greliny, hormonu wzrostu (GH) i insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-I) u dzieci niskorosłych i z niedoborem masy ciała. Zwrócono uwagę na znaczenie greliny w patomechanizmie zaburzeń wzrastania. Grelina, będąca neuropeptydem, odgrywa istotną rolę w mechanizmach kontrolowania apetytu i przyrostu masy ciała. Produkowana jest przede wszystkim w żołądku, ponadto w jelicie cienkim i grubym, wątrobie, trzustce, nerkach, łożysku, jądrach, tarczycy, grasicy, gruczole krokowym, tkance tłuszczowej, podwzgórze, przysadce, hipokampie i mózdzku oraz w jądrze łukowatym podwzgórze. Ostatnio wykryto obecność autoprzeciwciał, skierowanych przeciw peptydom melanokortynowym, alfa MSH i ACTH u osób z zaburzeniami odżywiania. Mikroflora przewodu pokarmowego składająca się z prawie 10^{14} mikroorganizmów jest największym źródłem różnych antygenów. Teoria „mimikry molekularnej” sugeruje, że antygeny te mogą indukować powstanie autoprzeciwciał krzyżowo reagujących z peptydami regulującymi apetyt. Według ostatnich doniesień grzyby, występujące w przewodzie pokarmowym, były najczęstszym źródłem antygenów dla krzyżowo reagujących przeciwciał z większością peptydów regulujących apetyt i przyrost masy ciała. W badaniach własnych analizą objęto 35 dzieci z niedoborem wzrostu, u których

na podstawie testów hormonalnych wykluczono pierwotny niedobór hormonu wzrostu (GHD). U wszystkich przeprowadzono badanie mikologiczne kału, wymazu z gardła oraz biopłatów pobranych w trakcie badań endoskopowych. Na podstawie uzyskanych wyników pacjentów zakwalifikowano do dwóch grup: 1. z obecnością i 2. bez obecności grzybów w przewodzie pokarmowym. U pacjentów określono: stężenie greliny całkowitej na czczo (metodą RIA), stężenie w surowicy GH (metodą EIA) oraz IGF-I (metoda IRMA). U dzieci z zasiedleniem przewodu pokarmowego przez *Candida albicans* stwierdzono istotnie wyższe wydzielanie greliny przy obniżonym stężeniu wartości IGF-I. Uzyskane wyniki u niskorosłych dzieci z obecnością *C. albicans* sugerują możliwość występowania przeciwciał przeciw cząsteczce greliny (co zmniejsza pulę aktywnej greliny i powoduje obniżenie wydzielania IGF-I), bądź występowania przeciwciał przeciw receptorom dla greliny, powodując grelinooporność podobną do opisywanej w zespole Prader-Willi'ego.

Następnie mgr Paweł Krzyściak (CM UJ, Kraków) omówił wybrane zagadnienia dotyczące rodotorulozy. Zwrócił uwagę na fakt, że spośród 50 gatunków grzybów należących do rodzaju *Rhodotorula* za gatunki potencjalnie patogenne uważa się: *Rhodotorula mucilaginosa* (*R. rubra*), *R. glutinis*, *R. minuta*. Cechami charakterystycznymi szczepów *Rhodotorula* są: obecność czerwonego barwnika (torulodyna, torulen), występowanie jednobiegunkowo pączkujących komórek, niezdolność fermentowania cukrów, brak asymilacji inozytolu oraz wytwarzanie ureazy. Za determinanty patogenności szczepów z rodzaju *Rhodotorula* przyjmuje się: wytwarzanie fosfolipazy i innych enzymów oraz otoczki u niektórych izolatów (cienka w przeciwieństwie do *Cryptococcus neoformans*), wzrost w temp. 37°C, tworzenie biofilmu, oporność na flukonazol i itraconazol, a także keratynolityczność. W piśmiennictwie opisano liczne przypadki fungemii, których czynnikiem etiologicznym były szczepy z rodzaju *Rhodotorula*; śmiertelność w tych przypadkach ocenia się na ~14,4%. Izolowano szczepy tego grzyba w przypadku wewnętrznego zapalenia gałki ocznej, zapalenia rogówki, otrzewnej, czy opon mózgowo-rdzeniowych. U pacjentów Zakładu Mykologii CMUJ badanych w kierunku wykrycia grzybic powierzchniowych, szczepy grzybów z rodzaju *Rhodotorula* najczęściej izolowano ze skóry stóp (61,6%) i rąk (22,6%). W 2009 roku opisano przypadek onychomikozy, którego pierwotnym

czynnikiem etiologicznym była *Rhodotorula* sp.. Do tej pory obecność szczepów tego rodzaju na zmienionej skórze uznawana była jako wtórna lub obserwowano ich współwystępowanie z dermatofitami.

