



I Znacznie kliniczne, diagnostyka i strategię leczenia infekcji grzybiczych

MARTA ŁUKUĆ

1. Grzybice — nadal istotny problem

1.1. Przyczyny i epidemiologia grzybic

W czasach globalnej groźby zakażenia wirusowego, jakim okazał się COVID-19, znacząco na pozycji straciły choroby grzybicze — uznane za mniej niebezpieczne, a często wręcz lekceważone czy bagatelizowane. Jednakże w przeciągu ostatnich lat częstość występowania mikoz oraz odporność na leki wzrosły w zastraszającym tempie. Spośród poznanych około **250 tysięcy** gatunków grzybów żyjących w otaczającym nas środowisku, ponad 200 wykazuje potencjalne działanie patogenne w stosunku do ludzi. Tylko nieliczne są bezwzględnie chorobotwórcze i zdolne do wywoływania poważnych chorób u zdrowych osób. Większość powoduje zakażenia tylko w specjalnych warunkach, najczęściej związanych z zaburzeniami odporności. Stanowi to ogromne wyzwanie dla systemu ochrony zdrowia ze względu na stale rosnącą populację ludzi z osłabionym układem immunologicznym (Grondalska, 2017).

Powstawaniu i szerzeniu grzybic sprzyjają zmiany klimatyczne, przemieszczanie się ludności i postęp cywilizacyjny. Rozwój gałęzi transportu

i poprawa warunków podróży wpłynęły na wzrost migracji ludzi ze względów zawodowych czy turystycznych. Spowodowało to przeniesienie grzybów z terenów ich pierwotnego występowania na nowe obszary geograficzne. Zasiedlanie odmiennych miejsc umożliwiły też zmiany, jakie zachodzą w klimacie — podwyższenie temperatury powietrza, większa wilgotność i mniejsze amplitudy temperatur. Kolejnym bonusem cywilizacyjnym jest **zagęszczenie siedlisk ludzkich**. Przebywanie w skupiskach (internaty, hotele, baseny), korzystanie ze wspólnych powierzchni i urządzeń sanitarnych oraz mieszkanie w warunkach dużego zaludnienia zwiększa ryzyko styczności z zakażonymi przedmiotami bądź bezpośrednich kontaktów międzyludzkich, a co za tym idzie **transmisji patogenów**. Również prowadzony obecnie styl życia, a także dieta bogata w substancje chemiczne i cukry, sprzyjają rozwojowi grzybicy.

Ciągły stres, zabieganie i zmęczenie powodują osłabienie układu immunologicznego poddanego nieustannemu wysiłkowi, a nadmierna higienizacja — spłycenie warstwy lipidowej skóry, stanowiącej barierę ochronną. Noszenie nieprzewiewnych, niedopasowanych i wykonanych z materiałów syntetycznych ubiorów i obuwia powoduje powstanie specyficznego mikroklimatu (brak dostępu powietrza, wilgoć i ciepło) idealnego do rozwoju grzybów.

Podobne warunki stwarzają osoby z otyłością — chorobą cywilizacyjną — doprowadzając do nadmiernego rozrostu fałdów skórnych. Dodatkowo w obu przypadkach może dochodzić do mikrourazów (otarcia, odparzenia), stanowiących **otwarte wrota infekcji**. Rozwój medycyny okazał się mieć także drugą twarz — z jednej strony ratując życie, z drugiej zaś predysponując do rozwoju mikozy.

Terapie przeciwnowotworowe, leki immunosupresyjne, kortykosteroidy czy **antybiotyki szerokowachlarzowe** sprzyjają rozrostowi mykologicznemu ze względu na osłabienie mechanizmów obronnych gospodarza. Ponadto dostęp do leków bez recepty, samodiagnozowanie i samoleczenie pacjentów za

..... ..
 pomocą internetu oraz nieracjonalne stosowanie antybiotyków przez lekarzy powoduje narastanie oporności na leczenie.

Potencjalnym źródłem rozsiewu grzyba są też inwazyjne metody diagnostyczne. Po pierwsze — ze względu na możliwość powodowania mikrourazów skóry czy błon śluzowych związanych z wprowadzeniem ciał obcych (cewników, drenów, sond, protez), a po drugie — przez możliwość tworzenia **biofilmów** na tych przedmiotach, utrudniających terapię i zmniejszających penetrację leku. Do rozwoju grzybicy predysponowane są osoby z już istniejącymi chorobami przewlekłymi, np. cukrzycą, HIV, nowotworami czy mukowiscydozą, ponieważ osłabiają układ immunologiczny, mogą zmieniać **mikrobiom organizmu**, maskować objawy grzybicy bądź stwarzać pożądane dla grzyba warunki. Również wiek pacjenta powiązany jest z większą częstotliwością rozwoju infekcji — ze względu na jeszcze nierozwinięty do końca układ odpornościowy w przypadku niemowląt i małych dzieci, bądź już wyniszczony i osłabiony w przypadku osób starszych. Szczególnie narażone są osoby wykonujące zawody związane z określonymi zachowaniami czy warunkami, np. często myjące ręce, mające stale wilgotną skórę — medycy, kucharze, sportowcy, hodowcy zwierząt narażeni na patogeny wziewne (Kapuściok, 2014; Kotarski, 2008; Petkowicz, 2006; Sikora, 2015; Staniszevska, 2014; Trzmiel, 2011).

