

2. Streszczenie

Infekcje grzybicze skóry, włosów i paznokci u ludzi i zwierząt są jednymi z najczęściej diagnozowanych chorób zakaźnych na świecie, których monitorowanie i zwalczanie stwarza duże obciążenie ekonomiczne. Czynniki etiologiczne większości tych infekcji są dermatofity. Prewalencja dermatofitoz wzrosła w ostatnich dziesięcioleciach do takiego poziomu, że dotyczą obecnie ponad 20-25% światowej populacji. Wysoka częstotliwość zakażeń wywoływanych przez dermatofity spowodowana jest ich łatwą transmisją na inne gatunki niż pierwotny gospodarz, a szczególnie predysponowany do infekcji jest człowiek. Doniesienia naukowe podają, że symptomatyczne dermatofitozy pojawiają się u człowieka, gdy ten sam czynnik etiologiczny występuje u zwierzęcia jedynie asymptomatycznie, czyniąc je nosicielem. Stąd monitoring występowania dermatofitów w stadach zwierząt, ocena stopnia ich zjadliwości i określanie lekowrażliwości powinny być wykonywane rutynowo. Celem podjętych badań była kompleksowa charakterystyka metod diagnostyki dermatofitoz i identyfikacji gatunkowej patogenów wraz z analizą epidemiologiczną oraz ocena stopnia zjadliwości i aktywności przeciwgrzybiczej *in vitro* antymykotyków wobec izolatów *Trichophyton mentagrophytes* i *Trichophyton verrucosum* zebranych w różnych krajach Europy od zwierząt oraz z przypadków zoonoz.

Obecny trend w diagnostyce mykologicznej podąża w kierunku wykorzystywania w identyfikacji dermatofitów badań molekularnych, przede wszystkim bazujących na analizie sekwencji ITS (ang. Internal Transcribed Spacer), poprzedzonych skrupulatnymi badaniami morfologicznymi, uzyskaniem hodowli oraz ocenie makro- i mikromorfologii. W badaniach wykazano, że metoda qPCR ze starterami specyficznymi grupowo umożliwiła detekcję dermatofitów w próbkach z 10,84% (45% vs. 34,17%) wyższą wydajnością niż bezpośrednia analiza w mikroskopie świetlnym. Ponadto zgodność dodatniego wyniku qPCR z uzyskaniem hodowli była o 10,98% (50% vs. 39,02%) wyższa dla tej metody niż dla badania mikroskopowego.

Inne zagadnienie związane z dermatofitami dotyczy ich stopnia zjadliwości, który zależy w dużej mierze od zdolności do wytwarzania enzymów. W przeprowadzonych badaniach ujawniono, że aktywność enzymatyczna jest zróżnicowana w zależności od gospodarza i rodzaju powodowanej infekcji. W przypadkach związanych z człowiekiem zanotowano wyższą aktywność elastazy i bardziej wyrażoną hemolizę. Z kolei aktywność

keratynaz była niższa u szczepów pochodzących od zwierząt o statusie nosicieli. Prawdopodobnie istnieje związek między aktywnością enzymatyczną, a powinowactwem dermatofitów do specyficznych gatunkowo keratynocytów. Ponadto zwiększenie stężenia keratynaz w hodowli nie korelowało dodatnio z wyższą intensywnością naturalnej degradacji keratyny. Potwierdza to fakt, że kluczową rolę w zjadliwości odgrywa predyspozycja enzymów wynikająca z adaptacji grzyba do naturalnego żywiciela. Jednymi z ważniejszych enzymów odpowiadającymi za rozkład keratyny są proteazy serynowe (subtylizyny). W literaturze opisano 7 genów kodujących te enzymy (*SUB1-SUB7*). W analizie z wykorzystaniem multipleksowego PCR wykazano, że stopień patogenności dermatofitów nie jest związany z obecnością w genomie konkretnych genów subtylizyn, ale z ich akumulacją i synergicznym działaniem ich produktów. Ponadto izolaty uzyskane od ludzi posiadały najszerszy profil genów subtylizyn o statystycznie istotnie wyższym odsetku ampikonów genów *SUB3*, *SUB4* i *SUB7*.

Określanie lekowrażliwości *in vitro* szczepów klinicznych dermatofitów stanowi obecnie jedno z najistotniejszych wyzwań środowiska mykologów. W badaniach przeprowadzonych na szerokiej puli szczepów *T. mentagrophytes* pochodzących od zakażonych ludzi i zwierząt oraz bezobjawowych nosicieli wykazano wysoki wskaźnik oporności na terbinafinę, wynoszący około 14%. Interesujące było odnotowanie oporności u szczepów pochodzących od zwierząt bezobjawowych. Może to sugerować, że oporność na terbinafinę nie jest nabywana przez ekspozycję na lek ale wrodzona. Ujawniono ponadto, że szczepy odporne posiadały mutacje zmiany sensu w genie epoksydazy skwalenowej, odpowiadające temu samemu podstawieniu aminokwasowemu Leu393Phe w enzymie.

Podsumowując, dermatofitozy od dawna uważane są za kłopotliwe choroby zwierząt i ludzi. Trudności diagnostyczne, niejednoznaczna epidemiologia, narastająca zjadliwość patogenów i ich lekooporność stanowią obecne wyzwania dla mykologów i lekarzy. Niewątpliwie prawidłowe rozpoznaniu oraz właściwy dobór terapii są kluczowe dla eliminacji źródeł zakażenia, które stanowią potencjalne ogniska dermatofitoz. W tym zakresie współpraca diagnostów laboratoryjnych, dermatologów i lekarzy weterynarii wydaje się niezbędna.