

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO  
BIOMEDICINOS MOKSLŲ INSTITUTO  
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR  
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**DERMATOFITIJŲ SUKĖLĖJŲ PAPLITIMAS IR LABORATORINĖS DIAGNOSTIKOS  
METODŲ TAIKYMAS**

Magistrantas JONAS ŽVIRGŽDAS \_\_\_\_\_  
(parašas)

Darbo vadovė

Asist., dr. Silvija Kiverytė

\_\_\_\_\_  
(parašas)

Darbo konsultantas :

Dr. Algimantas Paškevičius

\_\_\_\_\_  
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir  
laboratorinės medicinos katedros vedėja

Doc. dr., Dovilė Karčiauskaitė

leidžiama ginti \_\_\_\_\_  
(parašas)

Darbo įteikimo data \_\_\_\_\_

Registracijos Nr. \_\_\_\_\_

2019 m., Vilnius

## TURINYS

<b>ĮVADAS</b> .....	5
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA</b> .....	7
1.1. Grybų sukeltos infekcijos .....	7
1.1.1. Onichomikozė .....	7
1.1.2. Dermatofitija .....	11
1.1.3. Infekcijos plitimo būdai .....	12
1.1.4. Simptomai ir pasireiškimo formos .....	12
1.1.5. Rizikos veiksniai .....	14
1.2. Grybinių odos ir jos darinių infekcijų paplitimas pasaulyje .....	14
1.3. Grybinių odos ir jos darinių infekcijų paplitimas Lietuvoje .....	19
1.4. Dažniausi grybinių odos ir jos darinių infekcijų sukėlėjai .....	20
1.4.1. Dermatofitai .....	20
1.4.1.1. <i>Trichophyton</i> gentis .....	20
1.4.1.2. <i>Microsporum</i> gentis .....	21
1.4.2. Ne dermatofitų rūšys .....	22
1.4.2.1. <i>Aspergillus</i> gentis .....	22
1.4.2.2. <i>Fusarium</i> gentis .....	23
1.4.3. Į mieliagrybius panašūs grybai.....	24
1.4.3.1. <i>Candida</i> gentis .....	24
1.4.3.2. <i>Pichia</i> gentis .....	25
1.4.3.3. <i>Clavispora</i> gentis. <i>Clavispora lusitaniae</i> .....	25
1.4.3.4. <i>Meyerozyma</i> gentis. <i>Meyerozyma guilliermondii</i> .....	26
1.4.3.5. <i>Trichosporon</i> gentis .....	26
1.4.3.6. <i>Rhodotorula</i> gentis .....	26
1.4.3.7. <i>Scopulariopsis</i> gentis .....	27
<b>2. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI</b> .....	28
2.3. Išaugintų grybų kultūrų identifikavimo metodai .....	40
2.3.1. Identifikavimas remiantis morfologinėmis grybų rūšių savybėmis .....	40
2.3.4. Microflex masių spektrometras .....	43
2.3.4.1. Mėginių ruošimas ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodu .....	49
2.3.4.2. MALDI-TOF rezultatų interpretavimas ir tolesnė tyrimo eiga .....	50
2.3.5. <i>Candida</i> genties grybų identifikavimas naudojant cromogeninį <i>Candida</i> agarą .....	51

2.4. Jautrumo priešgrybiniams vaistams nustatymo metodai .....	52
<b>3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....</b>	<b>55</b>
3.1. Retrospektyvinės analizės rezultatai .....	55
3.2. Mikrobiologinio pasėlio ir mikroskopinio tyrimo palyginimas.....	65
3.3. Mieliagrybių jautrumo priešgrybiniams vaistams palyginimas.....	65
3.4. Mieliagrybių jautrumas priešgrybiniams vaistams ir jo interpretacija .....	68
3.5. Jautrumo priešgrybiniams vaistams nustatymo metodų palyginimas.....	71
3.6. Tirtų grybų kultūrų identifikavimo tiesioginio perkėlimo bei ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodų palyginimas.....	72
3.7. Tyrimo rezultatų aptarimas .....	75
<b>IŠVADOS.....</b>	<b>80</b>
<b>SANTRAUKA .....</b>	<b>81</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>82</b>
<b>PADĖKA.....</b>	<b>83</b>
<b>LITERATUROS SĄRAŠAS .....</b>	<b>84</b>
<b>1 PRIEDAS .....</b>	<b>90</b>
<b>2 PRIEDAS .....</b>	<b>91</b>

## SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

JAV – Jungtinės Amerikos Valstijos.