1.2. Sposoby rozpowszechniania się grzybic

Nie jesteśmy jednak skazani na „łaskę” grzybów. Organizm ludzki wyposażony jest w szereg mechanizmów obronnych, które mają na celu uniemożliwienie wtargnięcia patogenom. Do najważniejszych struktur ochronnych możemy zaliczyć: ciągłość nabłonka i jego złuszczenie, pH skóry i błon śluzowych, wydzielanie śliny, obecność saprofitycznych bakterii mogących współzawodniczyć o miejsce przyczepu na powierzchni komórki, immunologiczny system obronny (odporność komórkowa, humoralna, system fagocytny i dopełniacza, układ siateczkowo-śródbłonkowy). Przy

prawidłowo funkcjonujących wszystkich mechanizmach obronnych grzyby z reguły nie mają szans na ich pokonanie i zaatakowanie. Natomiast, jeżeli na którymś etapie nasza obrona zaczyna szwankować, może wówczas stanowić wrota infekcji grzybiczej. I tak, w zależności od różnych czynników, grzybicę

Tabela 1. Podział grzybic

GRZYBICE			
droga wniknięcia	endogenne	grzyby saprofityczne błon śluzowych, przewodu pokarmowego	grzyby drożdżopodobne
	egzogenne	- źródło w środowisku zewnętrznym (np. gleba, zwierzęta) - nabywane drogą oddechową, pokarmową lub przez uszkodzoną skórę, - pierwotnie nie występują w organizmie człowieka	pleśnie, dermatofity
związane ze stanem chorego	pierwotne	u ludzi zdrowych przed infekcją	grzyby dimorficzne
	wtórne	nakładają się na chorobę podstawową, osoby z osłabionym układem immunologicznym	grzyby dimorficzne, pleśnie, drożdże.
miejsce występowania	powierzchnowe	skóra, włosy, paznokcie, błony śluzowe	dermatofity, pleśnie, drożdże
	fungemie	obecność grzyba we krwi	drożdże, grzyby dimorficzne, pleśnie
	układowe (narządowe)	- zaatakowane narządy wewnętrzne - jednoulkowe lub wieloulkowe	drożdże, pleśnie
pochodzenie	antropofilne	przekazywane z człowieka na człowieka	dermatofity
	zoofilne	wywołują zakażenia u zwierząt ale mogą być przekazane ludziom	dermatofity
	geofilne	występują w glebie jako saprofity i mogą powodować zakażenia u ludzi i zwierząt	dermatofity, pleśnie, grzyby dimorficzne
rodzaj grzyba	kandydoza	powodowana przez drożdżaki	<i>Candida</i>
	dermatomikoza	powodowana przez dermatofity	dermatofity
	pleśnica	powodowana przez grzyby pleśniowe	pleśnie

(mikozę) możemy określić w sposób wieloraki, co obrazuje Tabela 1.

2. Przegląd grzybic

2.1. Dermatofity

Dermatofity stanowią główny czynnik etiologiczny mikoz powierzchniowych, ponieważ do swojego wzrostu wymagają keratyny. Ich inwazja ograniczona jest do warstwy rogowej skóry i jej przydatków — włosów i paznokci. Zdarzają się również głębsze zakażenia naskórka; wówczas proces chorobowy może przebiegać w postaci ropnych odmian typu kerion (miękkie guzy). **Dermatomikozy** są chorobami zakaźnymi, głównie egzogennymi, ale nie stanowią większego zagrożenia dla zdrowia i życia. Mogą przenosić się z człowieka na człowieka (*Trichophyton tonsurans*, *T. rubrum*; *Microsporum audouinii*; *Epidermophyton floccosum*), poprzez kontakt z zakażonym zwierzęciem (*Trichophyton verrucosum*, *T. mentagrophytes* var. *granulosum*; *Microsporum canis*) lub ze środowiska (*Microsporum gryposem*, *M. fulvum*). Choroby przez nie wywoływane wpływają na pogorszenie jakości życia pacjenta oraz stanowią problem estetyczny.