Dr Emilia Ciok-Pater i prof. Eugenia Gospodarek (UMK, Toruń) przedstawiły ocenę zależności pomiędzy pochodzeniem zbadanych szczepów *Candida* a ich zdolnością wytwarzania biofilmu na powierzchni różnych biomateriałów. Użyte w badaniach własnych szczepy *Candida* izolowano od pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego im. dr A. Jurasza w Bydgoszczy (n=66), 107. Szpitala Wojskowego z Przychodnią oraz Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Wałczu (n=50), Szpitala Wojewódzkiego we Włocławku (n=18). Ocenę zdolności wytwarzania biofilmu na powierzchni biomateriałów [lateks silikonowany (RÜSCH), polichlorek winylu (GALMED), polistyren (Medlab-Products), nylon (DAMEN), polimetakrylan metylu (Zhermack)] przez wyizolowane od pacjentów szczepy prowadzono zmodyfikowaną metodą Richardsa. Uzyskane wyniki ujawniły, że grzyby z rodzaju *Candida* wykazują zdolność wytwarzania biofilmu na powierzchni wszystkich zbadanych biomateriałów. Stwierdzono związek pomiędzy pochodzeniem szczepów *Candida* a zdolnością wytwarzania biofilmu. Uzyskane wyniki mogą zależeć od specyfiki kliniki/oddziału, a także od gatunku i właściwości biologicznych izolowanych szczepów. Najwyższy odsetek szczepów wytwarzających biofilm odnotowano na powierzchni polimetakrylanu metylu i polichloroku winylu, niższy – na polistyrenie i nylonie. Szczepy *C. albicans* oraz gatunki inne niż *C. albicans*, wyodrębnione od chorych Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii, charakteryzowały się wyższym odsetkiem wytwarzania biofilmu na wszystkich zbadanych powierzchniach biomateriałów. Niższy odsetek szczepów wytwarzających biofilm wykazano wśród szczepów gatunków innych niż *C. albicans*, izolowanych od chorych Kliniki Pediatrii, Hematologii i Onkologii, jednak częściej tworzyły one biofilm niż szczepy *C. albicans*, pochodzące od chorych tej Kliniki.

W dalszej części obrad zespół z Łodzi (mgr S. Miśkiewicz, prof. P. Kurnatowski; UM, Łódź) przedstawili w szerokim aspekcie klinicznym aspergilozę u pacjentów po przeszczepach. Podkreślono, że w ostatnich dwóch dekadach wzrosła znacząco prewalencja grzybic inwazyjnych wywoływana głównie przez grzyby z rodzajów: *Candida*

(72–228 infekcji/1mln ludności/rok), *Cryptococcus* (30–66/mln/rok), *Aspergillus* (12–34/mln/rok). Zakażenia grzybami są przyczyną powikłań po transplantacji nerki w 0,4–33,0%, wątroby w 1,6–50,0%, serca w 1–45%, szpiku w 2–92%, płuc w 3–81%, trzustki w 9,2–26,0% przypadków. Wyróżnia się trzy okresy, w których po dokonanych przeszczepie ujawniają się zakażenia grzybicze: pierwszy okres do 1 miesiąca – zakażenia ran, kontaminacja alloprzeszczepów i infekcje środowiskowe, drugi okres 1–6 miesięcy – inwazje grzybów występują bez dodatkowych czynników, trzeci okres powyżej 6 miesięcy – przewlekłe zakażenia wirusami i intensywna terapia immunosupresyjna. W przypadku inwazyjnej aspergilozy śmiertelność u chorych po przeszczepie komórek szpiku kostnego ocenia się na 63–92%, po przeszczepie wątroby – 60%, płuc – 82%, a nerek 75–80%. Aspergiloza może występować pod postacią grzybicy o przebiegu łagodnym lub grożącym życiu (grzybica ośrodkowego układu nerwowego, uogólniona). W diagnostyce aspergilozy stosuje się badania: mikologiczne i histopatologiczne (częste błędne odczyty negatywne), obrazowe (są mało specyficzne, zaleca się stosowanie ich w połączeniu z innymi metodami diagnostycznymi) oraz molekularne (czasem próby fałszywie dodatnie; testy są nie wystandaryzowane). Obecność aspergilozy jest udowodniona wykryciem strzępek i zarodni w badaniach histo-cytochemicznych lub w przypadku dodatnich posiewów z miejsc sterylnych. Aspergiloza prawdopodobna wiąże się z wykryciem jamy i/lub guzów na zdjęciach radiologicznych, obecnością dwóch dodatnich posiewów z płwociny lub jednego z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych. Wyróżnia się 4 strategie leczenia i zapobiegania inwazyjnym zakażeniom grzybiczym: leczenie profilaktyczne, empiryczne, wyprzedzające (*preemptive*) oraz leczenie potwierdzonej grzybicy. W terapii grzybic inwazyjnych najczęściej stosuje się: amfoterycynę B, flucytozynę, itrakonazol, worykonazol, posakonazol, kaspofunginę.