VUL SK – Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos.

AIDS – *Acquired Immune Deficiency Syndrome* – Įgytas imuninio nepakankamumo (deficito) sindromas.

DDM – diskų difuzijos metodas.

MSK – minimali slopinanti koncentracija.

KOH – kalio hidroksidas.

EUCAST – *European Commitee on Antimicrobial Susceptibility Testing* – Europos antimikrobinio jautrumo tyrimo komitetas

CLSI – *Clinical & Laboratory Standards Institute* – Klinikinių ir laboratorinių standartų institutas.

AUC – *Area Under the Curve* – plotas po kreive.

CI – *Confidence Interval* – Pasikliautinis intervalas.

ROC curve – *Receiver Operating Characteristic curve* – Sprendimus priimančiojo ypatybių kreivė.

MALDI-TOF – *Matrix-assisted laser desorption / ionisation – time-of-flight Mass spectrometry* – ant matricos vykstanti, lazerio spinduliuote sužadinta jonizacija ir lėkio trukmės masių spektrometrija.

## IVADAS

Nagų, odos ir plaukų grybinės infekcijos yra gana plačiai paplitusios pasaulyje. Įvairių tyrimų duomenimis šia infekcija yra užsikrėtę apie 20% pasaulio populiacijos. Ši infekcija nėra tik kosmetinė ar estetinė problema, ji gali reikšmingai paveikti paciento gyvenimo kokybę, taip pat kelti fizinį ar psichologinį diskomfortą, atskirtį, diskriminaciją visuomenėje.

Apskaičiuota, jog rizika bent kartą gyvenime sirgti odos ar jos darinių grybine infekcija yra 10 – 20 %. Europoje dermatomikozės sudaro beveik pusę visų odos ir jos darinių infekcijų atvejų, o JAV užima antrąją vietą po spuogų (aknės) [1]. Efektyvus šių infekcijų gydymas gali sumažinti visuomenės sergamumą, pacientų ligos trukmę ir infekcijos perdavimo bei tolesnio plitimo galimybes.

Kasmet šių infekcijų gydymui išleidžiami milijonai, tačiau žmones vis dar kankina grybinės nagų, plaukų, odos infekcijos. Sėkmingam šių ligų gydymui reikalingas ilgas gydymo laikas, kuris gali užsitęsti iki metų. Net ir po ilgo gydymo kurso gali būti nepasiektas visiškas išgyjimas arba kitaip – klinikinis išgyjimas (nago išsivalymas) ir mikrobiologinis išgyjimas (neigiamas mikroskopijos ir mikrobiologinio pasėlio rezultatas) [2].

Pastaraisiais dešimtmečiais dermatofitų ir kitų grybų rūšių sukeltų infekcijų dažnis pasaulyje didėja, pastebima daug atsinaujinusios infekcijos ir lėtinės ligos formos atvejų.

Viena iš dažniausių ligos formų yra onichomikozė (nagų infekcija). Ši liga sąlygiškai neseniai buvo pripažinta infekcija, į kurią būtina atkreipti dėmesį ir atlikti reikiamus klinikinius veiksmus jai išgydyti. Tai greičiausiai įvyko dėl efektyvios terapijos trūkumo. Atsiradus tokiems vaistams kaip terbinafinas (1996) ir ciclopirox (1999) bei patvirtinus gydymo jais efektyvumą, pradėta skirti daugiau dėmesio onichomikozės diagnostikai ir gydymui. Pastebėti teigiami pokyčiai gydymo metu, buvo pasiektas mikologinis išgyjimas ir kosmetinių problemų pranykimas daugeliui pacientų. Tačiau net ir atsiradus naujiems gydymo metodams, pacientai vis dar kreipiasi į gydytojus dėl onichomikozės sukeltų problemų tik tada, kai skausmas ar infekcijos sukelti kiti simptomai jau nebegali būti ignoruojami. Ankstyvi ligos atvejai yra atpažįstami pačių pacientų ar gydytojų gana retai, taip pat retai įvertinama ankstyvo gydymo svarba. Labai dažnai infekcijos atsinaujina ir vėl sukelia įvairius simptomus.