Dermatomikozy skóry głowy występują w postaci drobnozarodnikowej, strzygącej i woszczynowej. Często dochodzi też do uszkodzenia mieszków włosowych, a w rezultacie ich wypadania i powstawania ognisk łysienia. Na rękach obserwuje się formy od potnicowej do maceracyjnej, a na stopach — krostkową, wrzodziejącą, złuszczącą (mokasynową), potnicową i międzypalcową („stopa atlety”). Zmieniona chorobowo skóra może być sucha, łuszcząca się, ze zmianami łojotokowymi lub łuskowata. Częstym objawem jest świąd, stan zapalny, zaczerwienienie, pieczenie, tkliwość, podatność na pęknięcie i powstawanie mikrourazów. Zmiany, gdzie dochodzi do przerwania ciągłości naskórka, często połączonego z uczuciem swędzenia, ulegają dodatkowo nadkażeniom bakteryjnym, utrudniając proces terapeutyczny.

Choroby paznokci w zależności od kierunku rozprzestrzeniania się grzyba możemy podzielić na DLSO — zajęcie płytki od końca dystalnego, SWO — zakażenie powierzchniowe, PSO — rozpoczyna się od wału paznokciowego, TDO — całkowite zajęcie płytki (Baran, 2006). Zakażeniom paznokci towarzyszy zmiana koloru i/lub struktury płytki, pogrubienie, pocienienie lub wykruszanie się płytki, oddzielenie się macierzy, onycholiza i stan zapalny wałów paznokciowych. W celu diagnozy dermatomikozy wykonuje się posiew z miejsc chorobowo zmienionych, zakładając hodowlę na podłożach oraz wykonując preparat bezpośredni (Kapuściok, 2014; Maleszka, 2015; Trzmiel, 2011).



Ilustracja 1. Dermatofity na podłożu Sabouraud z aktidionem i chloramfenikolem. Źródło własne

2.2. Grzyby drożdżopodobne

Grzyby drożdżopodobne są komensalami błon śluzowych i przewodu pokarmowego, rzadziej zdrowej skóry, dlatego większość przypadków kandydozy ma podłoże endogenne, gdzie dochodzi do zakażenia drożdżami obecnymi wcześniej w organizmie. Za przyczynę rozpoczęcia procesu chorobowego uważa się zaburzenie równowagi pomiędzy gospodarzem a grzybem. Do takiej sytuacji mogą doprowadzić, oprócz czynników typowo predysponujących do rozwoju grzybicy, również doustna antykoncepcja, niedobory żelaza i witamin, zaburzenia endokrynologiczne (niedoczynność tarczycy) oraz ciąża (zmiana mikrobiomu pochwy i gospodarki hormonalnej, spadek odporności). Głównym czynnikiem rozwoju infekcji jest osłabienie układu immunologicznego, co doprowadza do zakażeń egzogennych, nadmiernego rozrostu komensali lub rozsiewu z miejsc pierwotnie niegroźnych. Taką transmisję określa się mianem inwazyjnej kandydozy, gdzie komórki grzyba wnikają do naczyń krwionośnych z następczą fungemią i zajęciem narządów.

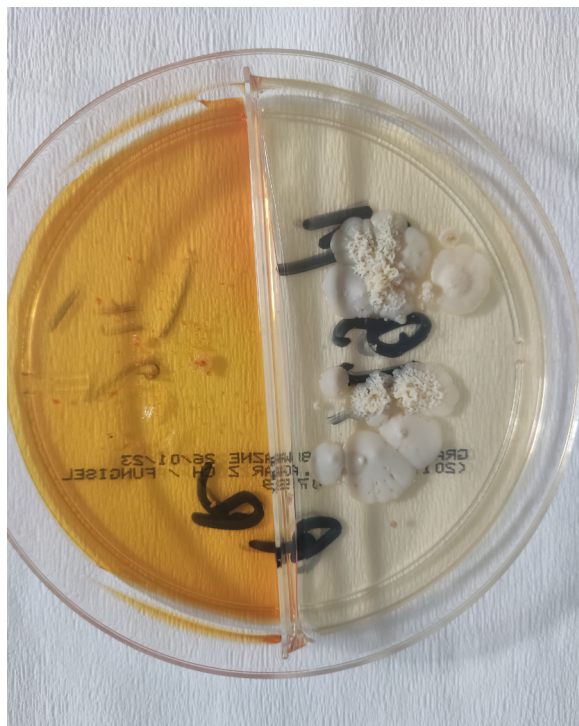
Grzyby drożdżopodobne potrafią doskonale dostosować się do warunków panujących w niemalże każdym zakamarku organizmu, toteż stanowią najpowszechniejszy czynnik etiologiczny mikoz, a przykładowymi przedstawicielami tej grupy są *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*), *Malassezia furfur*, *Geotrichum candidum*, *Rhodothorula*. Ich spektrum chorobotwórcze jest bardzo szerokie — od błahych infekcji powodujących dyskomfort czy wpływających na estetykę wyglądu po zakażenia układowe (pokarmowe, płuc, opon mózgowo-rdzeniowych), a także zagrażające życiu **fungemie**.

