

Μυκητιάσεις Ο ρόλος του εργαστηρίου στην έγκαιρη διάγνωση τους

**Ε. Παναγιωτάκη-Γατσούλη, Διευθύντρια Γ.Ν.Ν.
Κέρκυρας.**

Οι Μυκητιασικές λοιμώξεις έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω του αυξανόμενου αριθμού των ανοσοκατασταλεμένων ασθενών.

Το Εργαστήριο βοηθά με την έρευνά του στην ακριβή κατάδειξη και απομόνωση του υπεύθυνου μύκητα και την ουσιώδη παρέμβαση έγκαιρα.

Σημαντική είναι η συνεργασία Εργαστηριακών και Κλινικών Γιατρών, γιατί η πρόγνωση των λοιμώξεων αυτών είναι φτωχή.

Οι μύκητες αποτελούν μια βαθμίδα του Φυτικού βασιλείου ανώτερη από τους σχιζομύκητες, δηλαδή τα βακτήρια. Διαφέρουν από αυτά κατά το ότι συχνά είναι πολυκύτταροι σχηματίζουν μακριές υφές δηλαδή κλαδιά και αθροίσματα αυτών δηλαδή τα μυκητίλια. Διαφέρουν από τα φυτά κατά το ότι δεν έχουν χλωροφύλλη (1).

Ταξινομούνται αυτοί που ενδιαφέρουν την Ιατρική Μυκητολογία σε πέντε ομάδες:

1. Ακτινομύκητες
2. Αληθείς μύκητες
3. Ζυμομύκητες
4. Ζυμοειδείς μύκητες
5. Διφασικοί μύκητες

Για την Ιατρική χρήση πιο κατανοητή είναι μια διαφορετική ταξινόμηση:

1. Επιφανειακών μυκητιάσεων
2. Δερματικών και υποδοριών μυκητιάσεων και
3. Συστηματικών μυκητιάσεων.

Αρκετοί σαπροφυτούν στο φυσικό περιβάλλον και αποικίζουν τυχαία το ανθρώπινο σώμα.

Προδιαθεσικοί παράγοντες που ευνοούν την εμφάνιση μυκητιασικής λοίμωξης είναι οι χειρουργικές επεμβάσεις, η χρησιμοποίηση των διαφόρων καθετήρων, η χορήγηση ορμονών, κορτικοστεροειδών και κυτταροστατικών φαρμάκων καθώς και η επί μακρόν θεραπεία με αντιβιοτικά(2).

Υπάρχουν περισσότερα από 50000 είδη μυκήτων. Από αυτά μόνο 50-75 είδη έχουν αναγνωρισθεί ως παθογόνα για τον άνθρωπο(3). Μεγαλύτερο ενδιαφέρον προκαλούν οι *Candida*, ο *Aspergillus*, ο *Cryptococcus neoformans* και τα Τριχόφυτα που είναι και συχνότερα απαντόμενοι μύκητες στις μυκητιασικές λοιμώξεις.

Με πρωτοβουλία της Ευρωπαϊκής Συνομοσπονδίας Ιατρικής Μυκητολογίας το 1996 ξεκίνησε η καταγραφή σε πρώτη φάση και ένα χρόνο μετά η μελέτη των μυκητιάσεων στην Ευρώπη. Η καταγραφή περιλαμβάνει τη συχνότητα της καντιναιμίας, κρυπτοκόκκωσης, ιστοπλάσμωσης, ακτινομυκητίασης και τις μυκητιάσεις του τριχωτού της κεφαλής.

Οι μυκητιασικές λοιμώξεις απέκτησαν τελευταία ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της συνεχώς αυξανόμενης συχνότητάς τους μεταξύ των λευχαιμικών, των μεταμοσχευθέντων και των άλλων ανοσοκατασταλ-

μένων ασθενών όπως και των ασθενών που πάσχουν από AIDS.

Επειδή η πρόγνωση τους είναι φτωχή, η ταχεία διάγνωση είναι ουσιώδης προκειμένου να αρχίσει έγκαιρα η θεραπεία, η οποία βασίζεται στην καλή συνεργασία των εργαστηριακών και κλινικών γιατρών(4).

Το Εργαστήριο με τη μεθοδολογία του προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες στους κλινικούς γιατρούς. Σε περίπτωση που υπάρχει διαγνωστικό πρόβλημα, το Εργαστήριο ή θα επιβεβαιώσει την κλινική διάγνωση και θα αναγνωρίσει η μυκητιασική αιτία μιας λοίμωξης άγνωστης αιτιολογίας, ή θα την αποκλείσει.

