



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΕΤΟΣ ΙΔΡΥΣΗΣ 1932



Επιπολής μυκητικές λοιμώξεις: αίτια, ταυτοποίηση

Γεωργία Βρυώνη



Υπό την Αιγίδα
της Ελληνικής
Εταιρείας Ιατρικής
Μυκητολογίας



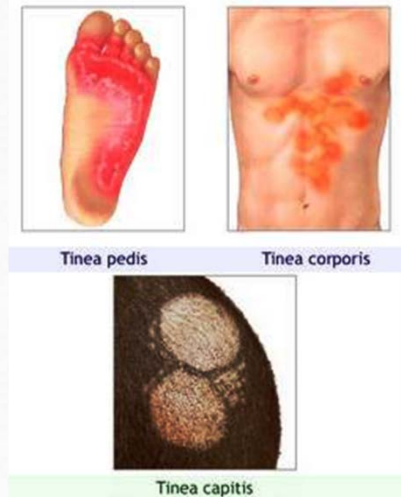
Υπό την Αιγίδα
της Ιατρικής Σχολής
του Πανεπιστημίου
Αθηνών

28-29 Μαΐου 2022

Εργαστήριο Μικροβιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Επιπολής μυκητικές λοιμώξεις

- Προσβάλλουν την **επιπολής** κερατίνη στιβάδα του δέρματος και τα εξαρτήματά του - τρίχες, νύχια - και τους βλεννογόνους
- Περιλαμβάνουν λοιμώξεις από:
 - Μύκητες του γένους *Malassezia*
 - Μύκητες του γένους *Candida* & άλλους ζυμομύκητες
 - Δερματοφύτα
 - Μη δερματοφυτικοί μύκητες
 - Σπάνια είδη τροπικών μυκήτων



Επιπολής μυκητικές λοιμώξεις - η εμφάνισή τους ευνοείται από

Εξωγενείς παράγοντες

- στενή επαφή με το χώμα, τα ζώα, άλλους ενήλικες, παιδιά
- τραυματισμοί,
- συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και υγρασίας

Ενδογενείς παράγοντες

- ανοσολογική ανεπάρκεια,
- ενδοκρινοπάθειες,
- νόσοι του κολλαγόνου,
- περιφερική αρτηριακή νόσος,
- μακροχρόνια χρήση κορτικοστεροειδών ή και αντιβιοτικών,
- ατοπία, ...

Εργαστηριακή διάγνωση

Βασίζεται σε:

- **α)** κλινική εικόνα, λήψη ιστορικού (επαφές, προηγηθείσα θεραπεία),
- **β)** συλλογή κατάλληλου δείγματος
- **γ)** άμεση μικροσκοπική αναζήτηση του μύκητα
- **δ)** καλλιέργεια σε ειδικά θρεπτικά υλικά με στόχο την απομόνωση και την ταυτοποίηση με βάση την μακρο- και μικρο-σκοπική εικόνα της αποικίας
- **ε)** μοριακές τεχνικές, ανίχνευση μυκητικού γενετικού υλικού, όσο και την ταυτοποίηση από τη θετική καλλιέργεια
- **στ)** ιστολογική εξέταση

Εργαστηριακή διάγνωση διευκολύνεται από πληροφορίες, όπως:

- φύλο, ηλικία, επάγγελμα
- εντοπισμός της βλάβης, κλινική εικόνα
- ιστορικό του ασθενούς (π.χ. ανοσοκαταστολή, νεφροπαθείς σε χρόνια αιμοδιάλυση,...)
- προηγούμενα τοπική ή συστηματική φαρμακευτική αγωγή.
- εθνικότητα και χώρα προέλευσης
- διαμονή ή πρόσφατα ταξίδια στο εξωτερικό

Σημαντικός παράγοντας για τη διάγνωση: η χώρα προέλευσης του ασθενούς, ιδιαίτερα αν προέρχεται ή αν έχει επισκεφτεί τροπικές χώρες, όπου ενδημούν συγκεκριμένοι «εξωτικοί» μύκητες.

Συλλογή κλινικού δείγματος

- Το δείγμα πρέπει να συλλέγεται από επιλεγμένο σημείο της δερματικής βλάβης με άσηπτες συνθήκες
- Όταν υπάρχουν περισσότερες της μιας εντοπίσεις η λήψη να γίνεται **χωριστά από κάθε εντόπιση**
- Η ποσότητα πρέπει να είναι **επαρκής** για τη διεξαγωγή μικροσκοπικής εξέτασης και καλλιέργειας.
- Εάν είναι δυνατόν **πριν** την έναρξη θεραπείας.
- Σε περίπτωση που έχει γίνει χρήση φαρμακευτικής αγωγής (π.χ. κορτιζόνης, αντιμυκητικού, αντισηπτικού), επιβάλλεται η **διακοπή της αγωγής** για χρονικό διάστημα, ανάλογα με την προηγούμενη αγωγή (7-30 ημέρες)



Όστε να αναπτυχθεί ο μύκητας στα καλλιεργητικά υλικά

Μυκητιάσεις οφειλόμενες στο γένος *Malassezia* spp.

Ποικιλόχρους πιτυρίαση

- **Κλινική εικόνα:** ήπια, χρόνια, υποτροπιάζουσα, μη φλεγμονώδης μυκητίαση με κυκλικές ή ωοειδείς μονήρεις κηλίδες καστανόφαιες, λευκωπές ή ρόδινες συρρέουσες σε περιοχές με άφθονους σμηγματογόνους αδένες (ροζ, κόκκινες, καφέ / κομφετί!) με λεπτή απολέπιση στον κορμό (άνω) και τους βραχίονες. Τάση επέκτασης
- Παγκόσμια κατανομή
- **Σπάνια σε παιδιά**



Μυκητιάσεις οφειλόμενες στο γένος *Malassezia spp.*

Θυλακίτιδα από πιτυρόσπορο

- **Αιτιολογία:** *M. globosa*, *M. restricta*
- **Κλινική εικόνα:** κνησμώδεις θυλακικές βλατίδες και φλυκταινίδια κυρίως στο άνω τμήμα του κορμού, τον τράχηλο και τα άνω άκρα
- Κυρίως σε νεαρούς ενήλικες μετά από ηλιοθεραπεία ή θεραπεία με αντιβιοτικά ή ανοσοκατασταλτικά
- Άτομα με σμηγματορροϊκή δερματίτιδα
- Ασθενείς με λοίμωξη HIV



Ταξινόμηση του γένους *Malassezia*

Malassezia species

Main host/others

M. furfur, (Robin) Baillon, 1889

Man/cow, elephant, pig, monkey, ostrich, pelican

M. pachydermatis, (Weidman) Dodge, 1925

Dog, cat/carnivores, birds

M. sympodialis, Simmons & Guého, 1990

Man/horse, pig, sheep

M. globosa, Midgley et al., 1996

Man/cheetah, cow

M. obtusa, Midgley et al., 1996

Man

M. restricta, Guého et al., 1996

Man

M. slooffiae, Guillot et al., 1996

Man, pig/goat, sheep

M. dermatis, Sugita et al., 2002

Man

M. japonica, Sugita et al., 2003

Man

M. nana, Hirai et al., 2004

Cat, cow/dog

M. yamatoensis, Sugita et al., 2004

Man

M. caprae, Cabañes & Boekhout, 2007

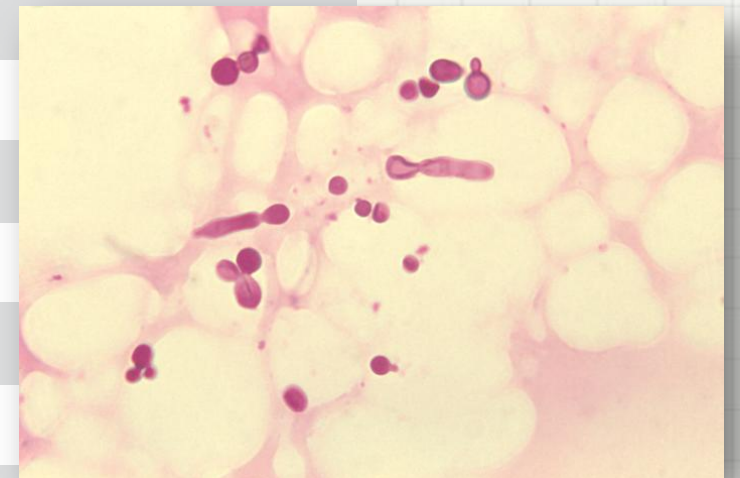
Goat/horse

M. equina, Cabañes & Boekhout, 2007

Horse/cow

M. cuniculi, Cabañes & Castellá, 2011

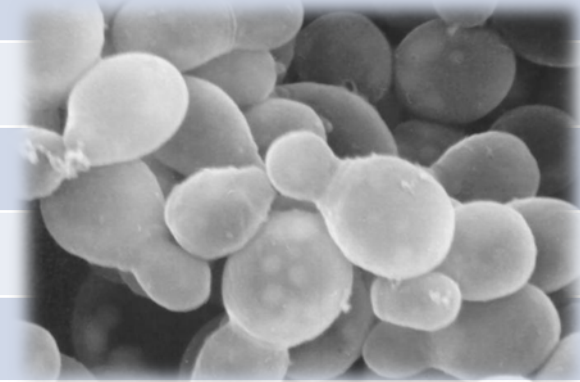
Rabbit



Cabañes FJ. Malassezia Yeasts: How Many Species Infect Humans and Animals?. PLOS Pathogens 2014;10:e1003892.

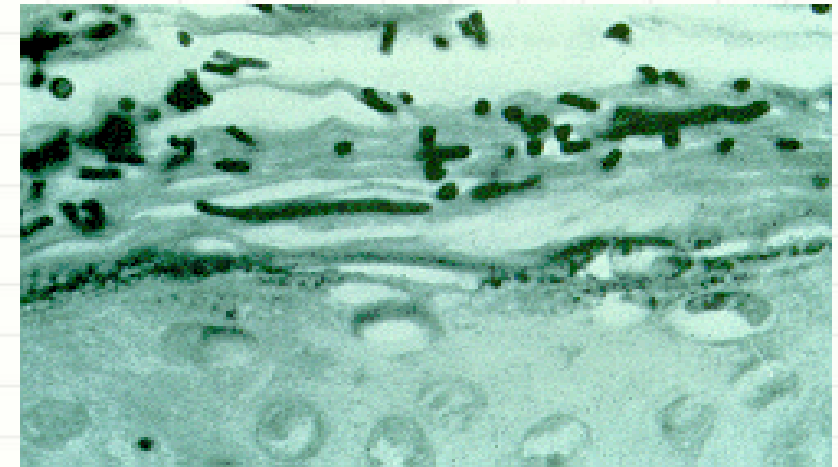
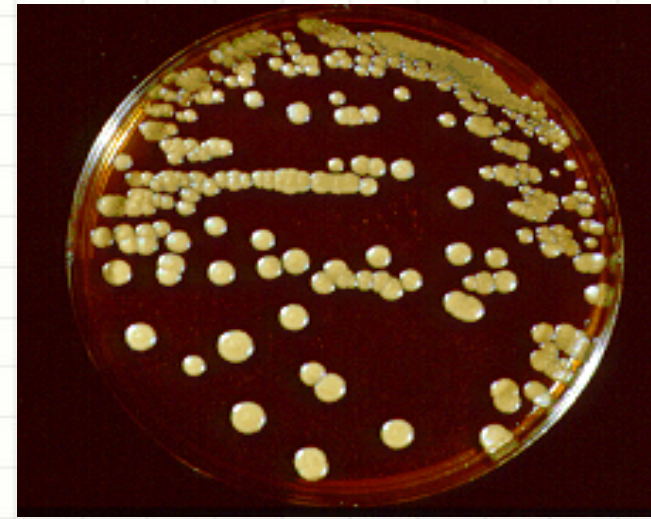
Synonyms of *Malassezia* species (14)

Currently accepted species	Previously used synonyms
<i>M. globosa</i>	<i>Pityrosporum orbiculare</i> ; <i>M. furfur</i> Serovar B
<i>M. slooffiae</i>	<i>Pityrosporum ovale</i> Form 1
<i>M. obtusa</i>	<i>P. ovale</i> Form 2
<i>M. sympodialis</i>	<i>M. sympodialis</i> ; <i>M. furfur</i> Serovar A ; <i>P. ovale</i> Form 3
<i>M. furfur</i>	<i>M. furfur</i>
<i>M. restricta</i>	<i>M. furfur</i> Serovar C
<i>M. pachydermatis</i>	<i>P. pachydermatis</i> ; <i>M. pachydermatis</i>
<i>M. dermatis</i>	-
<i>M. japonica</i>	-
<i>M. nana</i>	-
<i>M. yamatoensis</i>	-
<i>M. equina</i>	-
<i>M. caprae</i>	
<i>M. cuniculi</i>	



Malassezia spp.