Kandydoza błon śluzowych (jama ustna, gardło) może występować jako zapalenie kątów ust, postać ostra rzekomobłoniasta (pleśniawki) i zanikowa (nadżerkowa) oraz przewlekła zanikowa i hiperplastyczna. Na skórze powodują łupież pstry, kandydozę okolicy odbytu, mieszków włosowych, wyprzenie nadżerkowe międzypalcowe rąk i fałdów skórnych (pachwiny,

brzuch) oraz ziarniniak drożdżakowaty atakujący paznokcie i wały paznokciowe.

Drożdżakowe zapalenie pochwy i sromu (VVC — *Vulvo Vaginal Candidiasis*) jest powszechną nieprawidłowością w biocenozie pochwy, ale nie niesie ze sobą większego zagrożenia. Sytuacja zmienia się, jeżeli infekcja dotyczy kobiety ciężarnej, gdzie *Candida* może być przyczyną pęknięcia pęcherza płodowego, niosąc ze sobą bezpośrednie ryzyko dla płodu (Kotarski, 2008). U dzieci mogą być przyczyną ostrego wodonercza poprzez formowanie zbitych grzybni w obrębie miedniczki i kielichów nerkowych — tzw. kule grzybicze, co utrudnia mikcję lub prowadzi do zatrzymania czy zastoju moczu.

Kandydozy błon śluzowych charakteryzują się często specyficznym zapachem, białawym nalotem bądź wydzieliną i czerwonymi lub białymi



Ilustracja 2.
Drożdżaki na
podłożu Sabouraud
z aktidionem
i chloramfenikolem.
Źródło własne

plamami. W przypadku skóry obserwujemy intensywny odczyn rumieniowy, macerację i świąd. Objawy kandydoz układowych związane są z miejscem infekcji, np. w przypadku przewodu pokarmowego występuje gorączka, zaburzenia perystaltyki jelit, mdłości, wymioty, pobolewanie, utrata apetytu i masy ciała, dolegliwości dyspeptyczne, uczucie pełności w nadbrzuszu i SIFO (Small Intestinal Fungal Overgrowth — zespół rozrostu grzybiczego w jelicie).

W przypadku zajęcia układu nerwowego obserwujemy zaburzenia pamięci, zespół przewlekłego zmęczenia, ataki paniki, stany lękowe i nadpobudliwość psychoruchową. W celu stwierdzenia kandydozy pobiera się odpowiednie materiały związane z podejrzeniem występowania grzyba, wykonuje hodowlę, identyfikację oraz oznacza lekowrażliwość z uwzględnieniem naturalnej oporności na leki (Grondalska, 2017; Kapuściok, 2014; Petkowicz, 2006; Paczkowska, 2010; Rogalski, 2010; Sikora, 2015; Staniszewska, 2014; Trzmiel).