Kolejny zespół z Łodzi (prof. E. Andrzejewska, dr G. Raczyńska-Witońska, dr W. Kuzański, prof. J. Kwaśniewska; UM, Łódź) przedstawił ocenę prewalencji i wybranych właściwości szczepów grzybów z rodzaju *Candida* u dzieci z oparzeniami. Materiał do badań mikologicznych stanowiły wymazy pobierane od pacjentów z ran pooparzeniowych, z powierzchni otaczającej skóry, błony śluzowej części nosowej gardła oraz odbytnicy. Diagnostykę mikologiczną przeprowadzano zgodnie z trybem postępowania opracowanym i stosowanym

od lat w Katedrze Biologii i Genetyki Medycznej UM w Łodzi. Gatunkiem najczęściej izolowanym z ran była *C. albicans* (72,2%), z niższą częstością wykrywano *C. glabrata* (18,1%) i *C. parapsilosis* (9,2%). Także ze skóry i jamy ustnej głównie izolowano *C. albicans*, odpowiednio w 43,9% i 44,4% przypadków. W podsumowaniu podkreślono, że u pacjentów z ranami pooperacyjnymi należy brać pod uwagę współistniejące zarażenie grzybami. U takich chorych częściej stwierdza się obecność grzybów w kilku ontocenozach, co skłania do rozważenia określonego postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.

Następnie mgr Magdalena Skóra (CM UJ, Kraków) zaprezentowała doniesienie pt. „Grzyby z rodzaju *Malassezia* izolowane od pacjentów z chorobami skóry”. Zwraca uwagę fakt, że grzyby z tego rodzaju mogą występować na powierzchni skóry u ludzi oraz niektórych zwierząt stałocieplnych. U człowieka zajmują przede wszystkim regiony skóry bogate w gruczoły łojowe: głowy, górnej części pleców, klatki piersiowej. Najczęściej izoluje się je od nastolatków oraz od młodych dorosłych, u których występuje najwyższa aktywność gruczołów łojowych. Gatunki izolowane z niezmiętej skóry u dorosłych to: *M. globosa*, *M. sympodialis*, *M. restricta*, *M. furfur*. W badaniach własnych prowadzono identyfikację gatunkową, ocenę aktywności enzymatycznej oraz wrażliwości na leki przeciwgrzybicze szczepów *Malassezia*, izolowanych od pacjentów z atopowym zapaleniem skóry (7 osób) lub łuszczycą (46 osób). Wymazy pobierano z 4 lokalizacji ciała: z owłosionej skóry głowy, twarzy (bruzdy nosowo-wargowe, czoło), klatki piersiowej (okolica mostka), pleców (okolica międzyłopatkowa). Stwierdzono, że zarówno u kobiet, jak i mężczyzn z łuszczycą, szczepy *Malassezia* izolowano z częstością powyżej 50%, najczęściej z klatki piersiowej. Wykonano skryningową ocenę wrażliwości (metoda mikrorozcieńczeń w płynnym podłożu Christensena z dodatkiem Tween 40 i Tween 80) wyizolowanych 21 szczepów *Malassezia* na leki z grupy azoli – ketokonazol i itraconazol, uzyskując bardzo szeroki zakres wartości MIC: 0,025–>50 µg/ml; MIC₅₀ 6,25 µg/ml (KET) i MIC₅₀ – 0,39 µg/ml (ITR). W podsumowaniu podkreślono, że dla wykonania dokładnej analizy profilu enzymatycznego i oceny wrażliwości szczepów *Malassezia* na leki przeciwgrzybicze niezbędna jest identyfikacja gatunkowa szczepów. Poszczególne gatunki *Malassezia* wykazują różnorodną aktywność enzymatyczną, a badanie lekooporności wymaga zasto-