Ο κύριος ρόλος της εργαστηριακής μελέτης είναι να καταδείξει και να απομονώσει με ακρίβεια και ταχύτητα τον υπεύθυνο μύκητα από το κλινικό υλικό που έχει σταλθεί για εξέταση, να ταυτοποιήσει το στέλεχος που απομονώνει και να διακρίνει τους γνωστούς ή δυνητικά παθογόνους μύκητες από τις επιμολύνσεις ή αυτούς που στερούνται ιδιαίτερης σημασίας(5).

Με εξαίρεση τη λοίμωξη από τον κρυπτόκοκκο, στις περισσότερες μυκητιάσεις η διάγνωση είναι δύσκολη. Τα διαγνωστικά προβλήματα στην αξιολόγηση των εργαστηριακών ευρημάτων οφείλονται στο γεγονός ότι αυτοί οι μύκητες αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας διαφόρων περιοχών του σώματος.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ:

Για να επιτύχει στο δύσκολο ρόλο του το Εργαστήριο θα πρέπει κατ' αρχήν να παραλάβει το σωστό δείγμα. Το δείγμα είναι σωστό όταν

A) έχει επιλεγεί και συλλεχθεί κατάλληλα

B) συνοδεύεται από επαρκή πληροφόρηση και ενημέρωση για την υποψία της μυκητιασικής λοίμωξης. Είναι ουσιαστικό να αναφέρονται σε συντομία πληροφορίες που έχουν σχέση με:

- 1.το ιστορικό του ασθενούς,
- 2.τη θεραπεία με αντιβιοτικά
- 3.τη λήψη κυτταροστατικών ή ανοσοκατασταλτικών

φαρμάκων

4. την υποκείμενη νόσο
5. το επάγγελμα
6. ταξίδια ή παραμονή σε ξένη χώρα
7. επαφή με ζώα. Επίσης
8. την πηγή προέλευσης του δείγματος
9. το χρόνο και τον τρόπο συλλογής και μεταφοράς του υλικού.

Όλες αυτές οι πληροφορίες θα βοηθήσουν τον Εργαστηριακό γιατρό να υποπτευθεί τον υπεύθυνο μύκητα και να επιλέξει τις πιο κατάλληλες μεθόδους για την κατάδειξή του.

Τα είδη των δειγμάτων που αποστέλλονται ποικίλουν από λοίμωξη σε λοίμωξη και εξαρτώνται από την ανατομική θέση στην οποία εντοπίζεται η λοίμωξη.

Στις ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΕΣ ΜΥΚΗΤΙΑΣΕΙΣ θα σταλούν:

1. Ξέσματα (λέπια) από το δέρμα του τριχωτού της κεφαλής, το λεπτό άτριχο δέρμα, τις παλάμες και τα πέλματα, τις μηρογεννητικές πτυχές
2. τρίχες

3. νύχια.

Για τη λήψη των ξεσμάτων χρησιμοποιείται ένα αμβλύ ξέστρο ή το χείλος μιας αντικειμενοφόρου πλάκας.

Τα ξέσματα συλλέγονται από την περιφέρεια της βλάβης, περιοχή όπου υπάρχει ο μύκητας ζωντανός.

Οι τρίχες αποσπώνται με λαβίδα. Συγκεκριμένα συλλέγεται το κολόβωμα της σπασμένης τρίχας που μένει στο κεφάλι. Οι κομμένες τρίχες δεν αποτελούν ικανοποιητικό υλικό. Δείγματα θα πρέπει να ληφθούν από αρκετά σημεία των βλαβών.

Τα νύχια ψαλιδίζονται και συλλέγονται τα κομμάτια ή τα ρινίσματά τους. Αν υπάρχει πάχυνση του νυχιού μπορεί να συλλεγούν και ξέσματα. Επιλέγεται κάθε αποχρωματισμένη χωρίς στιλπνότητα δυστροφική και εύθραπτη περιοχή του νυχιού. Το δείγμα κόβεται όσο το δυνατόν πιο βαθιά από το ελεύθερο χείλος του και περιλαμβάνει όλες τις στιβάδες του νυχιού, γιατί μερικοί μύκητες περιορίζονται μόνο στις κατώτερες στιβάδες. Συχνά ο μύκητας δεν είναι ζωντανός στο ελεύθερο χείλος του νυχιού κι έτσι μπορεί, ενώ είναι ορατός στη μικροσκοπική παρατήρηση, με πιθανότητα 40-50% να μην αναπτυχθεί στην καλλιέργεια.