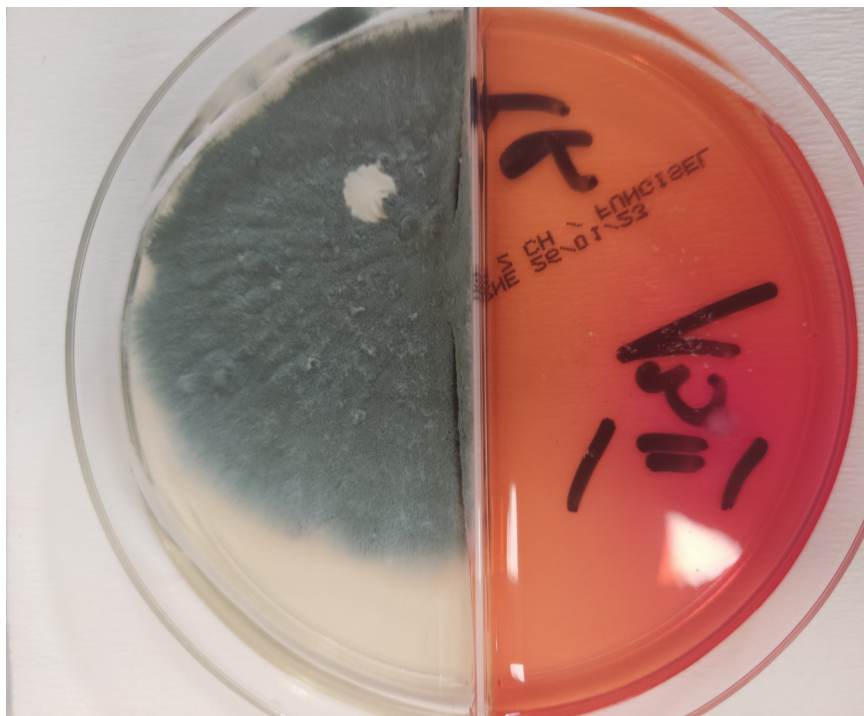
2.3. *Grzyby pleśniowe*

Grzyby pleśniowe są powszechnie spotykane w przyrodzie (rośliny, gleba), a także na zdrowej skórze ludzi, szczególnie głowie owłosionej i przestrzeniach międzypalcowych stóp. Jednak w pewnych warunkach mogą stać się chorobotwórcze, doprowadzając do rozwoju **egzogennych grzybic** powierzchownych oraz narządowych. Zakażenia naskórka związane są z jego uszkodzeniem (owrzodzenia, nadżerki, oparzenia, maceracja) i występują dość rzadko, natomiast częściej atakowane są paznokcie, a głównym czynnikiem jest *Scopulariopsis brevicaulis*. Choroba przez niego wywoływana to **akaulioza** (Maleszka, 2015; Skóra, 2015).

Oprócz **niegroźnych pleśnic** powierzchownych mogą stanowić spore ryzyko dla osób z obniżoną odpornością, wywołując ciężkie grzybice układowe. Sprzyjają temu choroby alergiczne (astma oskrzelowa, steroidozależna), mukowiscydoza, a także zaburzenia krążenia, zwłaszcza w kończynach dolnych. Do organizmu trafiają z wdychanym powietrzem,

gdzie zarodniki przedostają się do pęcherzyków płucnych i, jeżeli znajdują się w sprzyjających warunkach, rozpoczynają proces chorobowy. Rozprzestrzeniają się dalej wraz z krwią do serca, nerek, mózgu i kości, doprowadzając do rozwoju grzybicy inwazyjnej. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym mikoz jest *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*), rzadziej występują fusariozy (*Fusarium*) czy mukormykozy (*Rhizopus*, *Mucor*, *Absidia*).

Możemy też wyróżnić grzybice jasnostrzępkowe wywołujące zakażenia oportunistyczne (**hialohyfomykozy**) — *Scopulariopsis*, *Acremonium* oraz ciemnostrzępkowe (*Alternaria*, *Cladosporium*) powodujące pourazowe zakażenia skóry i tkanek miękkich, zatok, rogówki oka, OUN, wsierdza i otrzewnej.



Ilustracja 3. Pleśń na podłożu Sabouraud z aktidionem i chloramfenikolem. Źródło własne

Fusarioza może występować powierzchownie, powodując zapalenie rogówki i grzybice paznokci, układowo (zapalenia płuc, ropnie), w formie rozsianej (zapalenia tkanki łącznej, zapalenie zatok, mykotoksykoza) oraz zakażeń krwi (fungemia).

Mukormykozy przyjmują postać nosowo-mózgową (ból głowy, jednostronny obrzęk twarzy, zatkanie nosa lub zatok), płucną rozsianą (kaszel, skrócony oddech, ból w klatce piersiowej, duszność), żołądkowo-jelitową (ból brzucha, krwawienie z układu pokarmowego, zaburzenia jelitowe) i skórą (wrzody i pęcherze, ból i obrzęk wokół rany, czarne zabarwienie).