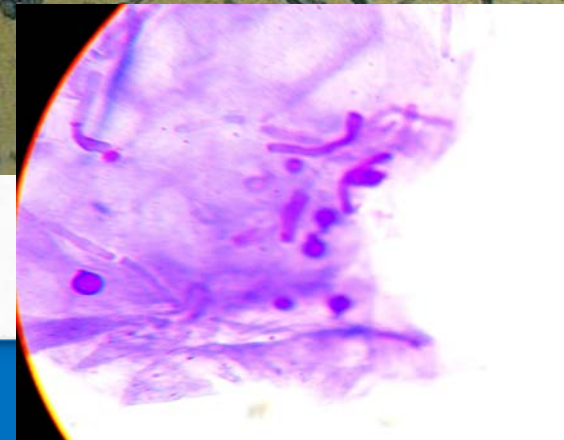
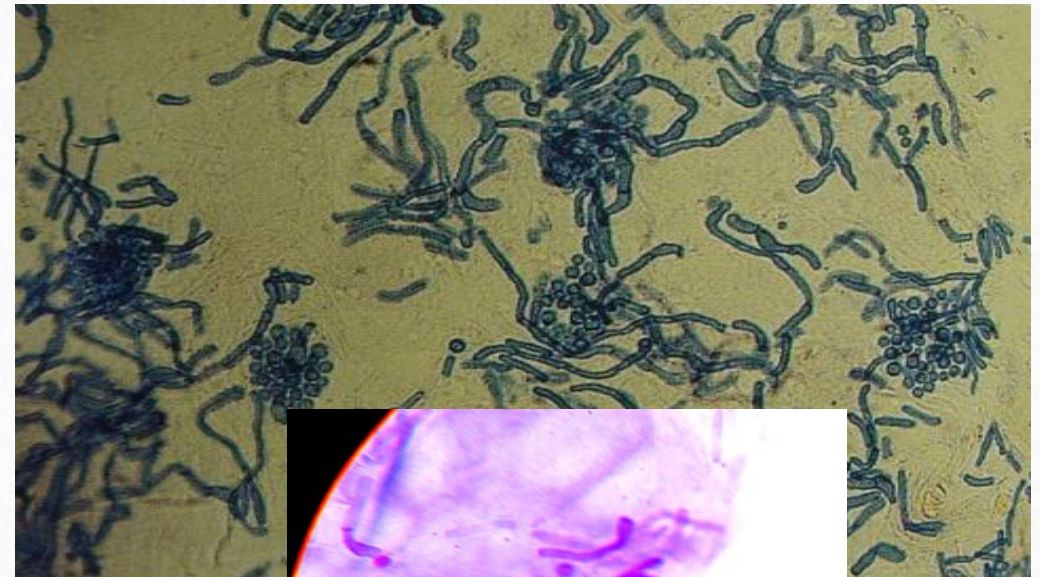
- Το γένος περιλαμβάνει **λιπόφιλους** μύκητες
 - Η **μυκηλιακή** μορφή του μύκητα είναι παθογόνος
 - Η **σαπροφυτική** μορφή μεταπίπτει σε παθογόνο με την επίδραση ενδογενών και εξωγενών παραγόντων



Malassezia spp.

Διάγνωση

- **Δείγμα προς εξέταση:** λέπια δέρματος
- **Τρόπος λήψης :** απόξεση με αντικειμενοφόρο πλάκα ή ανατομικό μαχαιρίδιο
- **Συλλογή:** αντικειμενοφόρος πλάκα ή χαρτί σκουρόχρους χρώματος.
 - δυνατή η χρήση λυχνίας Wood για τον εντοπισμό των βλαβών
- **Επεξεργασία:** Νωπό παρασκεύασμα με 50% KOH 20% + 50% μελάνι Parker, χρωματισμένο με κυανό του μεθυλενίου μετά από μονιμοποίηση με οξικό οξύ




Καλλιέργεια

- Η **καλλιέργεια** απαιτείται **για την ταυτοποίηση** των ειδών των υπευθύνων για τις συστηματικές λοιμώξεις και για τις επιδημιολογικές μελέτες
 - Sabouraud dextrose agar με στρώμα ελαίου
 - Dixon agar
 - Leeming agar
- **Επώαση** στους 32° C για 7-10 ημέρες



Δερματοφυτίες – Tinea

- **Συχνότερη μορφή μυκητιάσεων**
 - μετακίνηση πληθυσμών
 - κλιματικές και κοινωνικοοικονομικές αλλαγές
 - αλόγιστη χρήση τοπικών αντιμυκητικών φαρμάκων
- **αύξηση της επίπτωσης παγκοσμίως: 20-25% πληθυσμού**
- **Σημαντική οικονομική επιβάρυνση για τα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης**
 - ΗΠΑ: **>8.000.000 \$/έτος** για στοχευμένη θεραπεία
 - **Υποτίμηση** πραγματικού κόστους

BACKGROUND

- * FUNGAL INFECTION that can AFFECT SKIN, HAIR, & NAILS
- ~ **DERMATOPHYTES** - GROUP of FILAMENTOUS FUNGI; REQUIRE KERATIN for GROWTH
- ~ aka DERMATOPHYTOSIS or TINEA
- * ONE of the MOST COMMON CAUSES of SUPERFICIAL FUNGAL INFECTIONS



RISK FACTORS

- * DECREASED IMMUNE RESPONSE
- * AGE (ELDERLY & CHILDREN)
- * DIABETES MELLITUS
- * POOR CIRCULATION
- * CORTICOSTEROID USE

Aitia

Table 1 Dominant species of dermatophytes according to clinical localisation

Condition	Dominant species
Tinea capitis (scalp)	<i>Trichophyton violaceum</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. soudanense</i> <i>Microsporum canis</i> <i>M. audouinii</i>
Tinea pedis (feet)	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> (var. <i>interdigitale</i>) <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tinea cruris (groin)	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> (var. <i>interdigit et granulosum</i>)
Tinea corporis (arms, legs and trunk)	<i>T. rubrum</i> <i>M. canis</i> <i>T. tonsurans</i>
Tinea unguium (finger-nails and toe-nails)	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> (var. <i>interdigitale</i>)

TYPES

TINEA CAPITIS
(i.e. SCALP RINGWORM)

TINEA FACIEI

TINEA BARBAE

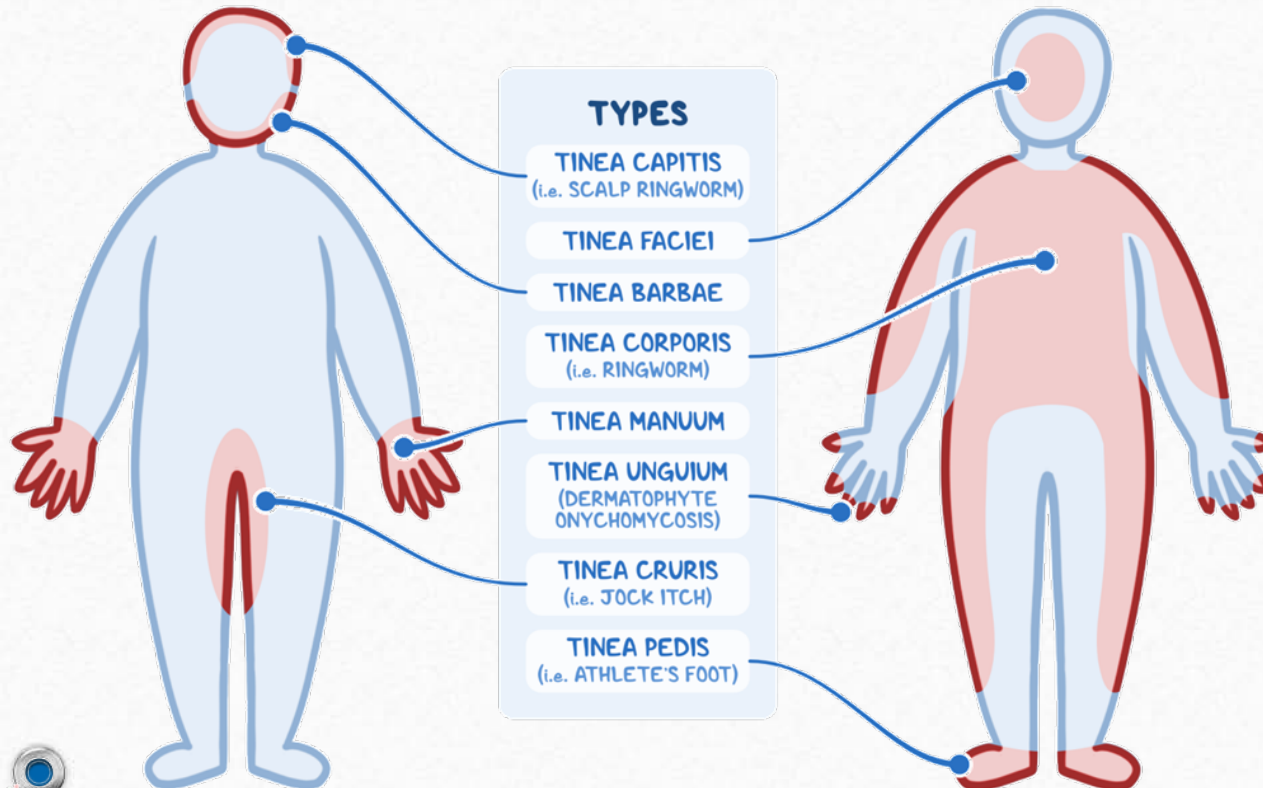
TINEA CORPORIS
(i.e. RINGWORM)

TINEA MANUUM

TINEA UNGUIUM
(DERMATOPHYTE ONYCHOMYCOSIS)

TINEA CRURIS
(i.e. JOCK ITCH)

TINEA PEDIS
(i.e. ATHLETE'S FOOT)



Διάκριση δερματοφύτων - ταξινόμηση

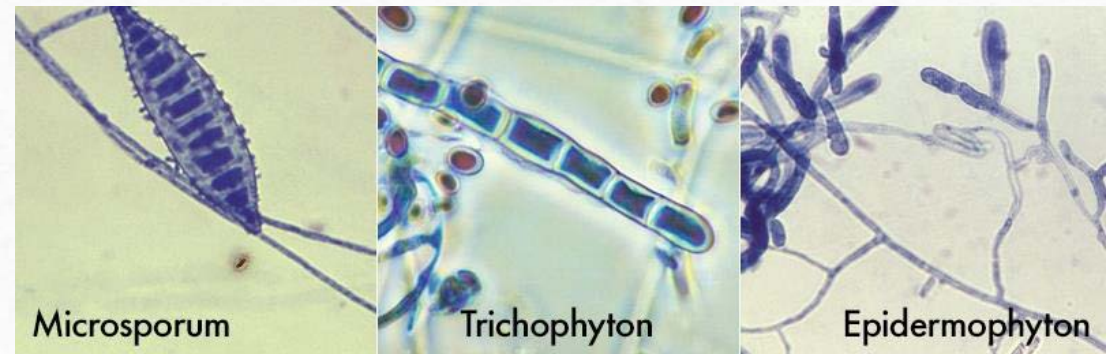
Διακρίνονται σε αυτά που προέρχονται

- ✓ από τον άνθρωπο → **ΑΝΘΡΩΠΟΦΙΛΑ**
- ✓ από τα ζώα → **ΖΩΟΦΙΛΑ**
- ✓ από το έδαφος → **ΓΕΩΦΙΛΑ**