Αν η βλάβη είναι μικρή και το υλικό δεν είναι αρκετό, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε κολλητική ταινία sellotape πάνω στη βλάβη, όπου πιέζεται η ταινία και μετά αποσπάται και τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα για μικροσκόπηση.

Στις ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΤΩΝ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΩΝ του στόματος ή του κόλπου προτιμότερο είναι να ληφθούν ξέσματα, όμως συχνά χρησιμοποιούνται στυλεοί και συλλέγεται επίχρισμα ή έκκριμα γιατί είναι ευκολότερη και η λήψη και η μεταφορά του στο Εργαστήριο. Επειδή οι ζυμομύκητες χάνουν γρήγορα τη βιωσιμότητά τους σε αποξηραμένους στυλεούς, θα πρέπει αυτοί να υγραίνονται με φυσιολογικό ορό πριν τη λήψη του εκκρίματος ή να τοποθετούνται σε υλικό μεταφοράς.

Στις ΥΠΟΔΟΡΙΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ συλλέγονται ξέσματα, εφελκίδες από τις επιφανειακές εκδηλώσεις της βλάβης. Αν υπάρχει διαπίωση, τότε συλλέγεται πύο με αποστειρωμένη βελόνη και σύριγγα.

Στις ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ αποστέλλονται δείγματα αίματος για καλλιέργεια, πύο από αποστήματα, υλικό εξελκώσεων πρωτοπαθών ή δευτεροπαθών, μυελός των οστών, Ε.Ν.Υ., ούρα, ξέσματα από το μάτι, διάφορα υγρά όπως πλευριτικό, περιτοναϊκό, αρθρικό, πτύελα με προκλητή απόχρεψη, έκκριμα βρογχικό και κυψελιδικό ή υλικό αναρρόφησης από την τραχεία.

Η μεταφορά των δειγμάτων, μετά τη συλλογή τους, γίνεται σε αποστειρωμένα δοχεία μέχρι το Μικροβιολογικό Εργαστήριο. Δείγματα όπως τα πτύελα ή βιοψίες θα πρέπει να σταλούν το ταχύτερο δυνατόν. Σε αντίθετη περίπτωση πρέπει να φυλάσσονται σε ψυγείο στους 4 βαθμούς C, ώστε να αποφεύγεται η υπερανάπτυξη βακτηρίων ή άλλων μυκήτων που συνυπάρχουν στο δείγμα και να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος απώλειας παθογόνων μυκήτων. Μύκητες οι οποίοι μπορεί να χαθούν είναι το

Histoplasma, ο *Cryptococcus*, *Blastomyces*...γιατί ο αριθμός τους στο υπό εξέταση δείγμα είναι μικρός. Ακόμη δίνεται η δυνατότητα της ακριβούς εκτίμησης της υπάρχουσας ποσότητας του μύκητα στο δείγμα. Τα παραπάνω δεν ισχύουν για δείγματα όπως τα λέπια, οι τρίχες και τα νύχια, στα οποία με την πάροδο του χρόνου η αποξήρανση προκαλεί μείωση της βακτηριακής επιμόλυνσης τους και το δείγμα διατηρείται επί μήνες.

Η καταλληλότητα των δειγμάτων πρέπει να ελέγχεται. Ακατάλληλα θεωρούνται:

- 1.τα δείγματα που έχουν αποξηρανθεί ή έχουν τοποθετηθεί σε μονιμοποιητικό υγρό.
- 2.τα δείγματα που περιέχουν σάλιο αντί για πτύελα
- 3.τα 24ωρα δείγματα πτυέλων ή ούρων από καθετηριασμένους ασθενείς
- 4.δείγματα που χύθηκαν κατά τη μεταφορά και μολύνθηκαν ή είναι επικίνδυνα για το προσωπικό που θα ασχοληθεί μ' αυτά
- 5.ανεπαρκή δείγματα ή
- 6.αυτά που καθυστέρησαν να μεταφερθούν και επηρεάζονται.