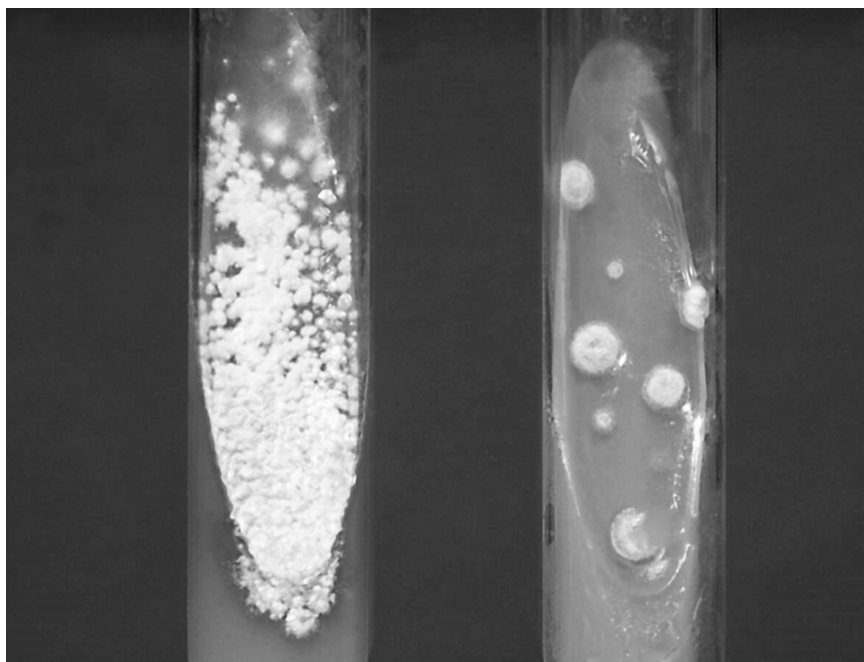
Najpowszechniejsze pleśnice — **aspergilozy** — powodują grzybice od powierzchownych (skóra ucha zewnętrznego, paznokcie) po układowe, z czego wyróżniamy alergiczną aspergilozę oskrzelowo-płucną (ABPA, *allergic bronchopulmonary aspergillosis*) charakteryzującą się napadową dusznością, produktywnym kaszlem z odkrztuszaniem brunatnych ropnych czopów i świstami spowodowanymi zwężeniem dróg oddechowych. W wyniku kontaktu z grzybem w trakcie gruźliczy może powstawać **grzybniak kropidlakowy** (aspergilloma), a jego objawy związane są z lokalizacją guzków — postaci bezobjawowe, ból, krwioplucie, uczucie zatkania uszu i nosa, zaburzenia słuchu, krwawienia z uszkodzonych naczyń krwionośnych.

Najgroźniejsze są **inwazyjne aspergilozy** (IA, zatokowo-płucna, uogólniona, narządowa), będące wyniszczającymi infekcjami o wysokiej śmiertelności uzależnionej od statusu immunologicznego pacjenta, zastosowanych terapii i rozległości zakażenia. Objawy wiążą się z miejscem występowania mikozy, powodując np. zaburzenia widzenia aż do ślepoty, krwioplucie, ropnie mózgu, zaburzenia świadomości i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Leczenie należy podjąć niezwłocznie, gdyż stan chorego może szybko ulec pogorszeniu, prowadząc do zgonu w ciągu 1–2 tyg. od wystąpienia infekcji, a nieleczona prawie w 100% oznacza śmierć. Pleśnie często doprowadzają do rozwoju chorób na tle alergicznym, ponieważ ich zarodniki należą do silnych alergenów, a także mają zdolność produkcji

mikotoksyn występujących w żywności (wywołują mikotoksykozy) (Nowicka, 2011; Remiszewski, 2006; Skóra, 2015; Trzmiel, 2011).

2.4. Grzyby dimorficzne

Grzyby dimorficzne, w zależności od miejsca bytowania, mogą występować w różnych formach morfologicznych. W temperaturze 25°C i warunkach środowiskowych przyjmują wygląd nitkowaty, zaś morfologię drożdżopodobną przybierają w 37°C. Jest to postać inwazyjna dla człowieka, gdyż odpowiada temperaturze ciała. Przykładami takich grzybów są *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*. Ich



Ilustracja 4. Dimorficzny grzyb *Histoplasma capsulatum*. (CDC, Dr Lenore Haley, 1979)