Per paskutinį dešimtmetį moksliniai tyrimai, kurių metu nagrinėta onichomikozės patogenezė leido geriau suprasti galimus infekcijos sukėlėjus. 2014 metais pradėtas gydymas naujais paviršinio

eikimo vaistais bei vėl atkreiptas dėmesys į onichomikozės ir su ja susijusios *tinea pedis* infekcijos diagnostiką bei gydymą [3].

**Darbo tikslas:**

Atlikti retrospektyvinę dermatofitijų analizę, apžvelgti ir palyginti gautus duomenis bei kasdienėje praktikoje taikomus dermatofitijų diagnostikos metodus.

**Darbo uždaviniai:**

1. Atlikti retrospektyvinę 2014–2018 m. VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje nustatytų dermatofitijos atvejų analizę;
2. Įvertinti 2014–2018 m. VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje nustatytų dermatofitijų sukėlėjų laboratorinės diagnostikos metodus bei išanalizuoti sukėlėjų jautrumą priešgrybiniams preparatams;
3. Atlikti dviejų jautrumo nustatymo metodų – diskų difuzijos bei minimalios slopinančios koncentracijos nustatymo metodo – palyginimą tiriant 50 išaugintų grybų rūšių;
4. Identifikuoti 30 grybų kultūrų taikant du MALDI-TOF metodo protokolus – tiesioginio perkėlimo ir ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi – bei atlikti šių metodų palyginimą.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Grybų sukeltos infekcijos

Grybų sukeltos ligos yra skirstomos į tris dideles grupes: paviršines mikoze, poodines mikoze ir sisteminės mikoze. Dažniausia iš šių infekcijų yra paviršinė mikoze - dermatofitija. Tai paviršinio odos sluoksnio ir jos darinių (plaukų, nagų) grybinės infekcijos.

Dermatofitija yra pasaulinės svarbos liga, visuomenės sveikatos problema daugelyje pasaulio šalių ir ypač dažna besivystančiose šalyse. Ši liga tik labai retais atvejais sukelia paciento mirtį, dažniausiai ji neigiamai veikia gyvenimo kokybę per stigmatizavimą visuomenėje. Didelės populiacijos, žemas socioekonominis lygis, nevienodas sveikatos priežiūros paslaugų prieinamumas, keitimasis avalyne, drabužiais, kirpyklos priemonėmis besivystančiose šalyse yra galimi rizikos faktoriai grybinių infekcijų plitimui.

Dažniausios mikoze sukeliančios grybų rūšys yra *Epidermophyton*, *Microsporum* ir *Trichophyton*. Odos ir jos darinių infekcijų, sukeltų ne dermatofitų pelėsių bei mielių skaičius taip pat didėja. Tai lemia labai svarbus rizikos faktorius – cukrinio diabeto atvejų skaičiaus augimas. Šios ligos dažnį padidino gerėjanti gyvenimo kokybė, ilgėjanti gyvenimo trukmė bei imuninių gynybos mechanizmų nusilpimas, kurį sukelia įvairios ligos. Todėl šiuo metu žmonės tampa imlesni ir grybinėms infekcijoms bei grybams, kurie anksčiau nebuvo laikomi infekcijų sukėlėjais, tačiau vėliau įrodyta, jog jie gali sukelti infekcijas.

Dermatofitų ir ne dermatofitų rūšių sukelti infekcijų atvejai registruojami visame pasaulyje, tačiau skiriasi jų pasiskirstymas, atvejų skaičius, epidemiologiniai parametrai bei infekcijos taikiniai (šeimininkai). Tai priklauso nuo geografinių skirtumų, sveikatos priežiūros lygio, klimato, kultūros, socioekonominių sąlygų [4].

### 1.1.1. Onichomikoze

Onichomikoze yra dažniausia nagų infekcinė liga, sudaranti 50% visų konsultacijų dėl nagų ligų. Manoma, jog ši liga priklauso nuo lyties, amžiaus ir yra dažnesnė moterims nei vyrams bei dažnėja su amžiumi. Tarp senyvo amžiaus žmonių onichomikoze dažnis gali siekti daugiau nei 40%. Predisponuojantys faktoriai yra cukrinis diabetas, periferinių arterijų ligos, imunosupresija dėl ŽIV infekcijos ar imunosupresantų vartojimo [5].