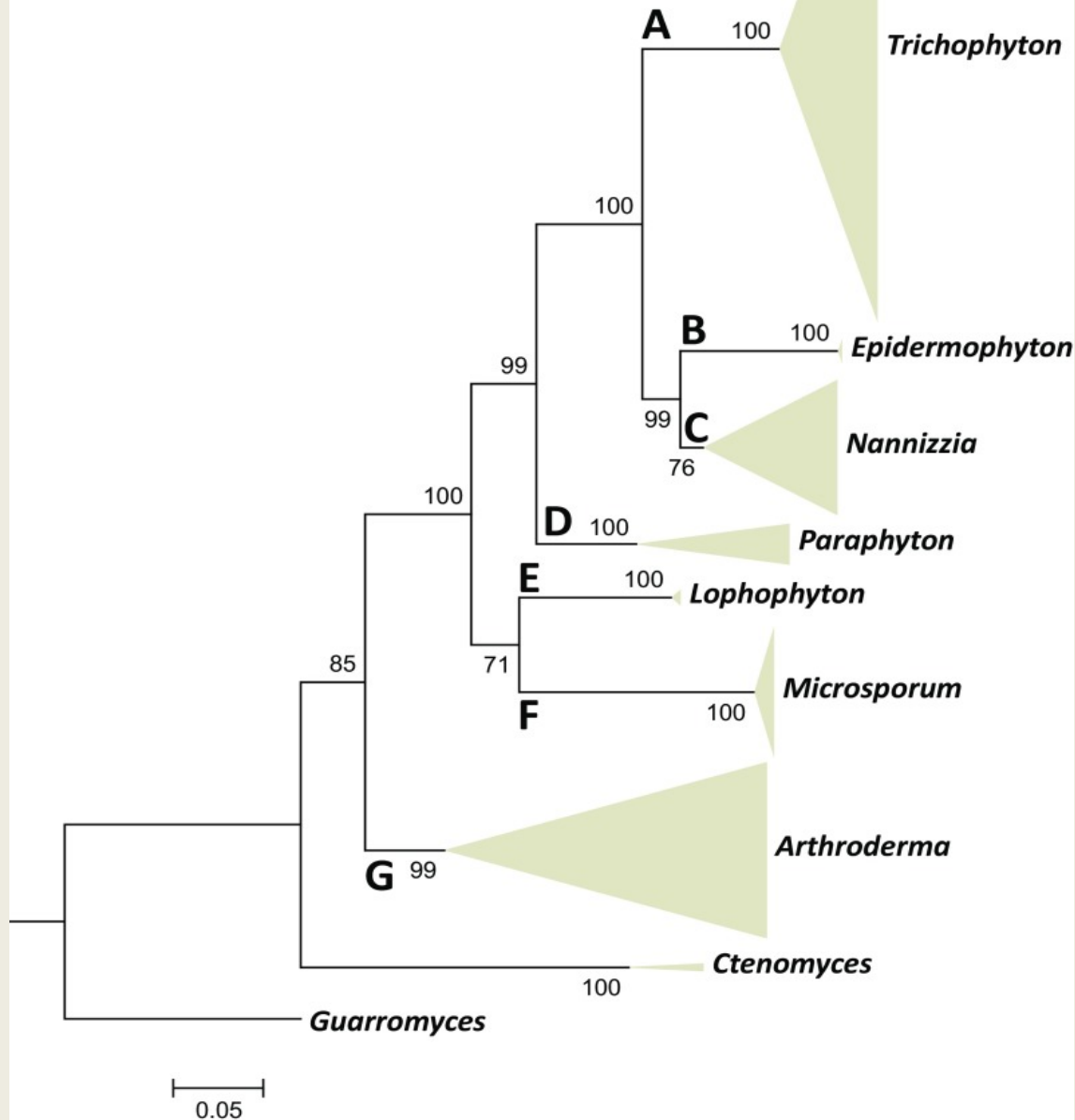


Ταξινομούνται σε 3 γένη

1. *Microsporum*
2. *Trichophyton*
3. *Epidermophyton*



Family
Arthrodermataceae

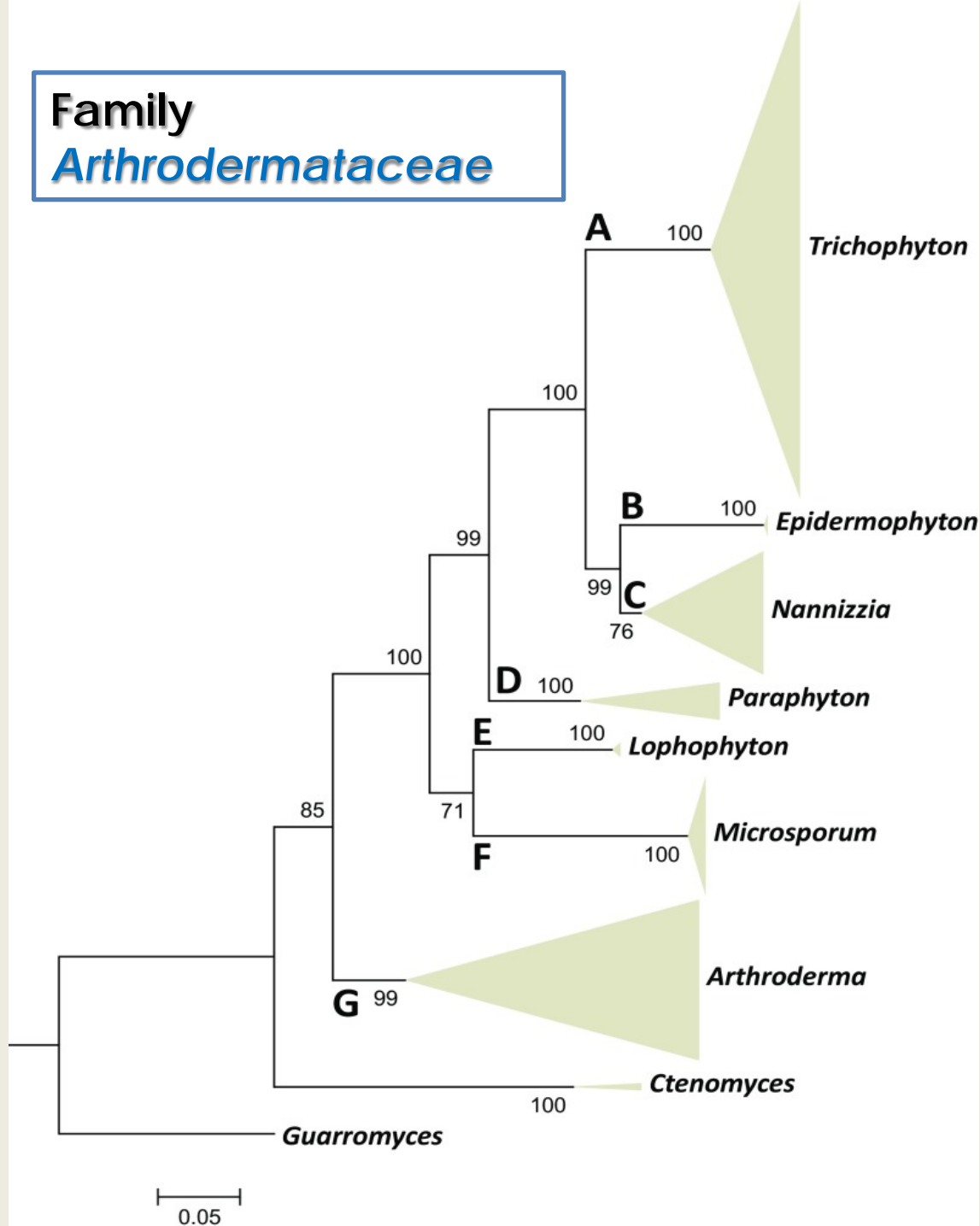


Νέα ταξινόμηση

de Hoog GS et al. Mycopathologia 2017

- *Trichophyton*: 16 species
- *Epidermophyton*: 1 species
 - *Epidermophyton floccosum* (A)
- *Nannizzia*: 9 species
- *Paraphyton*: 3 species
- *Lophophyton*: 1 species
- *Microsporium*: 3 species
 - *Microsporium audouinii* (A)
 - *Microsporium canis* (A - dog/rabbit/cat/monkey)
 - *Microsporium ferrugineum* (A)
- *Arthroderma*: 21 species
- *Ctenomyces*: 1 species

Family
Arthrodermataceae



Νέα ταξινόμηση

de Hoog GS et al. Mycopathologia 2017

- **Trichophyton**: 16 species
 - *Trichophyton benhamiae* (A – guinea pig)
 - *Trichophyton bullosum* (A – horse)
 - *Trichophyton concentricum* (A)
 - *Trichophyton equinum* (Z)
 - *Trichophyton eriotrephon* (A)
 - *Trichophyton erinacei* (A – hedgehog)
 - *Trichophyton interdigitale* (A)
 - *Trichophyton mentagrophytes* (Z)
 - *Trichophyton quinckeanum* (A – mouse)
 - *Trichophyton rubrum* (A)
 - *Trichophyton schoenleinii* (A)
 - *Trichophyton simii* (Z)
 - *Trichophyton soudanense* (A)
 - *Trichophyton tonsurans* (A – horse)
 - *Trichophyton verrucosum* (A – cow)
 - *Trichophyton violaceum* (A)

Είδη δερματοφύτων

Ανθρωπόφιλα

ήπια φλεγμονή, χρόνια λοίμωξη

- *T. rubrum*
- *T. interdigitale*
- *T. schoenleinii*
- *T. soudanense*
- *T. tonsurans*
- *T. violaceum*
- *M. ferrugineum*
- *M. audouinii*
- *E. floccosum*

Ζωόφιλα

μέτρια φλεγμονή,
αυτοπεριοριζόμενες επιδημίες

- *M. canis*
- *T. mentagrophytes*
- *T. verrucosum*

Γεώφιλα

βαριά φλεγμονή, μετάδοση σε
επαφή με χώμα

- *M. gypseum* → *Nannizzia gypsea*
- *M. cookei* → *Paraphyton cookei*
- *M. fulvum* → *Nannizzia fulva*

Που βρίσκονται ;

Ανθρωπόφιλα δερματόφυτα

- Σπίτι (το μπάνιο) - οριζόντια μετάδοση μεταξύ ενηλίκων και παιδιών
- Ξενοδοχεία
- Γυμναστήρια (ντους, ντουλάπια αποθήκευσης)
- Ταπήτια αθλητών πάλης
- Πισίνες, σάουνα, χαμάμ
- Τζαμιά

Ζωόφιλα δερματόφυτα

- **Οικόσιτα ζώα:**
γάτες ,σκύλοι, κουνέλια, ινδικά χοιρίδια
- **Ζώα σε αγροτικό περιβάλλον:**
βοοειδή, κουνέλια, σκαντζόχοιροι, άλογα , γουρούνια, σκύλοι, γάτες

Επιδημιολογία δερματόφυτων

- Τα περισσότερα είδη παρουσιάζουν **παγκόσμια κατανομή**,
- Κάποια με πιο περιορισμένη κατανομή, απομονώνονται **σε συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές**.
- Γενικά, τα επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι τα δερματόφυτα και οι λοιμώξεις που προκαλούν παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα σε **τροπικά κλίματα**.

Κοσμοπολιτική κατανομή:

T. rubrum

M. canis

T. mentagrophytes / interdigitale

T. tonsurans

E. floccosum

T. verrucosum

N. gypsea (M. gypseum)

Ενδημική κατανομή:

T. violaceum: Αφρική, Ασία (Ευρώπη)

T. soudanense: Κ. και Δ. Αφρική

M. audouinii: Αφρική

Τα τελευταία 20 χρόνια:



- *Trichophyton rubrum*:
 - το κυριότερο είδος σε δερματοφυτίες ψιλού δέρματος και νυχιών.
- *T. mentagrophytes*:
 - δεύτερο σε απομόνωση, αλλά
 - πρώτο σε περιοχές όπως NA, Ιράν, Κροατία και Αυστραλία
- Κάποια **ανθρωποφιλα είδη** είναι σπάνια εκτός Αφρικής, όπως *T. soudanense*, *M. audouinii* και *M. ferrugineum*, τα οποία μπορούν να εισαχθούν λόγω μετανάστευσης από Αφρική και να προκαλέσουν μικρές επιδημίες.
- Τα είδη *E. floccosum* & *T. schoenleinii* απομονώνονται κυρίως σε Ασία και Αφρική.
- *E. floccosum* είναι το συχνότερο στο Ιράν.

Συνοψίζοντας:



Tinea capitis

- ***Microsporum canis*** η συχνότερη αιτία σε Ευρώπη και Ασία.
- ***T. tonsurans*** το συχνότερο είδος σε Β. και Ν. Αμερική και Αγγλία.
- Τα ανθρωπόφιλα είδη ***T. soudanense***, ***M. audouinii*** και ***T. violaceum*** έχουν υψηλή ενδημικότητα σε Αφρική με ποικίλα % απομόνωσης ανάλογα με την περιοχή και αναφορά **εισαγόμενων περιστατικών** σε Β. Αμερική και Ευρώπη.
- Σε κάποιες περιοχές της Ασίας (Ιράν, Ν. και Δ. Κίνα) απομονώνονται συχνά ***T. violaceum*** & ***T. schoenleinii***

20/03/2022

Συνοψίζοντας:

- *T. rubrum* είναι το συχνότερο ακολουθούμενο από *T. mentagrophytes/T. interdigitale* complex
- *M. canis*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *E. floccosum*, *M. audouinii*, κλπ, ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή.
- **Αλλαγή επιδημιολογίας** από *T. rubrum* σε *T. mentagrophytes* σε κάποιες περιοχές, όπως Ινδία, Ιράν και Αυστραλία



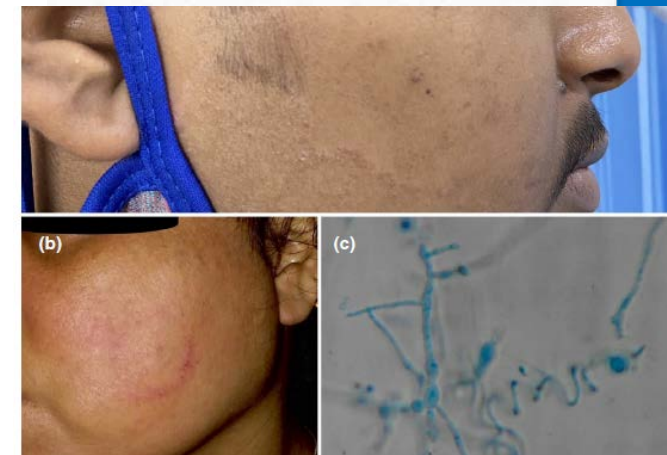
Tinea pedis



Tinea corporis

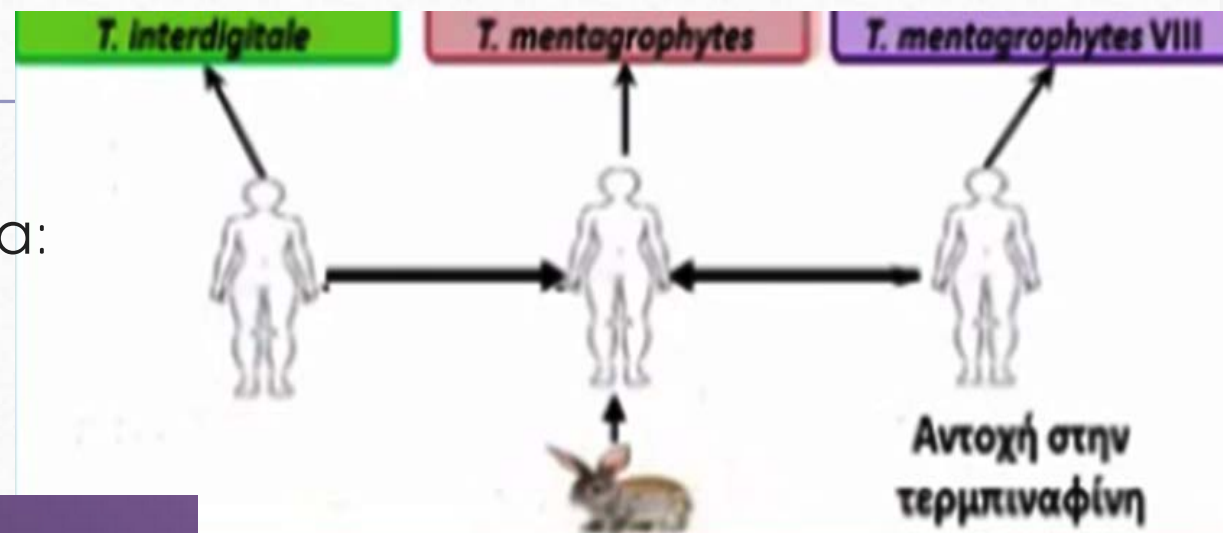
“Mask tinea”: δερματοφυτία προσώπου σχετιζόμενη με χρήση μάσκας