Σε όλες τις ανωτέρω περιπτώσεις θα ζητηθεί νέο δείγμα, ωστόσο θα εξετασθεί το όποιο δείγμα υπάρχει όταν το πρόβλημα του ασθενούς είναι επείγον ή η λήψη νέου δείγματος είναι δύσκολη ή επικίνδυνη για τον ασθενή.

ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ.

Για να μπορέσει ο εργαστηριακός γιατρός να βοηθήσει πραγματικά στο διαγνωστικό πρόβλημα τον κλινικό γιατρό, πρέπει να αξιολογήσει ορθά το αποτέλεσμά του. Σημασία έχει:

- 1.αν το δείγμα προέρχεται από ανατομική θέση στην οποία βρίσκεται συμβιωτική μυκητολογική χλωρίδα
- 2.η ταυτότητα του μύκητα και
- 3.αν ο μύκητας βρέθηκε σε φυσιολογικό άτομο.

Μύκητες όπως το *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* ή τα δερματόφυτα θεωρούνται οπωσδήποτε παθογόνοι. Η κατάσταση δυσχεραίνει με τους ευκαιριακά παθογόνους μύκητες όπως ο *Aspergillus fumigatus* και η *C. Albicans*. Η απομόνωσή τους από υλικά που προέρχονται από στείρες περιοχές, όπως το Ε.Ν.Υ., σωματικά υγρά, περιτοναϊκό-πλευριτικό-αρθρικό, αποτελεί συχνά αξιόπιστη ένδειξη λοίμωξης. Όταν όμως οι ευκαιριακοί αυτοί μύκητες απομονώνονται από υλικά όπως πύο, πτύελα, κόπρανα και ούρα, η αξιολόγησή τους πρέπει να γίνει με προσοχή και με συνεκτίμηση του αριθμού των αναπτυσσομένων αποικιών στην καλλιέργεια.

Πολλές φορές έχουν απομονωθεί σπάνιοι μύκητες ως αιτία σε εν τω βάθει μυκητιάσεις σε ανοσοκαταστελμένους ασθενείς. Στις περιπτώσεις αυτές κανένα στέλεχος δεν πρέπει να χαρακτηρίζεται ως επιμόλυνση χωρίς να λαμβάνεται υπ' όψιν:

- 1.η κλινική κατάσταση του ασθενούς
- 2.η προέλευση του δείγματος
- 3.η μέθοδος συλλογής του δείγματος, όπως και
- 4.η ποσότητα των μικροοργανισμών που απομονώ-

θηκαν.

Μερικές φορές υπάρχει πιθανότητα, παρά το γεγονός ότι η καλλιέργεια προσφέρει την τελική διάγνωση της λοίμωξης από μύκητες, να μην αναπτυχθεί παθογόνος μικροοργανισμός. Η αποτυχία της απομόνωσης του μύκητα μπορεί να οφείλεται:

- A) σε ακατάλληλο δείγμα (συλλογή-μεταφορά) ή
- B) σε λανθασμένη τεχνική απομόνωσης που σχετίζεται με την καταλληλότητα της μεθόδου ή τις κακές συνθήκες εργαστηριακής διαχείρισης του δείγματος.

Όλοι οι προαναφερθέντες παράγοντες, έχουν ως συνισταμένη τη σωστή συνεργασία και αποτέλεσμα τη σωστή ιατρική αντιμετώπιση του ασθενούς.

Βιβλιογραφία:

1. Αρσένη:ΜΥΚΗΤΟΛΟΓΙΑ, Μικροβιολογία,Θεωρεία και Πράξη;
2. ΛΑΙΟΥ και συν.Αξιολόγηση μυκήτων σε καλλιέργειες από κλινικά δείγματα καρκινοπαθών ασθενών: Δ.Ε.Μ.Ε. 34, 45-54.
3. Baron EJ, Peterson LR, Tenover FC eds. Laboratory methods in Basic Mycology, In:Balley and Scott's eds. Diagnostic Microbiology, 9th ed.St. Louis, CV Mosby,1994: 689-75.
4. Evans EGV, Richardson MD. General guidelines on laboratory. diagnosis.In:Evans EGV & Richardson MD eds. Medical mycology a practical approach Oxford University IRL Press,1989,1-16.
5. Σοφία Κτενίδου-Καρτάλη:Εργαστηριακή διάγνωση των μυκητιάσεων, Μικροβιολογικά Χρονικά, Τομ. 15-1999, 71-98.