Onichomikozė sukėlėjai apima tris grybų grupes: dermatofitus, mieliagrybius ir ne dermatofitus (pseudodermatofitai, aplinkos oportunistiniai pelėsių) [6]. Dažniausiai šias infekcijas

sukelia antropofiliniai dermatofitai, tokie kaip *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*. Ne dermatofitiniai pelėsiai, kaip *Scopulariopsis brevicaulis* bei *Aspergillus spp.* gali būti pirminiai onichomikozės sukėlėjai arba antriniai patogenai. Taip pat iš pakenktų nagų išskiriami ir kiti pelėsiniai grybai: *Fusarium spp.*, *Acremonium spp.*, *Alternaria spp.*, *Neoscytalidium sp.* Vidutinis ne dermatofitinių pelėsių sukeltų onichomikozėlių dažnis pasaulyje yra 10-15 %. Mieliagrybiai (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis* ir kt.) yra trečioji onichomikozėlių sukėlėjų grupė, kuri dažniausiai sukelia infekcijas tik esant predisponuojančių veiksnių (imunosupresija, diabetas ir kt.) įtakai.

Dažniausiai yra pažeidžiami kojų nagai, šiais atvejais infekcija dažnai apima kelis nagus ir sukelia sauso tipo padų infekciją (*Tinea pedis* arba „Atleto pėda“).

Onichomikozė vaikystėje yra reta ir sudaro nuo 0,5 % iki 2,6 % visų vaikų nagų infekcijų atvejų. Taip pat kaip ir suaugusiems dažniausia yra distalinė ponaginė onichomikozė, dažniau pakenkiami kojų nagai, nei rankų nagai. Vaikai infekciją įgyja dėl distrofinių ar trauminių nagų pokyčių arba užkrečia nuo tėvų ar užkrėstos aplinkos.

Skiriami skirtingi klinikiniai onichomikozės tipai pagal invazyvumą į nagus: distalinė - lateralinė ponaginė onichomikozė, baltoji paviršinė onichomikozė, proksimalinė ponaginė onichomikozė, „Endonyx“ onichomikozė, visiška distrofinė onichomikozė.

Distalinė ir lateralinė ponaginė onichomikozė (DLPO) dažniausiai pažeidžia viena ar abu didžiuosius kojų pirštus ir dažnai yra susijusi su „Atleto pėda“. Grybas patenka į nagą per panagę (hyponychium) ir apima apatinę nago plokštelės dalį (1 pav.). Nago plokštelė tampa geltonai balta, atsiskiria dėl onicholizės bei ponaginės hiperkeratozės. Rečiau gali būti matomas nago spalvos pokytis į rudą, juodą ar oranžinę spalvą. Taip pat gali susidaryti dermatofitoma – ponaginė grybinė masė, sunkiai pasiekama priešgrybinių vaistų, reikalaujanti pažeistos srities pašalinimo bei sisteminio gydymo. DLPO gali būti siejama su juoda nago pigmentacija, kai patogenas yra melanoidinis *T. rubrum* ar kitų melaniną gaminančių grybų (*Neoscytalidium dimidiatum*, *Aspergillus niger*) variantas. Ne dermatofitų sukeltai onichomikozėi būdingas žymus ponaginis uždegimas.

Baltosios paviršinės onichomikozės (BPO) atveju grybas pažeidžia nugarinę (dorsalinę) nago plokštelę (1 pav.) ir suformuoja kolonijas, kurios atrodo kaip balti, nepermatomi, lengvai nuskutami dariniai. Klasikinę šios onichomikozės formą sukelia *T. interdigitale*, kai dermatofitai kolonizuoja didžiąją dalį paviršinių nago plokštelės sluoksnių, neprasiskverbdami per juos. *Fusarium spp.* ir kiti



pelėšiai gali sukelti BPO su gilesniu nago pažeidimu. Dažnai pasitaiko „Atleto pėdos“ (*Tinea pedis interdigitalis*) atveju, kuriuos sukelia *T. interdigitale*.

Proksimalinės ponaginės onichomikozės (PPO) atveju grybo elementai yra tipiška lokalizuoti ventralinėje nago plokštelėje (1 pav.) ir sukelia proksimalinę leukonychiją. PPO sukelta dermatofitų yra labai reta ir anksčiau ligos forma, susijusi su *T. rubrum*, buvo laikoma ŽIV infekcijos požymiu. Ši forma pasireiškia kaip baltos srities atsiradimas proksimalinėje nago plokštelės pusmėnulinėje dalyje (lunula). PPO dažnai pasireiškia dėl nedermatofitinės infekcijos, kurią sukelia *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* bei yra lydima ponaginio uždegimo.