Patient	Age, years/sex	Fungal culture	Location of tinea on face	Mean duration of mask use per day, h	Tinea lesions elsewhere in the body	Mean duration between washing masks, days	Family history of tinea	Sharing of mask among family members	Concurrent disease/medication
1	50/M	<i>Trichophyton rubrum</i>	Above left nasolabial fold	8–10	Tinea corporis, cruris and unguium (toe)	7	Yes	No	Type 2 DM, uncontrolled/ insulin
2	35/F	<i>T. rubrum</i>	Neck region	6	No	7	Yes	Yes	Type 2 DM, controlled/ metformin
3	30/M	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Right cheek	8	Tinea cruris	3–4	No	No	–
4	40/F	<i>T. mentagrophytes</i>	Left cheek	6–8	No	5	Yes	Yes	Type 2 DM, controlled/ metformin
5	25/M	<i>T. mentagrophytes</i>	Left cheek	8–10	Tinea cruris, corporis and unguium (finger)	5–7	Yes	Yes	–
6	43/M	<i>T. rubrum</i>	Right cheek	6–8	Tinea cruris	10	No	No	–
7	18/F	<i>T. mentagrophytes</i>	Right cheek	6	Tinea cruris	7	No	No	–



Ινδία: από *T. rubrum* → *T. mentagrophytes*

- Εκτεταμένη χρήση τοπικών αντιμυκητικών με κορτιζόνη στην Ινδία:
↑ **περιστατικών δερματοφυτιών** από *Trichophyton mentagrophytes* (recalcitrant dermatophytosis)



CORRESPONDENCE | VOLUME 18, ISSUE 3, P250-251, MARCH 01, 2018

Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India

Anuradha Bishnoi • Keshavamurthy Vinay ✉ • Sunil Dogra

Published: March, 2018 • DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30079-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30079-3)

‘tinea has become an Indian Frankenstein's monster’



Τέρας Frankenstein

Emergence of “resistance” / “recalcitrant” dermatophytosis in India

- ✓ Tinea corporis with large plaques
- ✓ The large plaques show pseudoimbricatus changes (ie, multiple concentric rings and **advancing borders with persisting central disease**, whereas tinea corporis traditionally clears in the centre and advances at the border, which is almost universally singular).
- ✓ Also visible are the plaques of tinea cruris extending on the lower abdomen and cutaneous adverse effects due to the use of topical corticosteroids, including purplish atrophic striae, mild gynaecomastia, and cushingoid habitus.



Αντοχή στην τερμπιναφίνη *T. mentagrophytes* / *T. interdigitale* complex



Mycoses

Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases

- Μελέτη 3 κέντρων



Journal of
Fungi



Article

**Spread of Terbinafine-Resistant
Trichophyton mentagrophytes Type VIII (India) in
Germany—“The Tip of the Iceberg?”**

Αντοχή στην τερμπιναφίνη *T. mentagrophytes* / *T. interdigitale* complex



Mycoses

Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases

ORIGINAL ARTICLE

High terbinafine resistance in *Trichophyton interdigitale* isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene

Ashutosh Singh, Aradhana Masih, Ananta Khurana, Pradeep Kumar Singh, Meenakshi Gupta, Ferry Hagen, Jacques F. Meis, Anuradha Chowdhary ✉

First published: 25 March 2018 | <https://doi.org/10.1111/myc.12772> | Citations: 101

- Μελέτη 3 κέντρων
- 20/63 (32%)

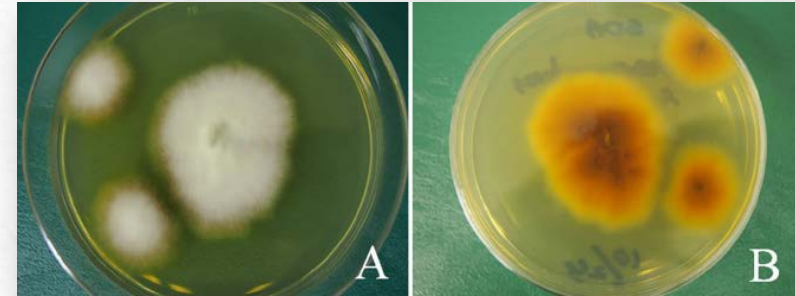
T. interdigitale R

(MICs 4- \rightarrow =32 mg/L)

T. mentagrophytes ITS Type VIII



T. indotineae



Mycopathologia

<https://doi.org/10.1007/s11046-020-00455-8>

2020

ORIGINAL ARTICLE

Trichophyton indotineae sp. nov.: A New Highly Terbinafine-Resistant Anthropophilic Dermatophyte Species

Rui Kano · Utako Kimura · Maki Kakurai · Junichiro Hiruma · Hiroshi Kamata · Yasushi Suga · Kazutoshi Harada

The species epithet “indotineae” refers to dermatophytosis in the country of India, where this species was epidemic.

- To avoid confusion in the taxonomy of the *T. mentagrophytes*/*T. interdigitale* complex, we suggest that the highly TRF-resistant Indian strains be considered a new species independent of *T. interdigitale* according to clinical and mycological features.

Η επιδημιολογία των δερματοφύτων χαρακτηρίζεται από μεταβολές κατά την πάροδο των χρόνων

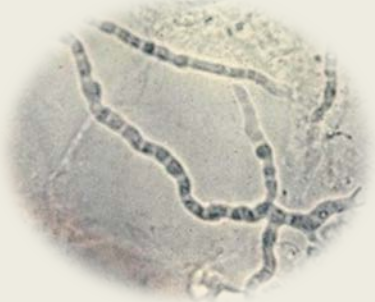
- **Βρίσκεται σε δυναμική σχέση με παράγοντες όπως :**

- οι μετακινήσεις των πληθυσμών
- το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο των ατόμων
- οι συνήθειες ατομικής υγιεινής
- οι ενδοκρινικές διαταραχές
- η ανοσοκαταστολή και η ευρεία χρήση χημειοθεραπευτικών
- η ενασχόληση με τις διάφορες μορφές αθλητισμού
- η εμφάνιση νέων μεθόδων προσδιορισμού του γενετικού προφίλ των ειδών των δερματοφύτων που προσδιορίζει την πηγή λοίμωξης και την γεωγραφική εξάπλωση

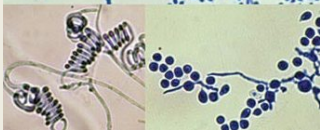
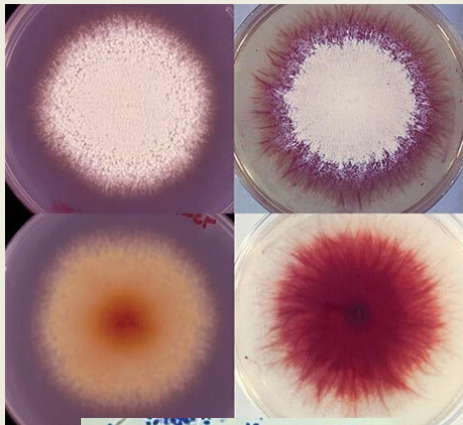
Ανίχνευση και ταυτοποίηση Δερματοφύτων



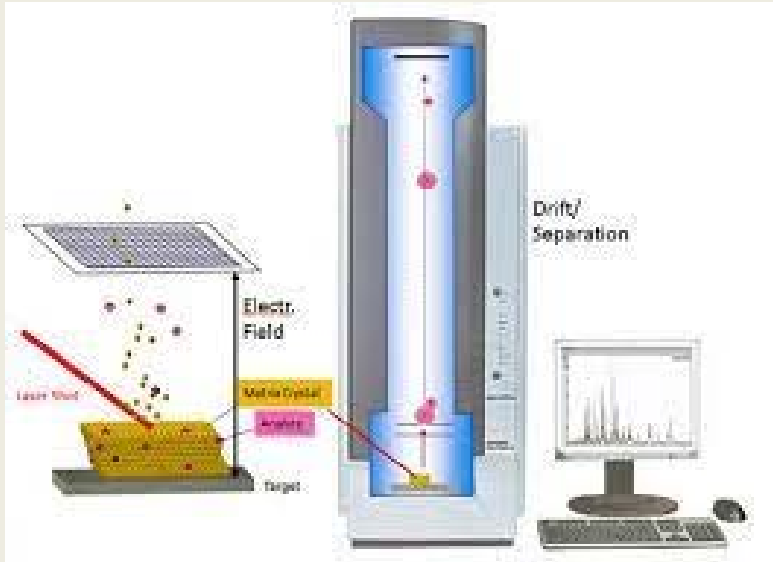
Άμεση μικροσκοπική



Καλλιέργεια



Maldi-ToF MS



Συλλογή δείγματος: Ψιλό δέρμα και βλεννογόνοι

- **Λήψη δείγματος** με τη βοήθεια αντικειμενοφόρου πλάκας ή μαχαιριδίου ή βαμβακοφόρου στυλεού από την **περιφέρεια της βλάβης**

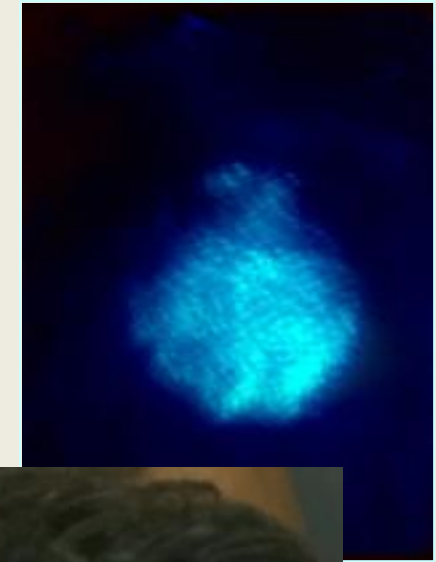


- **Συλλογή δείγματος** σε τρυβλίο $\delta = 5\text{cm}$, ή αντικειμενοφόρο πλάκα ή χαρτί σκούρου χρώματος



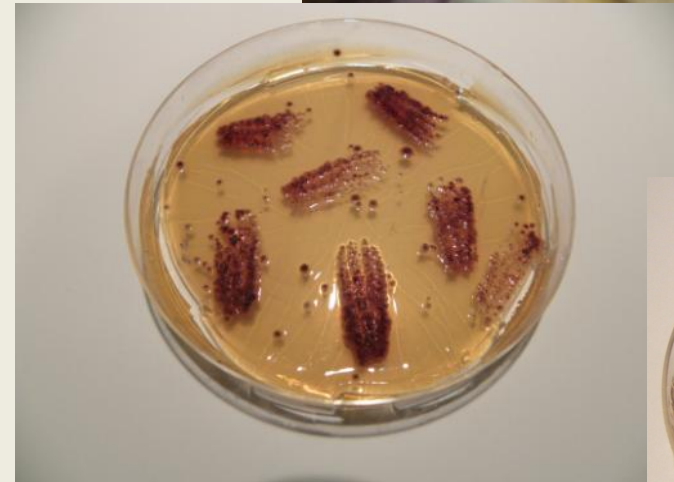
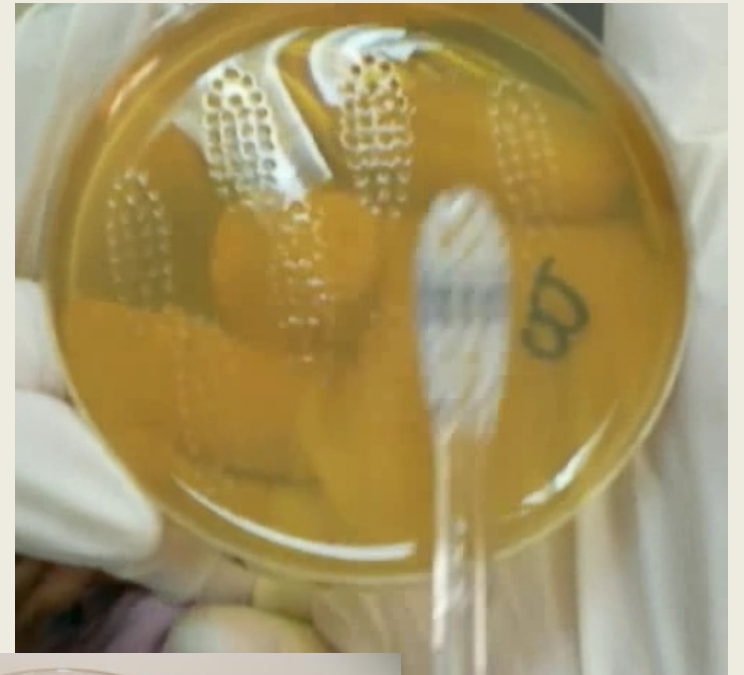
Συλλογή δείγματος: τριχωτό κεφαλής

- Καθαρισμός της αλλοίωσης με οινόπνευμα
- Εξέταση των τριχών στο φως της λυχνίας Wood
- Λέπια, τρίχες, περιεχόμενο θυλάκων με ανατομικό μαχαιρίδιο και λαβίδα
- Πύον με βαμβακοφόρο στυλεό ή γάζα από το στόμιο των τριχοσηγηματογόνων θυλάκων
- Χρήση βούρτσας - οδοντόβουρτσας
- Συλλογή σε **αντικειμενοφόρο** πλάκα – **όχι τρυβλίο**



Ασυμπτωματικοί φορείς (τριχωτό κεφαλής)

- Λήψη δείγματος για **καλλιέργεια** με τη χρήση πλαστικής βούρτσας
 - ο στατικός ηλεκτρισμός διευκολύνει την προσκόλληση στοιχείων του μύκητα
- Απευθείας εμβολιασμός στα θρεπτικά υλικά
- Δυνατή η χρήση οδοντόβουρτσας, cytobrush ή και στυλεού
 - ο συνδυασμός όλων δίνει τη διάγνωση





Νύχια

- **Τρίματα** από το υπωνύχιο στο όριο μεταξύ υγιούς και προσβεβλημένου τμήματος του νυχιού με ανατομικό μαχαιρίδιο μετά από καθαρισμό με 70% οινόπνευμα
- **Ξέσματα** από την επιφάνεια ή τμήμα του προσβεβλημένου νυχιού
- **Συλλογή** σε τρυβλίο ή/και με στυλεό με φυσιολογικό ορό



Παρωνύχιο

- Καλλιέργεια από το υλικό που συλλέγεται με την βοήθεια αποστειρωμένου στυλεού εμποτισμένου με φυσιολογικό ορό από την ερυθρηματώδη και οίδηματώδη ονυχιαία πτυχή



Μη αποδεκτός τρόπος συλλογής δείγματος

Ψιλό δέρμα

Λεπιδώδης αλλοίωση	Ξέσματα από το κέντρο της αλλοίωσης, διαβρωτικές περιοχές.
Φυσαλιδώδης αλλοίωση	Ξέσματα από τη βάση της φυσαλίδας και ορώδες υγρό.
Μεσοδακτύλια διαστήματα	Τμήματα ιστού από ρωγμές και διαβρώσεις.