sowania różnych gęstości zawiesiny i czasu inkubacji w zależności od gatunku.

Mutacje w obrębie genu ERG 11 szczepów *Candida albicans* wrażliwych i opornych na leki azolowe były kolejnym zagadnieniem przedstawionym przez prof. Andrzeja Wiczakowskiego i mgr Annę Ślemp-Migiel (SUM, Zabrze; Podhal. Szp. Specj., Nowy Targ). Podkreślono, że leki azolowe często stosowane w terapii przeciwgrzybiczej blokują działanie 14- α -demetylasy lanosterolu – enzymu zaangażowanego w syntezę ergosterolu (składnik ściany komórkowej grzybów). Oporność szczepów grzybów może powstawać w następstwie mutacji lub nadekspresji genu ERG 11. Celem pracy było wykrywanie zmian genetycznych w obrębie genu ERG11 szczepów *C. albicans* wrażliwych i opornych na leki azolowe izolowanych z materiałów klinicznych (plwocina, ropa, mocz, krew, aspirat z oskrzeli), pochodzących od chorych hospitalizowanych w Podhalańskim Szpitalu Specjalistycznym w Nowym Targu. Do wykrycia fragmentu genu ERG11 *C. albicans* zastosowano technikę PCR. Procedurę MSSCP – Wielotemperaturowy Polimorfizm Jednoniciowych Konformacji DNA – przeprowadzono z wykorzystaniem aparatu DNA Pointer. Elektroforezę przeprowadzono w 8% żelach poliakrylamidowych, temp. 35–155°C przy napięciu 300Vh i natężeniu 40W. Żele wywoływano poprzez barwienie srebrem z wykorzystaniem zestawu do barwienia DNA/RNA w żelach poliakrylamidowych. Metoda MSSCP wykazała istnienie różnych profili elektroforetycznych w obrębie fragmentów genu *ERG11*; przeprowadzono analizę sekwencji nukleotydów. Badania wykonano w Pracowni Sekwencjonowania DNA IBB PAN (Warszawa). Stwierdzono obecność substytucji nukleotydów w genie ERG11 w szczepach *C. albicans*, zarówno opornych, jak i wrażliwych na azole. Wykryto także substytucje nukleotydów w genie ERG11, charakteryzujące tylko szczepy odporne. W fragmencie 1C genu ERG11: T348A, T495A, C530T i C622T; w fragmencie 3C genu ERG11: T996C, A1020G, A1026G, C1110T, T1143C, A1173G, A1203C, T1287C i G1309A; w fragmencie 4C genu ERG11: A945C i A798C. Pojawiająca się zmienność profili elektroforetycznych w obrębie fragmentów genu ERG11 świadczy o występowaniu mutacji lub polimorfizmu genu szczepów *C. albicans*. Pojedyncze zmiany nukleotydów zachodzące w genie *ERG11* nie wpływają na zmiany we wrażliwości szczepów *C. albicans*, natomiast wielokrotne substytucje nukleotydów wskazują na możliwy związek ze

wzrostem oporności na azole. Pod wpływem długotrwałego leczenia pacjentów preparatami przeciwgrzybiczymi prawdopodobnie zachodzi selekcja opornych na azole szczepów *C. albicans*, w których występuje więcej niż jeden typ mutacji.