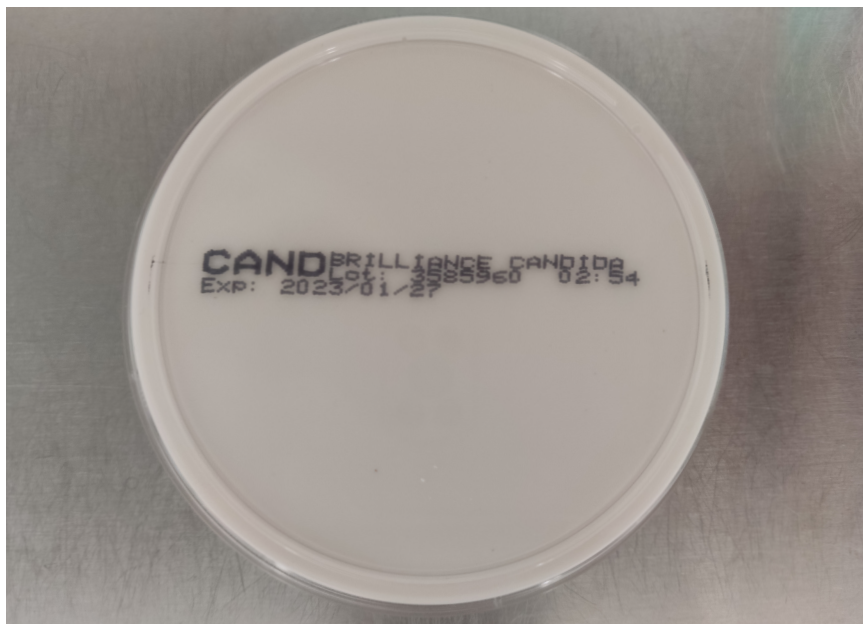
rezerwuarem jest wilgotna gleba bogata w szczątki organiczne. Do zakażenia dochodzi poprzez inhalację aerozolu zawierającego zarodniki lub części grzybni, dlatego też infekcje najczęściej dotyczą układu oddechowego. Szczególnie narażone są osoby mające kontakt z materiałem zakaźnym w dużej ilości lub z niedoborami odporności. Głównym czynnikiem predysponującym do rozwoju zakażenia jest **wirus HIV**, ale sprzyja też immunosupresja i choroby układu chłonnego. *Histoplasma capsulatum* wywołuje zakażenie nazywane **chorobą Darlinga**, która może manifestować się w postaci płucnej ostrej, przewlekłej i rozsianej oraz pozapłucnej rozsianej (ocznej, śródpiersiowej). W przypadku formy ostrej i podostrej najczęściej nie obserwujemy objawów, natomiast inne postaci mogą przebiegać z objawami grypopodobnymi – kaszel, gorączka, dreszcze, bóle głowy, brzucha i mięśni oraz ogólne osłabienie. Dodatkowo, przy przewlekłej histoplazmozie dochodzi do kaszlu z odkrztuszaniem wydzieliny, trwającego ponad 3 miesiące, oraz utraty masy ciała, zaś postać rozsiana związana jest z miejscem infekcji (niewydolność serca — obrzęki, duszność, bóle zamostkowe; neurologiczne — zaburzenia widzenia, świadomości).

Histoplazmoza pozapłucna oczna może doprowadzić nawet do utraty wzroku, zaś śródpiersiowa wiąże się z powikłaniami spowodowanymi uciskiem na naczynia krwionośne lub drogi oddechowe. Obie formy rozsiane obarczone są dużą śmiertelnością. **Choroba Gilchrista**, wywoływana przez *Blastomyces dermatitidis*, początkowo przypomina przeziębienie lub zapalenie płuc z typowymi objawami, jak gorączka, kaszel, nocne poty, osłabienie i stany podgorączkowe. Może rozwijać się także na skórze, tworząc brodawkowate twory i niebolesne owrzodzenia oraz atakować kości, doprowadzając do zmian osteolitycznych. Jako grzybnice układowe infekują nerki, prostatę i OUN, powodując ropnie mózgu i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. W zależności od gatunku grzyba choroba może rozwijać się szybko (3–14 dni — *Histoplasma capsulatum*) lub wolno (30–100 dni — *Blastomyces dermatitidis*) i długo utrzymywać się w organizmie (nawet 3 miesiące).

W Polsce grzyby dimorficzne są dość rzadko rozpoznawane (Maresca, 1989).

3. Diagnostyka grzybic

W zależności od rodzaju grzyba i jego miejsca występowania dysponujemy różnorodnymi metodami diagnostycznymi. Podstawowym sposobem na potwierdzenie infekcji grzybiczej jest posiew mikrobiologiczny. W przypadku mikoz powierzchniowych materiał do badania jest prosty do pozyskania, ale z powodu łatwego dostępu do miejsc zmienionych chorobowo oraz możliwości „samoleczenia” często otrzymujemy wyniki zafałszowane. Zwłaszcza w dermatologii duże znaczenie odgrywa preparat bezpośredni wykonywany z materiału pobranego od pacjenta. Dzięki niemu stosunkowo szybko możemy wstępnie potwierdzić bądź wykluczyć infekcję grzybiczą.



Ilustracja 5. Podłoże chromogenne CAND Brilliance do różnicowania grzybów drożdżowych. Źródło własne

Do jego wykonania używa się 20% roztworu KOH z dodatkiem 40% DMSO (dwumetylosulfotlenku), który ma właściwości rozluźniające zrogowaciałe struktury tkankowe, ułatwiając ocenę preparatu. Istnieje też możliwość podbarwiania tuszem (Parker ink) lub błękitem laktofenolowym dla lepszego uwidocznienia cech morfologicznych grzyba. W przypadku innych materiałów niż skóra i jej przydatki możemy wykonać preparat w soli fizjologicznej i/albo **barwiony metodą Grama**.