Τριχωτό κεφαλής

	Ολόκληρες τρίχες ή τμήματα του ελεύθερου άκρου της τρίχας.
--	---

Νύχια

Πλάγια περιφερική ονυχομυκητίαση	Ξέσματα από την επιφάνεια της ονυχιαίας πλάκας και από το πλάγιο άκρο , διότι περιέχουν μη ενεργά στοιχεία του μύκητα και άφθονα σαπρόφυτα.
Λευκή επιπολής ονυχομυκητίαση	Τμήματα νυχιού
Εγγύς υπωνύχια ονυχομυκητίαση	Τμήματα νυχιού



Μικροσκόπηση

Διάγνωση

Κλασικές τεχνικές

Καλλιέργεια



Άμεση μικροσκοπική εξέταση

- **A. Διαύγαση με ΚΟΗ 20-30%** (διάλυση κερατίνης – ανέπαφα στοιχεία μυκητα)
- **B. Μικροσκόπηση:** αναζήτηση των μορφολογικών στοιχείων του μύκητα.
 - υφές με εγκάρσια διαφράγματα,
 - διάταξη και μέγεθος των σπορίων των δερματοφύτων όταν προσβάλλουν τη τρίχα
- **Η ευαισθησία της μεθόδου εξαρτάται από :**
 - το είδος του δείγματος
 - τον αριθμό μυκητικών στοιχείων στο παρασκεύασμα
 - την εμπειρία του μικροσκοπιστή



Μικροσκοπική εξέταση τρίχας

Εξωτριχικός παρασιτισμός *Ectothrix*

Ζωόφιλα

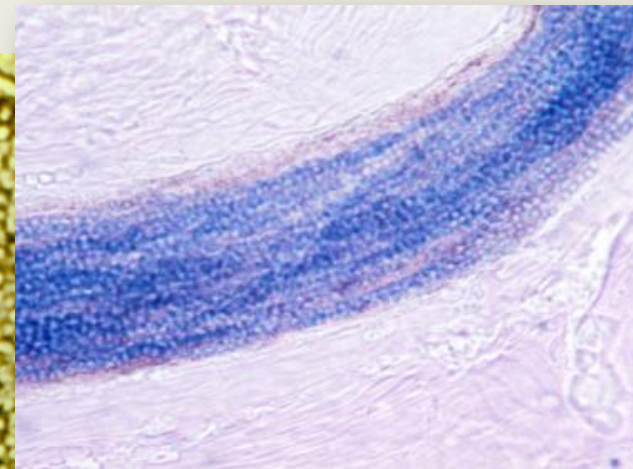
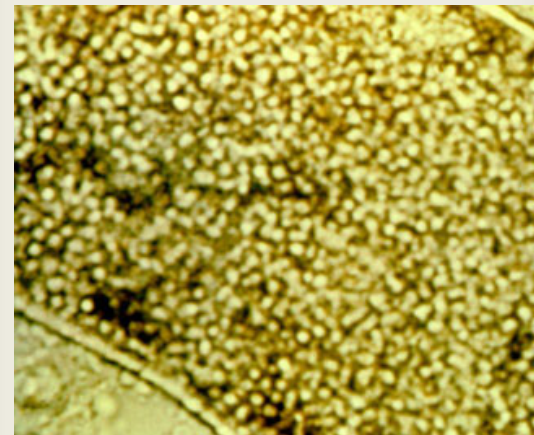
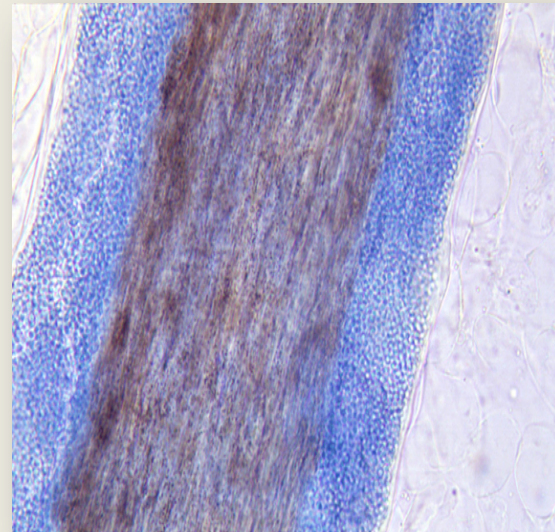
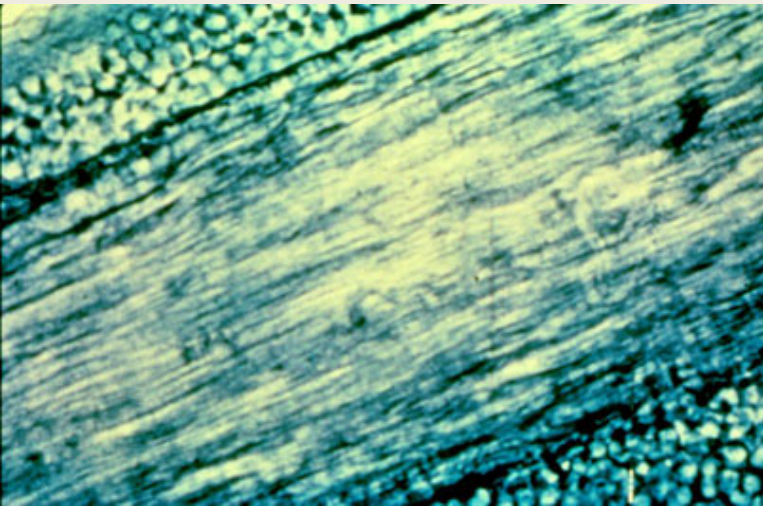
- *M. canis*,
- *T. verrucosum*



Ενδοτριχικός παρασιτισμός *Endothrix*

Ανθρωπόφιλα

- *T. tonsurans*,
- *T. violaceum*,
- *T. soudanense*



Καλλιέργεια

1. Θρεπτικά υλικά για την αρχική καλλιέργεια :

❖ Sabouraud Dextrose Agar 2% + αντιβιοτικά χλωραμφαινικόλη (0.05 gr/l) και κυκλοεξιμίδη (0.4gr/l)

❖ Dermatophyte test medium (SDA + ερυθρό της φαινόλης)

❖ Dixon agar

❖ ChromAgar

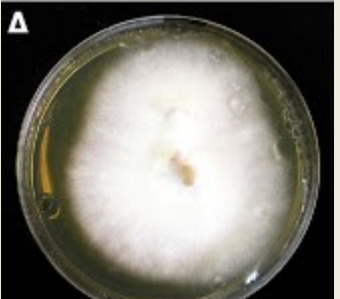
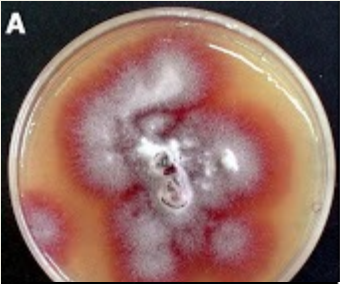
2. Θρεπτικά υλικά για σπορογονία

❖ Potato Dextrose Agar (PDA)

❖ Malt Extract Agar (MEA)

❖ Czapek Dox Agar (CZA)

- Εμβολιασμός σε τρυβλία Petri $\delta = 9\text{cm}$ ή σε σωληνάρια με χαλαρό πώμα (αερόβιος ανάπτυξη)
- Επώαση σε $26 - 28 \text{ }^\circ\text{C}$
- Χρόνος επώασης 7 - 25 ημέρες
- ⊙ Ελέγχουμε συχνά τις καλλιέργειες για την ανάπτυξη του παθογόνου μύκητα ή την επιμόλυνση από σαπροφυτικούς μύκητες
- ⊙ **Αρνητικές καλλιέργειες παραμένουν 3 - 4 εβδομάδες για επιβεβαίωση**



Ταυτοποίηση καλλιέργειας



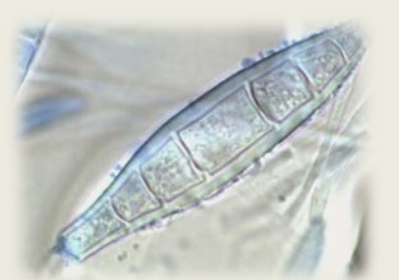
Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά:

- Παρατήρηση πρόσθιας και οπίσθιας επιφάνειας αποικίας
- Τη διάχυση της χρωστικής στο θρεπτικό υπόστρωμα
- Την επιφάνεια και την δομή της αποικίας



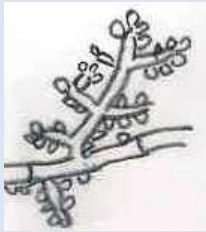



Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά:

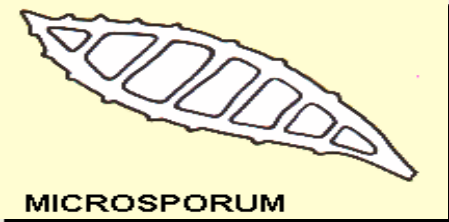
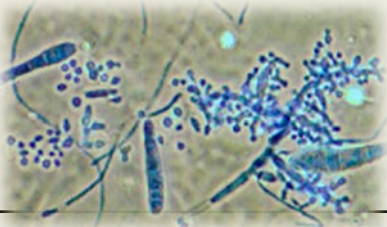
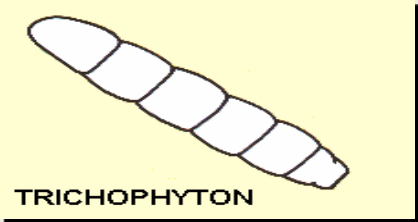
- Παρατήρηση τμήματος της αποικίας με κυανό της λακτοφαινόλης για τον εντοπισμό μακρο - και μικροκονιδίων
→ **νωπό παρασκεύασμα, σελοτέιπ**



Μικροσκοπική μορφολογία των συχνότερων δερματοφύτων

Γένη	Είδη	Χαρακτηριστικά
<p><i>Microsporum</i></p> 	<p><i>M. canis</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. nanum</i></p>	<p>Μακροκονίδια ατρακτοειδή με παχύ, τραχύ, ανώμαλο ή ακανθώδες τοίχωμα, πολυάριθμα. Μικροκονίδια σπάνια</p>
<p><i>Trichophyton</i></p> 	<p><i>T. megninii</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. rubrum</i> <i>T. terrestre</i></p>	<p>Μακροκονίδια κυλινδρικά με λεπτό και ομαλό τοίχωμα, σπάνια</p> <p>Μικροκονίδια άφθονα</p> 
<p><i>Epidermophyton</i></p> 	<p><i>E. floccosum</i></p>	<p>Μακροκονίδια ροπαλοειδή με λεπτό και ομαλό τοίχωμα. Δεν παράγονται μικροκονίδια.</p>
<p><i>Microsporum</i> spp. και <i>Trichophyton</i> spp. που δεν παράγουν κονίδια</p>	<p><i>M. audouinii</i> <i>M. ferrugineum</i> <i>T. concentricum</i> <i>T. schoenleinii</i> <i>T. soudanense</i> <i>T. verrucosum</i> <i>T. violaceum</i></p>	<p>Μακροκονίδια και μικροκονίδια σπάνια. Ορισμένα είδη παράγουν χαρακτηριστικές υφές.</p>

Χαρακτηριστικά γένους στα δερματούφυτα

Γένος	Μακροκονίδια	Μικροκονίδια
<i>Microsporum</i> 	Πολυάριθμα, με παχύ τοίχωμα  MICROSPORUM	Σπάνια 
<i>Trichophyton</i> 	Σπάνια, με λεπτό τοίχωμα  TRICHOPHYTON	Άφθονα 
<i>Epidermophyton</i> 	Πολυάριθμα, σε ομάδες  EPIDERMOPHYTON	Απουσιάζουν