„Endonyx“ onichomikozė apibūdinama kaip masyvi nago plokštelės invazija, neapimanti nago guolio (1 pav.). Kliniškai pažeistas nagas gali atrodyti kaip suskaldytas į plokšteles, su pieno baltumo spalvos pokyčiu. Šis infekcijos tipas yra labai retas, jį sukelia *T. soudanense* arba *T. violaceum*.

Visiška distrofinė onichomikozė yra sunkiausia onichomikozės stadija, galinti pasireikšti ilgalaike DLPO arba PPO. Nago plokštelė būna difuziškai sukietėjusi, puri ir gelsva [1].

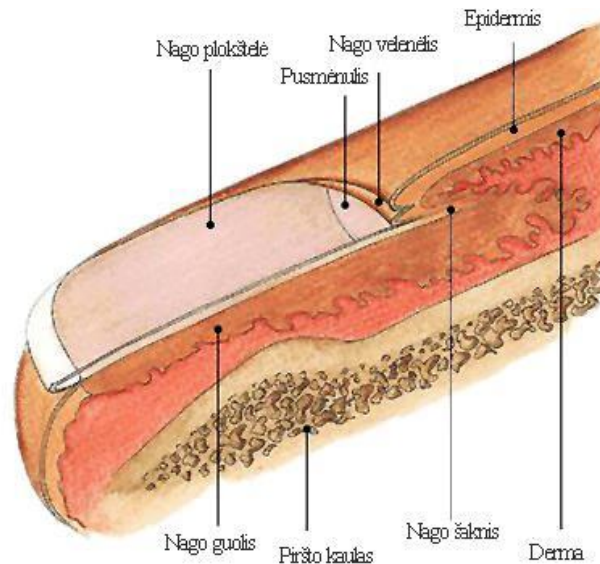
Mieliagrybių sukeltos nagų infekcijos taip pat skirstomos pagal klinikinę formą. *Candida* genties grybų sukelti nagų pažeidimai gali turėti keturias kliniškines formas: lėtinę paronichiją su antrine nagų distrofija, distalinę nago infekciją, lėtinę odos ir gleivinių kandidozę bei antrinę kandidozę.

Lėtinė paronichija su antrine nagų distrofija dažniausiai diagnozuojama vaikams (dėl pirštų graužimo) ir suaugusiems, dirbantiems drėgnoje aplinkoje. Dažniausiai pažeidžiami dešinės rankos I – III pirštų nagai. Pažeidimo vietos yra skausmingos, apynaginiai audiniai paraudę, sutinę. Jei infekcija pereina į lėtinę stadiją, vystosi distrofiniai nagų plokštelių pakitimai, kurie pasireiškia balkšvų ar žalsvų dėmių, išilginių ar skersinių vagelių atsiradimu, taip pat nago plokštelė darosi trapi ir atsiskiria nuo nago guolio. Dažniausi sukėlėjai – *Candida albicans* ir *C. parapsilosis*.

Distalinė nago infekcija yra gana reta ligos forma, kuri išsivysto asmenims, sergantiems *Raynaud* sindromu ar kitais kraujotakos sutrikimais, vartojantiems sisteminius gliukokortikoidus. Dažniausiai ši infekcija pažeidžia rankų nagus. Kliniškai ji dažniausiai pasireiškia onicholize ir ponagine hiperkeratoze. Ši infekcijos forma yra panaši į DLPO.

Lėtinė odos ir gleivinių kandidozė tai polietiologinė liga, kurios metu susilpnėja ląstelinis imunitetas, dažniausiai pasireiškianti nago plokštelės sustorėjimu bei ponagine hiperkeratoze.

Antrinė kandidozė išsivysto sergant kitomis ligomis, kurios pažeidžia nago plokštelę, iš kurių dažniausia – žvynelinė [7].



**1 pav.** Nago sandara [8].

Klinikinis onichomikozės įtarimas turi būti pagrįstas mikologiškai. **Mikologinis (mikrobiologinis) tyrimas** susideda iš dviejų dalių: tiesioginės pataloginės medžiagos mikroskopijos ir kultūros išauginimo (pasėlio). Mikroskopuojant įvertinamas tik grybo buvimas, jo morfologija (hifai, sporos), tačiau tiksliam rūšies nustatymui reikalinga atlikti pasėlį bei rūšies identifikavimą. Taip pat gali būti atliekamas ir histopatologinis tyrimas, kurio metu nukirptos nago dalys yra specialiai paruošiamos ir dažomos PAS (*Periodic Acid-Schiff*) metodu, kuris vizualizuoja grybų hifus.