Kolejnym krokiem jest wykonanie hodowli na **podłożu Sabouraud** z dodatkiem chloramfenikolu i/albo gentamycyny, co podnosi wybiórczość w stosunku do bakterii. Mogą na nim rosnąć wszystkie rodzaje grzybów, jednak czas wzrostu uzależniony jest od gatunku. Hodowla drożdżaków zajmuje 24–48 h w temperaturze 37°C, pleśni 7–14 dni w temperaturze pokojowej, zaś grzybów dimorficznych i dermatofitów trwa zwykle około 3–4 tygodnie w temperaturze 26–30°C. Ocena wyglądu makro- i mikrokonidiów oraz owocników wyhodowanej grzybni stanowi podstawę identyfikacji pleśni i dermatofitów.

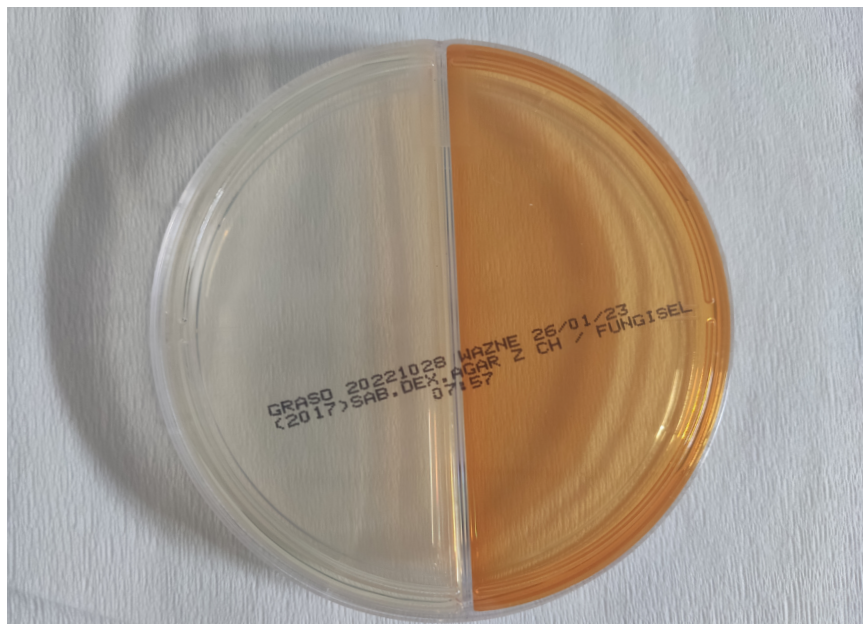
Poza klasycznym agarem Sabourauda, mamy również szereg **podłoży chromogennych**, pozwalających na różnicowanie grzybów i wykrywanie specyficznych dla nich enzymów. Wśród takich pożywek możemy znaleźć te promujące wzrost i różnicowanie dermatofitów (Sabouraud z aktidionem i chloramfenikolem, DTM, **agar Christensena** z mocznikiem), ułatwiające wytwarzanie chlamydospor, pseudogrybni i blastospor (**agar chlamydosporowy**, podłoże Rice-Agar-Tween) oraz różnicowanie drożdżaków oparte na zdolności redukcji soli tetrazolowych.

Mamy również możliwość przeprowadzenia biochemicznej identyfikacji opartej na asymilacji (auksanogram) i fermentacji (zymogram) cukru oraz dla grzybów drożdżopodobnych szeregu API. W przypadku podejrzenia aspergilozy w płynie mózgowo-rdzeniowym lub krwi możemy wykonać test serologiczny metodą ELISA, polegający na wykryciu antygenu galaktomannanowego (GM). Jest to oligosacharyd ściany komórkowej

kropidlaka wydzielany do płynów ustrojowych w fazie intensywnego wzrostu grzybni. Do dyspozycji mamy również bardziej zaawansowane metody diagnostyczne, jak ocena automatyczna na aparacie Vitek, **spektrometria mas (MALDI-TOF MS)** czy łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) (Baran, 2006; Dzieciatkowski, 2015; Maleszka, 2015; Remiszewski, 2006).

4. Metody leczenia grzybicy

Sposób leczenia grzybicy zależy od formy i lokalizacji zakażenia, gatunku grzyba oraz stanu chorego. Należy przy tym pamiętać o zjawisku narastającej oporności nabytej oraz naturalnej grzybów na antybiotyki, np. *Candida krusei* oporna na flukonazol, a *C. glabrata*, *C. norvegensis* mają na niego obniżoną wrażliwość. W niektórych przypadkach (np. drożdżycę narządów płciowych)



Ilustracja 6. Podłoże Sabouraud z aktidionem i chloramfenikolem. Źródło własne