Trichophyton

Microconidia: Abundant

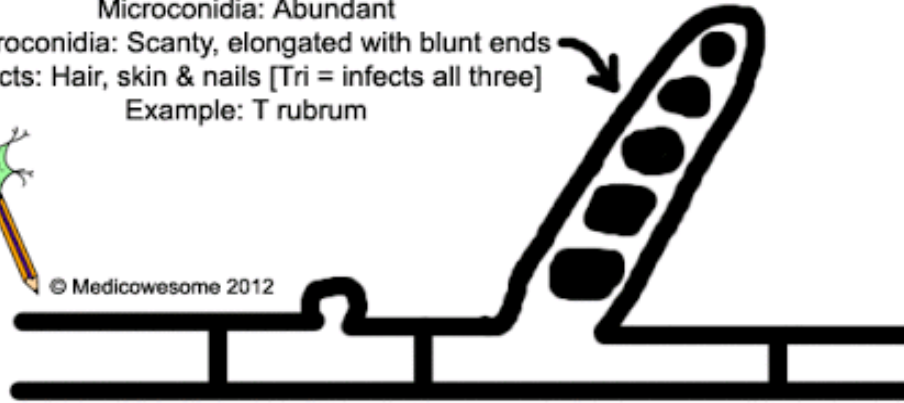
Macroconidia: Scanty, elongated with blunt ends

Infects: Hair, skin & nails [Tri = infects all three]

Example: T rubrum



© Medicowesome 2012



Microsporum

Microconidia: Scanty and not distinctive

Macroconidia: Large, multicellular, spindle shaped structures, born singly on ends of hyphae

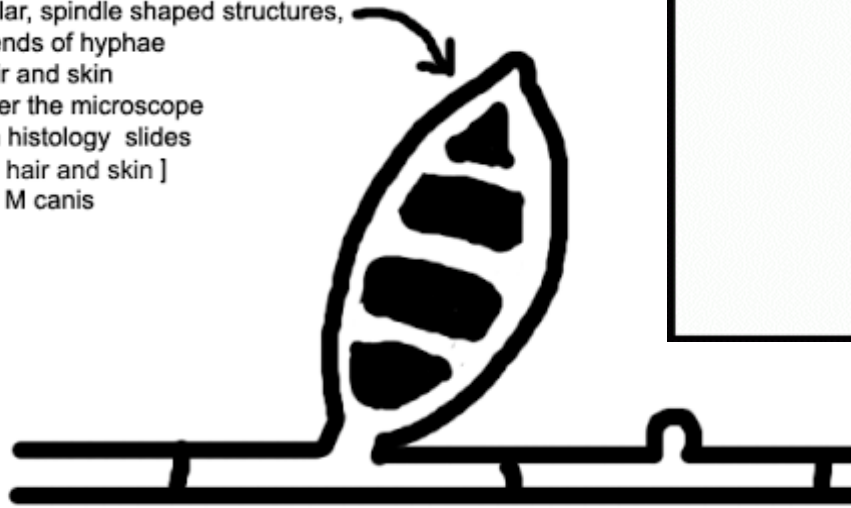
Infects: Hair and skin

[What you see under the microscope is hair and skin in histology slides so micro infects hair and skin]

Example: M canis



© Medicowesome 2012



Epidermophyton

Microconidia: Absent

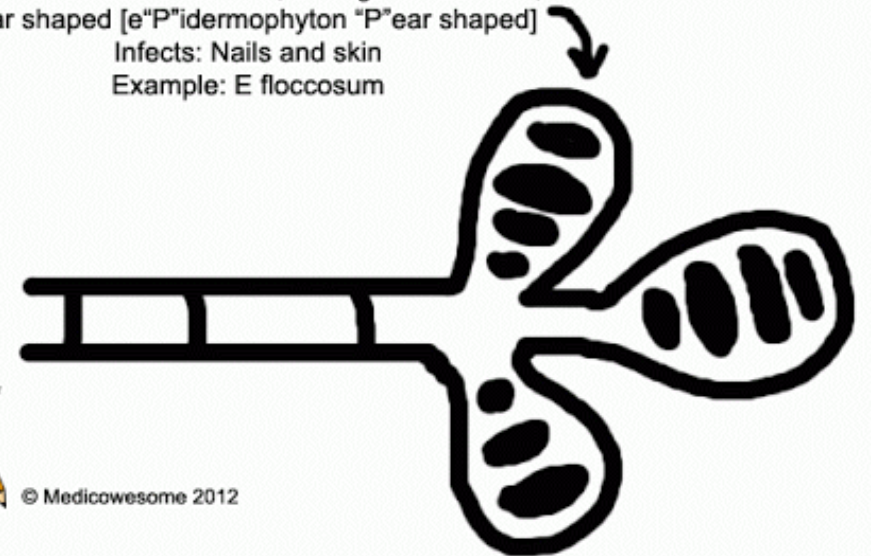
Macroconidia: Multicellular, arranged in clusters, pear shaped [e"P"idermophyton "P"ear shaped]

Infects: Nails and skin

Example: E floccosum



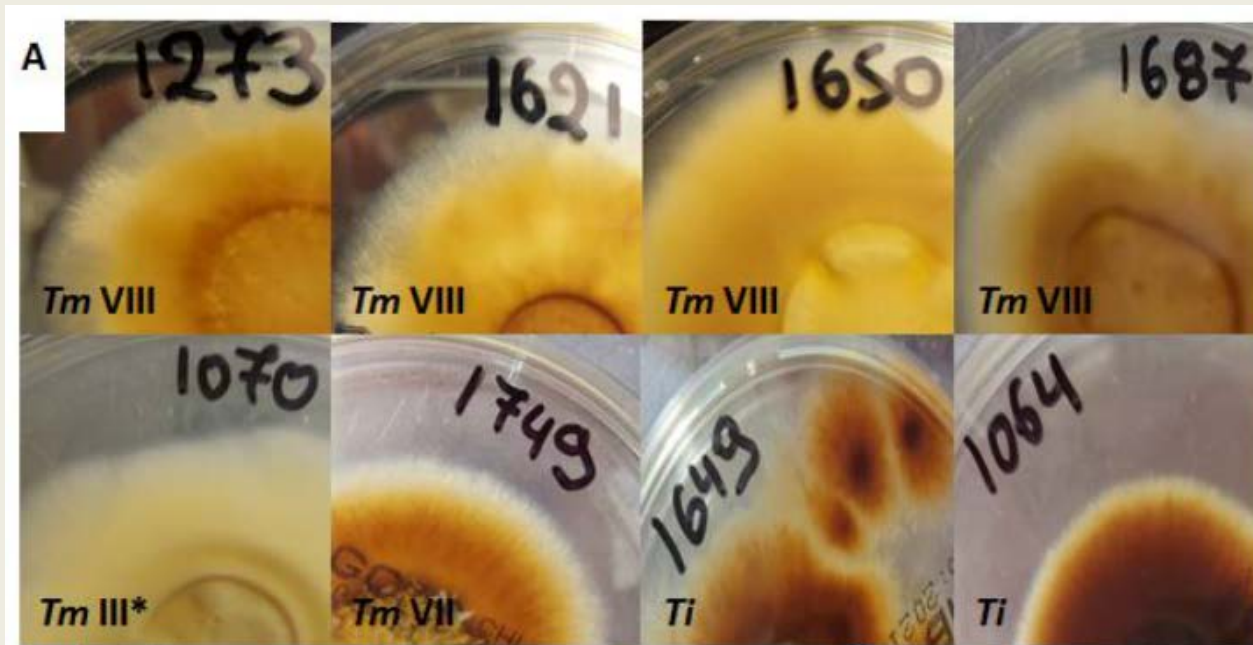
© Medicowesome 2012



T. indotineae

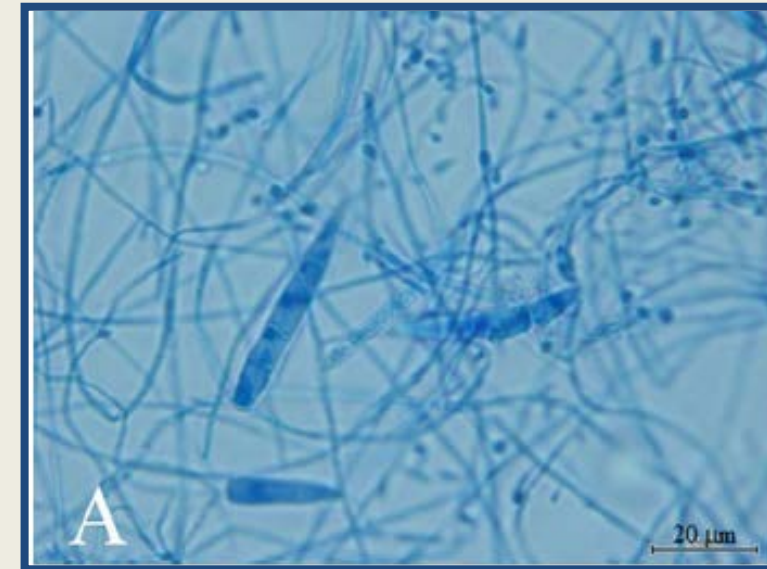
Μακροσκοπική μορφολογία αποικίας

- SDA: γρήγορη ανάπτυξη στους 24° C
- Αποικίες επίπεδες, λευκές, με επιφάνεια σαν "suede"
- Οπίσθια επιφάνεια: κίτρινη χρωστική



Siopi M., et al. *J Fungi (Basel)*. 2021;7:419

Μικροσκοπική εικόνα



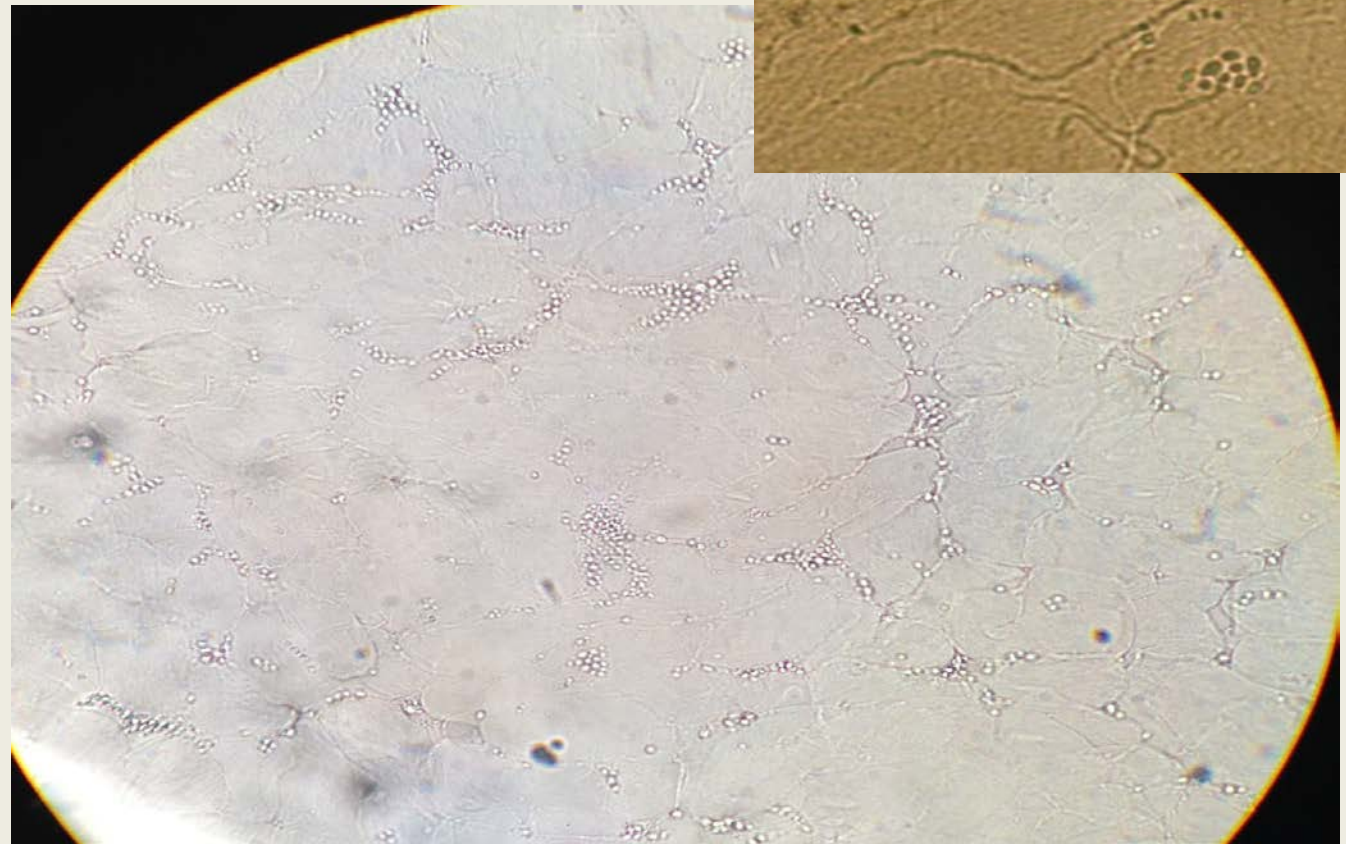
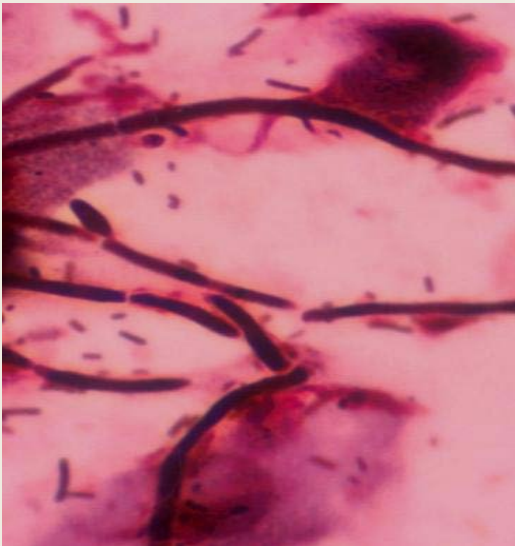
The reverse of the colonies of the majority of such isolates was yellowish pigmented *in contrast to* *T. interdigitale* and *T. mentagrophytes* of other ITS genotypes strains that showed **white cream** to **pale/dark brown** pigmentation

Μυκητιάσεις από *Candida* spp.