Elektroninė mikroskopija, dar vadinama onichoskopija yra lengva ir greita procedūra, kuri leidžia diferencijuoti onichomikozę nuo kitų nagų distrofijų.

Taip pat diagnostikai pradedama naudoti konfokalinė lazerinio skenavimo mikroskopija. KLSM (CLSM) - tai optinis vaizdo gavimo metodas, sukurtas siekiant pagerinti mikrografijų (mikroskopinių vaizdų fotografijų) kokybę bei padidinti skiriamąją gebą. Dermatofitai atrodo kaip ištįsusių struktūrų tinklas, turintis tipinę hifų formą. Taip pat pradedami tirti ir mieliagrybiai, o pelėsiniai grybai kol kas dar nebuvo tirti ir aprašyti.

Tai pat yra ir daugiau naujų onichomikozės tyrimo metodų, tokių kaip: dermatofitų juostelės, fluorescencinė mikroskopija ir Raman spektroskopija. Dermatofitų testo juostelės yra imunochromatografiniai testai, kuriuose naudojami monokloniniai antikūnai, reaguojantys su

*Trichophyton* rūšimis ir duoda teigiamą signalą po kontakto su bet kuria iš šių dermatofitų rūšių per 15 minučių. Tai jau paruoštas naudojimui, labai greitas, lengvai atliekamas ir nebrangus tyrimas. Šis tyrimas turi didelį jautrumą ir neigiamą prognostinę vertę, todėl gali būti naudojamas atmesti onichomikozės diagnozę turint abejotinų atvejų. Ši metodika jau buvo išbandyta ir nedidelėse onichomikozės studijose.

Fluorescencinės mikroskopijos metu nukirptos nagų dalys, dažytos PAS metodu ir atrinktos kaip įtartinos, yra tiriamos mikroskopu. Metodas neleidžia diferencijuoti grybų rūšių, nustatyti ar matomi hifai yra gyvi ar mirę, tačiau yra pigesnis, nei dažymas PAS ar kitais metodais.

Raman spektroskopija yra vibracinės spektroskopijos metodas leidžiantis tirti mėginių molekulinę sudėtį. Šis metodas remiasi spektro juostų molekulinio specifiskumu vibracijos spektre. Jau yra tyrimų, rodančių preliminarinius rezultatus, tiriant grybais užkrėstus nagus in vitro [5].

### 1.1.2. Dermatofitija

Dermatofitijos ar kitos dermatofitų sukeltos odos infekcijos yra vadinamos *tinea* priklausomai nuo infekcijos lokalizacijos. Pavyzdžiui, *tinea corporis* apima rankas, liemenį ir kojas, *tinea capitis* – skalpą, *tinea pedis* – pėdas, kojas.

Priklausomai nuo klimato ir kultūrinės aplinkos ligų pasireiškimo dažnumas gali skirtis: *tinea pedis* ir onichomikozė yra dažniausios vakarų šalyse, o *tinea capitis* ir *tinea corporis* – tropiniuose regionuose. Jau kelis metus stebimas nedidelio paplitimo *tinea capitis* atvejų skaičiaus padidėjimas Europos šalyse.

Dermatofitai yra skirstomi į tris tarpusavyje susijusias gentis: *Epidermophyton*, *Trichophyton* ir *Microsporum*. Šie grybai skirstomi pagal „gyvenamąją“ vietą ir priklauso trimis grupėms: geofiliniai dermatofitai – natūraliai randami dirvoje, zoofiliniai dermatofitai – gyvūnų, antropofiliniai dermatofitai – sukeliantys žmonių ligas. Patogeniniai grybai, sukeliantys žmonių infekcijas priklauso daugiausia antrajai ir trečiajai grupėms, o geofiliniai dermatofitai infekcijas žmonėms sukelia daug rečiau. Antropofiliniai dermatofitai yra labiausiai specializuota grupė. Šie grybai retai sukelia infekcijas kitiems gyvūnams, taip pat yra priklausomi nuo kūno dalies lokalizacijos. Kai kurios rūšys, tokios kaip *Microsporum audouinii*, *Trichophyton tonsurans* ir *Trichophyton soudanense* daugiausia sukelia *tinea capitis* ir yra retai aptinkamos kitose kūno vietose. Kitos rūšys daugiausia sukelia onichomikozę, tai *T. rubrum* – pagrindinis sukėlėjas, taip pat *T. interdigitale*, o *Epidermophyton floccosum* sukelia tik odos infekcijas.