Mgr Małgorzata Prażyńska i prof. Eugenia Gospodarek (UMK, Toruń) przedstawiły doniesienie pt. "Lekowrażliwość grzybów izolowanych z krwi pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego w Bydgoszcy w latach 2005–2008". Zwrócono uwagę, że na Świecie obserwuje się wzrost liczby zarażeń grzybiczych; od 10 do 15% grzybic uogólnionych przebiega z mikrobiologicznie potwierdzoną fungemią. Szczepy grzybów z rodzaju *Candida* wykrywano w 5–10% przypadków szpitalnych fungemii. Głównymi czynnikami predysponującym do zarażeń grzybiczych krwi są: leczenie przeciwbakteryjne, stosowanie cewników naczyniowych, choroba nowotworowa i zabiegi chirurgiczne. Częstym czynnikiem etiologicznym fungemii u pacjentów cewnikowanych jest *C. parapsilosis*. W badaniach własnych szczepy grzybów izolowano z próbek krwi pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego im. dr A. Jurasza w Bydgoszcy w latach 2005–2008 z wykorzystaniem automatycznego systemu BACTEC 9240 (Becton Dickinson). Identyfikację gatunkową prowadzono w oparciu o test filamentacji, test API 20C AUX (bioMérieux), zaś ocenę lekowrażliwości testami ATB FUNGUS 2 i ATB FUNGUS 3 (bioMérieux) oraz Etestem dla kaspofunginy (AB Biodisk). Uzyskano najniższą wartość MIC kaspofunginy dla *C. albicans* (MIC 0.02–0.38 µg/ml), zaś najwyższą – dla *C. parapsilosis* (MIC 0.5–2 µg/ml). Izolowano następujące gatunki: *C. albicans*, *C. parapsilosis* i *C. glabrata*; najczęściej występującym gatunkiem był *C. albicans*. Wyższy odsetek szczepów *C. albicans* wrażliwych na wybrane leki przeciwgrzybicze w porównaniu z innymi gatunkami rodzaju *Candida* wynika częściowo z naturalnej oporności *C. lusitanae* na amfoterycynę B, *C. krusei* na flukonazol oraz *C. glabrata* na flukonazol i itraconazol.

Zespół z Łodzi (dr A. Ciebiada-Adamiec, dr U. Tworzyńska, prof. E. Małafiej; ICZMP, Łódź) przedstawił prevalencję kandydemii u dzieci hospitalizowanych ocenioną na podstawie kilkunastolet-

niego okresu obserwacji. W wymiarze globalnym, zarażenia grzybami dotyczą aktualnie około 40% ludności Świata, przy czym narasta częstość infekcji układowych. Materiał stanowiły próbki krwi dzieci hospitalizowanych w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki w latach 1996–2008. Uzyskano 220 szczepów *Candida* (0,58%) z ogólnej liczby 37488 badanych posiewów krwi; *C. albicans* izolowano w 46,8% przypadków. Wśród szczepów innych niż *C. albicans* dominował gatunek *C. parapsilosis* (ok. 35%); wykryto także *C. sake* (ok. 4%), *C. tropicalis*, *C. glabrata* i *C. guilliermondii*. W przeciwieństwie do większości światowych doniesień, w trzynastoletnim okresie badań, stwierdzono zmniejszenie liczby szczepów *Candida* izolowanych z krwi. W ostatnich latach czynnik etiologiczny kandydemii u dzieci ulega zmianom – szczepy *C. albicans* zastępowane są innymi gatunkami tego rodzaju; dominującym patogenem jest *C. parapsilosis*. W badanym okresie odnotowano niewielki wzrost oporności oznaczanych szczepów na wybrane leki przeciwgrzybicze; nienależące do gatunku *C. albicans* charakteryzuje wyższy poziom lekooporności.

Obrady zakończyła prezentacja dotycząca charakterystyki szczepów *Candida* wrażliwych i opornych na mikonazol, itraconazol oraz worykonazol, wyodrębnionych od pacjentów hospitalizowanych i leczonych ambulatoryjnie (mgr A. Kurnatowska, prof. J. Kwaśniewska; UM, Łódź). Badając wrażliwość szczepów z różnych gatunków *Candida* stwierdzono, że cechuje je duża dyspersja wrażliwości *in vitro* na zbadane leki. Szczepy *C. albicans* wykazują się większą wrażliwością, w porównaniu z innymi gatunkami z tego rodzaju.

Na zakończenie obrad, Przewodnicząca Łódzkiego Oddziału PTP prof. Jolanta Kwaśniewska podziękowała wszystkim uczestnikom i serdecznie zaprosiła na kolejny 49. Dzień Kliniczny Parazytologii Lekarskiej.

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