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει :

1. την άμεση μικροσκοπική εξέταση

- νωπό παρασκεύασμα λεπιών ή ξεσμάτων νυχιών από την δερματική βλάβη με την προσθήκη **20 – 30 % ΚΟΗ** ή
- χρώση των λεπίων



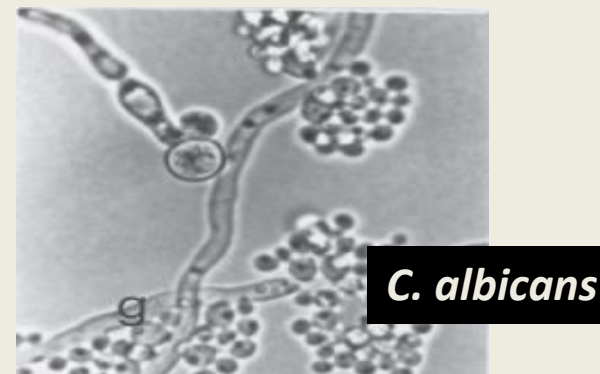
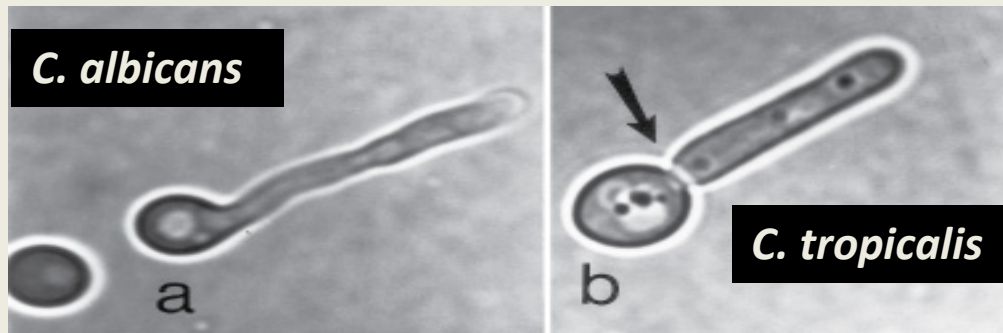
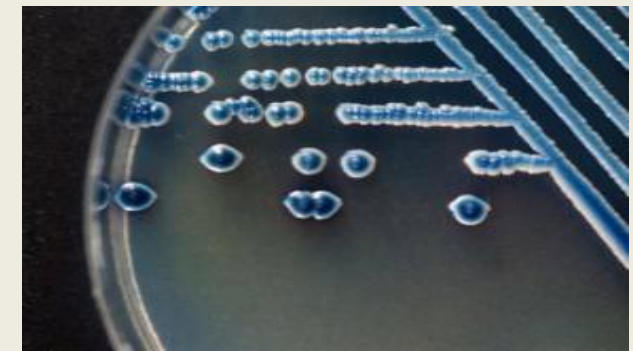
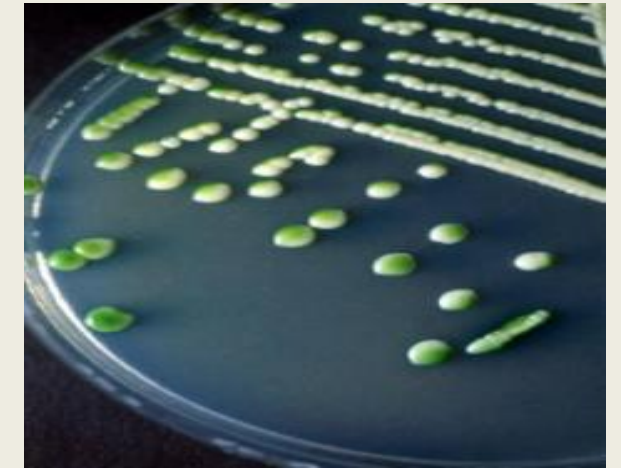
Μυκητιάσεις από *Candida spp.*

Ο εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει :

2. **την καλλιέργεια** σε κατάλληλα θρεπτικά υλικά όπως:

- Sabouraud dextrose agar 2%,
- Malt extract agar
- Επώαση στους 37° C για 1-2 εβδομάδες

3. **την ταυτοποίηση** του είδους της *Candida* – μορφολογία αποικιών, καλλιέργεια σε **Chromagar**, βιοχημικές ιδιότητες, παραγωγή χαρακτηριστικών **χλαμυδοσπορίων**, **δοκιμασία βλαστικού σωλήνα**



Μη δερματοφυτικοί μύκητες

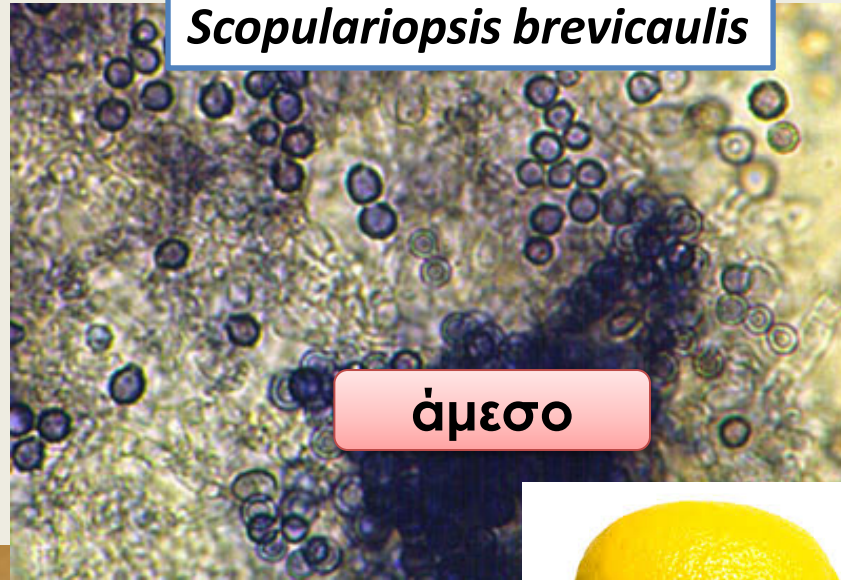
- Προκαλούν εκζεματοειδείς βλάβες, χρόνιες ερυθηματώδεις, θηλώδεις ή οξείες διηθητικές
- Προσβολή δέρματος, νυχιών, μεσοδακτυλίων πτυχών, έξω ακουστικού πόρου
- **Αιτιολογικοί παράγοντες:**
 - *Scopulariopsis brevicaulis*
 - *Fusarium* spp.
 - *Aspergillus* spp. Ονυχομυκητίαση (λευκή και πλάγια-περιφερική)
 - *Acremonium* spp. (λευκή ονυχία)
 - *Alternaria* spp.

Μη δερματοφυτικοί μύκητες

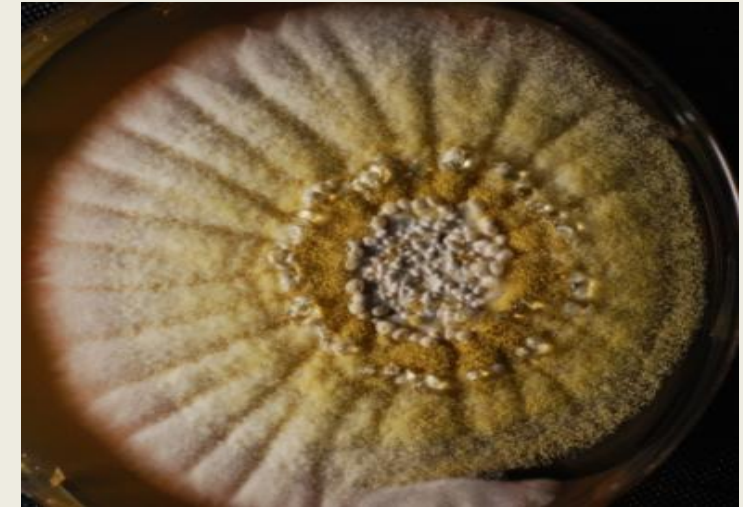
Alternaria



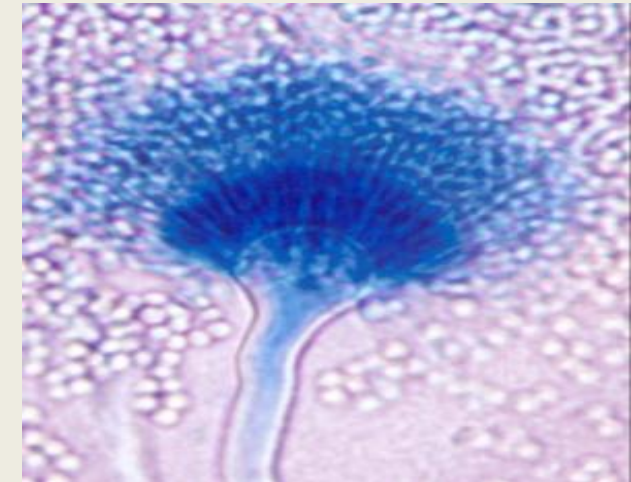
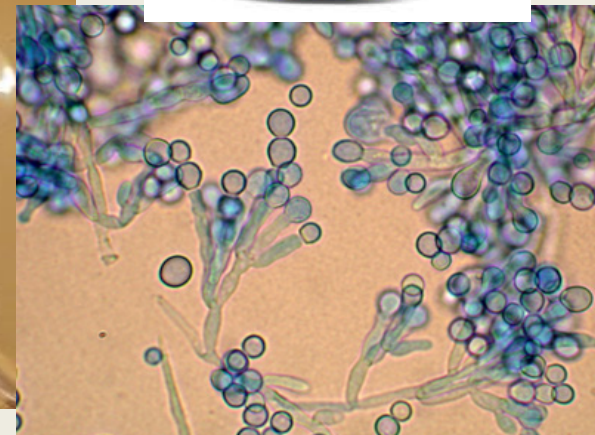
Scopulariopsis brevicaulis



άμεσο

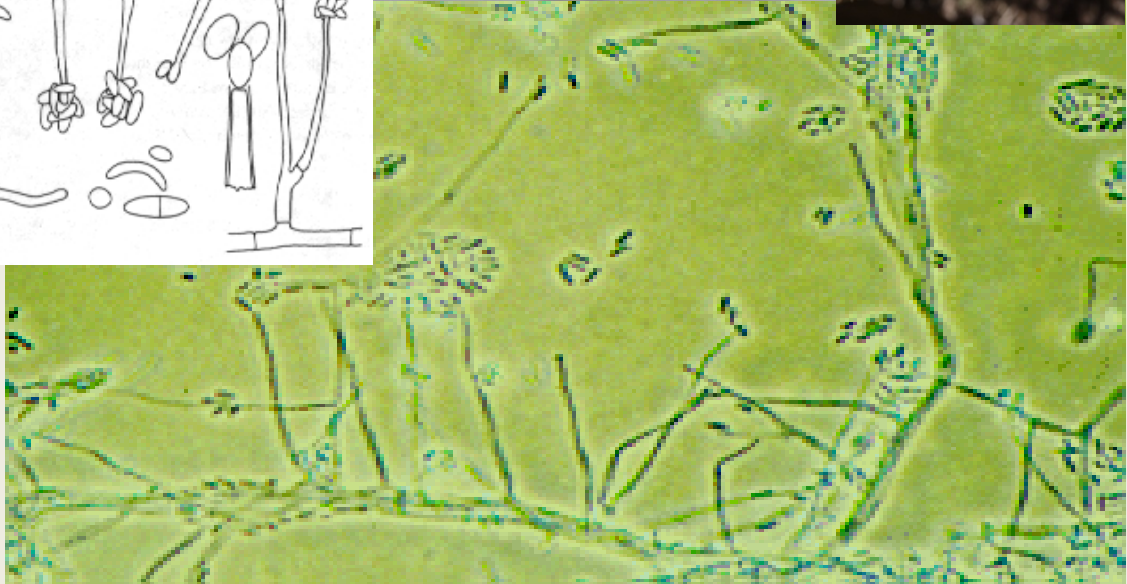
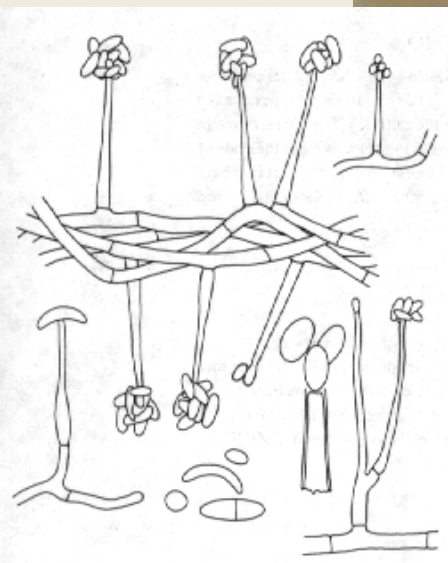
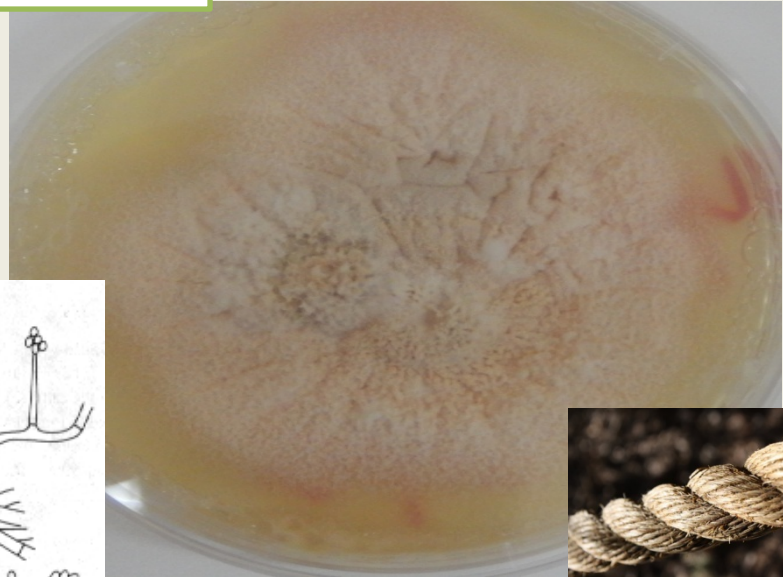