Dermatofitai įprastai vystosi negyvoje paviršinėje keratinizuotoje ragėjančioje odos sluoksnio dalyje (*stratum corneum*) ant ir aplink plaukus bei nagus. Šiuose audiniuose augimas susijęs su hifų ir artrokonidijų produkcija ir tai yra savybė naudojama šių infekcijų diagnostikai. Dermatofitų patogeniškumas yra susijęs su įvairiais faktoriais, keratinolitinių baltymų produkcija, genetinė predispozicija ir įvairių šeimininko organizmo faktorių. Faktoriai, susiję su *tinea pedis* gali būti kraujotakos sutrikimai, cukrinis diabetas, ichtiozė, psoriazė, sutrikimai veikiantys ląstelinį imunitetą. Šiuo metu onichomikozė yra laikoma vienu iš diabetinės pėdos sindromo prognostinių veiksnių. Diabetu sergančių pacientų sergamumas onichomikoze bei ligos paplitimas yra didesnis nei likusios populiacijos dalies: Danijoje - 20%, Japonijoje – 51%. Spėjama, jog esant didėjančiam diabetu sergančių asmenų skaičiui pasaulyje ateityje augs ir onichomikozės atvejų skaičius.

### **1.1.3. Infekcijos plitimo būdai**

#### **Odos grybinės infekcijos plinta trimis būdais:**

1. Nuo žmogaus žmogui (antropofilinė mikoze);
2. Nuo gyvūno žmogui (zoofilinė mikoze);
3. Iš dirvožemio žmogui (geofilinė mikoze).

**Dažniausias infekcijos šaltinis** – sergantis žmogus.

#### **Vienas asmuo kitą asmenį gali užkrėsti dviem būdais:**

1. tiesiogiai – sąlyčio metu (retais atvejais);
2. netiesioginiu – naudojantis užsikrėtusio ar sergančio asmens daiktais (rankšluosčiais, batais, šlepetėmis ir kt.).

### **1.1.4. Simptomai ir pasireiškimo formos**

Dermatomikozes dažniausiai sukelia dermatofitai, mieliagrybiai ir pelėsiniai grybai. Dermatofitija yra dažniausia odos mikoze. Šią infekciją sukelia trijų rūšių grybai – dermatofitai (*Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton*). Infekcija gali pažeisti ragėjančią epidermio sluoksnį, nagus bei plaukuotąją galvos dalį. Dermatofitai dažniausiai sukelia odos paviršinio sluoksnio (epidermio), gleivinių, odos darinių infekcijas, todėl beveik nesukelia nemalonių pokyčių ir nesutrikdo sveikatos būklės. Ši infekcija gali būti ypač pavojinga imunosupresuotiems asmenims, pacientams, sergantiems cukriniu diabetu. Infekcija gali plisti, pažeisti gilesnius audinių sluoksnius arba suformuoti poodinius pūlinius.

Mieliagybių sukeltos infekcijos yra pavojingesnės už dermatofitų sukeltas infekcijas, nes gali išplisti į giliuosius odos ir audinių sluoksnius, net vidaus organus, pažeisti kvėpavimo takus, virškinamąjį traktą ir sukelti sudėtingo gydymo reikalaujančias būkles ar net mirtį.

Dažniausios yra dermatofitų sukeltos pėdų, rankų, galvos, barzdos, kūno, kirkšnių ir tarpvietės bei nagų infekcijos.

Pėdų grybinė infekcija (*tinea pedis*), dar vadinama „atleto pėda“ yra dažniausia ligos forma, jai būdingi padų ir tarpupirščių odos pažeidimai. Dažniausiai ją sukelia *T. rubrum*. Pacientas pasireiškia tokie požymiai, kaip padų pleiskanojimas, niežėjimas, skausmingi įtrūkimai tarpupirščių odoje, erozijos, pūslelės. Dažniausiai ši ligos forma pasireiškia 20 – 40 metų vyrams. Infekcijos vystymąsi skatina pėdų prakaitavimas, šiluma, uždara, iš sintetinių medžiagų pagaminta avalynė.