Aspergillus terreus

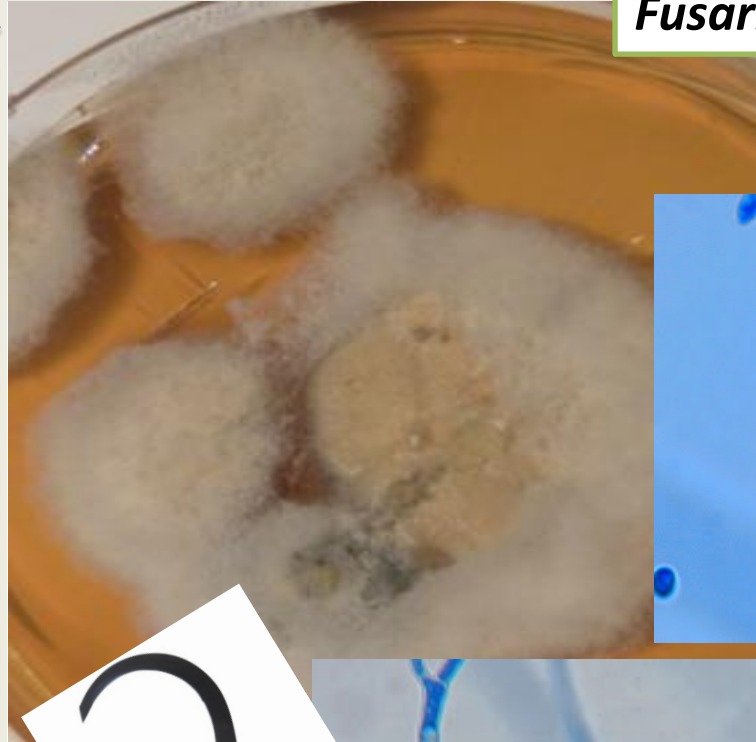


Μη δερματοφυτικοί μύκητες

Acremonium spp



Fusarium spp



Arrows point to tips of phialides where microconidia are produced and accumulate



Αντί συμπερασμάτων

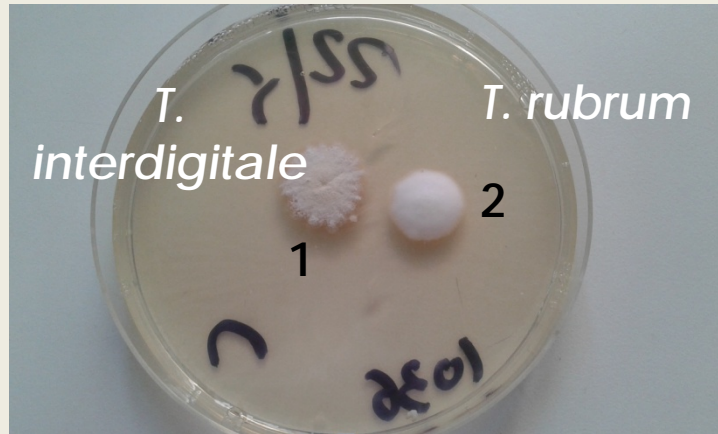


- Οι μη δερματοφυτικοί δίνουν θετικό άμεσο ?
 - υφές με διαφραγμάτια
- **Μπορεί κάποια είδη όπως:**
 - *A. niger* (κονίδια μαύρα + ευρείες Υ)
 - *A. candidus*
 - *Acremonium* (λεπτές, φυλοειδείς Υ)
 - *Fusarium* (ευρείες υφές)

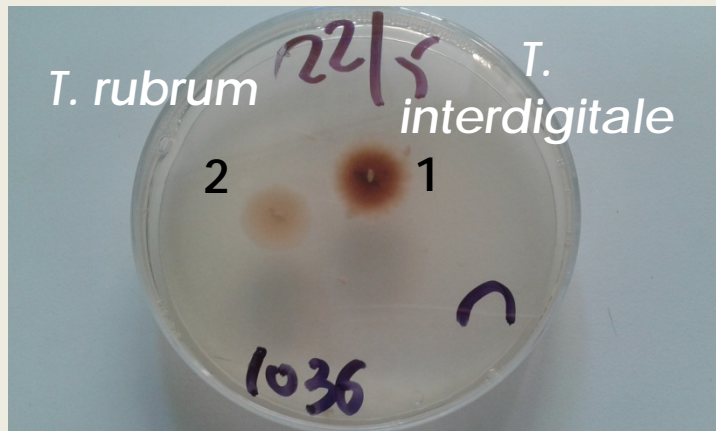


- Μπορεί λοίμωξη από 2 είδη *Trichophyton* ?

πρόσθια



οπίσθια

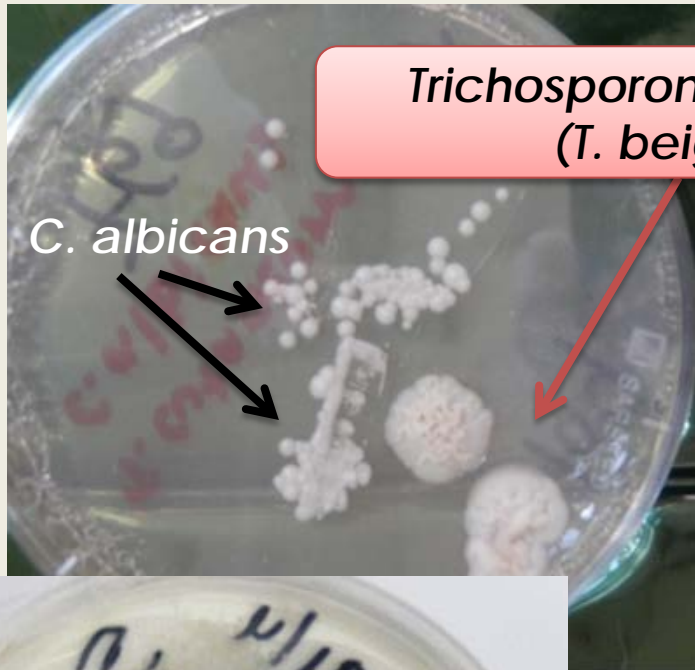


- Αν *T. rubrum* στα νύχια χεριών αναζητείστε και στα των ποδιών

- Υπερ-ανάπτυξη άλλων (π.χ. βακτηρίων) μπορεί να καλύψουν το παθογόνο → **καλός καθαρισμός (νύχια)**
- Αξιολόγηση αν *Pseudomonas* (νύχια)

Διάκριση ζυμομυκήτων

Useful Tips



Trichosporon cutaneum
(*T. beigeli*)

C. albicans

- Διάκριση από *Trichophyton* spp.
 - Καλλιέργεια και μικροσκοπική

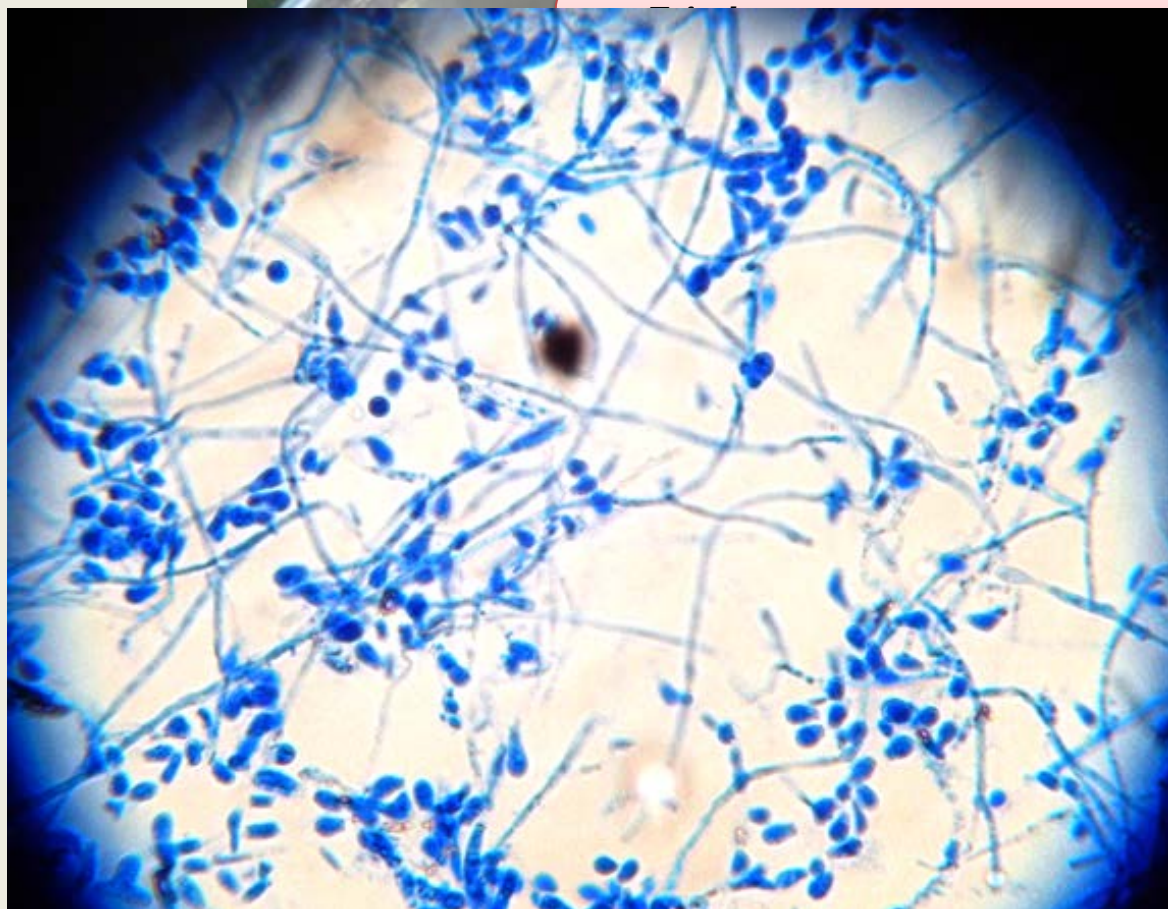
Chrysosporium spp.



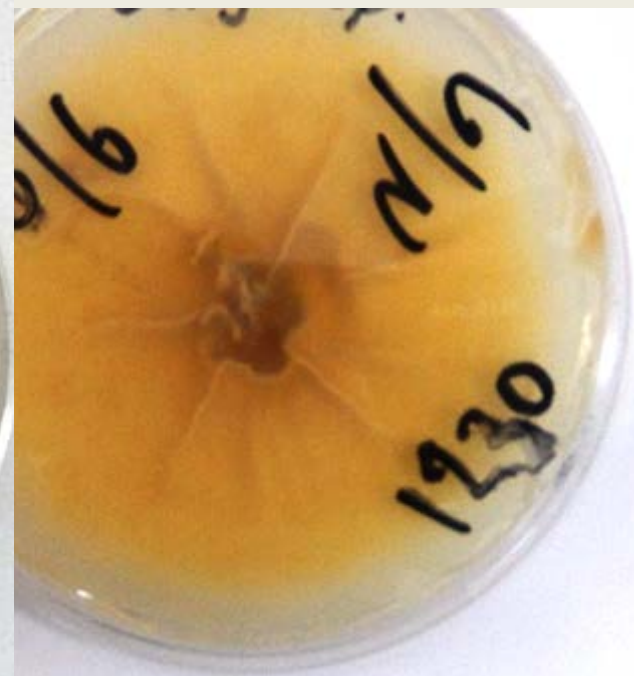
Διάκριση ζυμομυκήτων

Useful Tips

- Διάκριση από *Trichophyton* spp.
 - Καλλιέργεια και μικροσκοπική



Chrysosporium spp.



Συμπεράσματα

“Take home messages”

- Λήψη καλού ιστορικού
- Προσοχή στη συλλογή “καλού” κλινικού δείγματος
- Απαραίτητη η άμεση μικροσκοπική εξέταση
- Η καλλιέργεια πρέπει να γίνεται στις σωστές συνθήκες
- **Παρακολούθηση** και **καταγραφή** της δυναμικής των επιδημιολογικών δεδομένων εγγυάται **την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών μέσων**
- Η **αναδυόμενη αντοχή** των δερματοφύτων στα αντιμυκητικά και η ταχεία διασπορά στην τερμπιναφίνη ανθεκτικών στελεχών **απαιτούν εγρήγορση**
- Αναγκαιότητα για **προσιτές** και **άμεσα διαθέσιμες μεθόδους** για ταυτοποίηση **και** ανίχνευση της αντοχής