Rankų grybinė infekcija (*tinea manum*) yra retesnė nei pėdų infekcijos, pasireiškia uždegimu, pleiskanojančiomis dėmėmis ant nugarinio plaštakos paviršiaus, nuolat sausa, pleiskanojančia, suragėjusia delnų oda. Esant delnų pažeidimui, dažniausiai tuo pat metu būna pažeidžiamos ir pėdos. Dažniausiai pažeidžiama viena ranka ir abi pėdos, arba abi rankos ir viena pėda.

Galvos grybinės infekcijos (*tinea capitis*) yra dažniausios mokyklinio amžiaus vaikams. Jos pasireiškia vieno ar kelių žiedo pavidalo ar apskritų odos lopų atsiradimu, jie gali būti apimti uždegimo arba be jo, pažeidimo vietose iškrenta plaukai. Ši ligos forma gali būti panaši į paprastą pleiskanojimą, plaukai gali prarasti žvilgesį, dėl juos padengusio grybo sporų sluoknio.

Barzdos grybinės infekcijos (*tinea barbae*) dažniausiai pasireiškia vyrams, dirbantiems su gyvūnais. Pažeidžiami barzdos srities oda. Taip pat kartu gali pasireikšti ir bakterinis folikulitas.

Kūno odos grybinės infekcijos (*tinea corporis*) dažniausiai pasireiškia šilto ir drėgno klimato zonose. Ant kūno matomos apskritos plokštelės, su ryškiais, iškiliais, pleiskanojančiais kraštais. Uždegimui praėjus odoje lieka hiper- ar hipopigmentuoti plotai. Dažnai ši infekcija būna besimptomė, ilgai nepastebima, todėl gana greitai išplinta šeimoje ar kolektyvuose.

Kirkšnių ir tarpvietės grybinės infekcijos (*tinea cruris*) dažniausiai sukelia simetrinius pažeidimus vidiniame šlaunų, kirkšnių paviršiuje, būdingas žaizdų susidarymas, niežulys. Dažniausiai šia ligos forma serga vyrai. Jei ligos sukėlėjai yra dermatofitai, nepasireiškia varpos ir kapšelio odos pažeidimai. Daugeliu atvejų kartu nustatomas ir pėdų grybelis. Manoma, jog to priežastis yra sukėlėjo pernešimas rankomis nuo pėdų į kirkšnių sritį kasymosi metu.

Nagų grybinės infekcijos (*onychomycosis*) yra dažnos, jas dažniausiai sukelia dermatofitai (ypač *T. rubrum*), rečiau – mieliagrybiai bei nedermatofitiniai pelėsiniai grybai. Sukėlėjas palaipsniui ardo nago plokštelę. Ši liga neišnyksta savaime ir gali būti odos grybinių infekcijų šaltinis. Dažniausiai infekcija plinta per baseinus, pirtis, sporto sales, avalynę, nesilaikant higienos reikalavimų. Pažeidimo paveiktas nagas darosi baltas, geltonas, žalias ar juodas, storėja, lūžinėja, trupa, tampa deformuotas, taip pat gali būti skausmingas. Ilgai užsitęsusi grybinė infekcija nago guolį bei plokštelės struktūrą, susiformuoja grioveliai, taip pat gali prisidėti ir bakterinė infekcija [1].

#### 1.1.5. Rizikos veiksniai

- uždara avalynė;
- buvimas vėsioje drėgnose patalpose;
- lėtinės medžiagų apykaitos ligos (cukrinis diabetas);
- vaikčiojimas basomis dušuose, baseinuose, pirtyse;
- nagų pažeidimai, traumos [9];
- vyresnis amžius;
- prasta veninė kraujotaka [10].

### 1.2. Grybinių odos ir jos darinių infekcijų paplitimas pasaulyje

Per paskutinį šimtmetį dermatofitų rūšių spektras pasaulyje stipriai pasikeitė, tai lėmė geografinės aplinkos skirtumai ir padidėjusi migracija. Pavyzdžiui, Vokietijoje dominuojančios rūšys, sukeliančios *tinea corporis* ir *tinea capitis* iki 1920 metų buvo *E. floccosum*, *M. audouinii*, šiuo metu jas pakeitė *T. rubrum*, kuris nuo 1950 metų buvo labiausiai paplitęs dermatofitas Europoje, sukeliantis daugiausia *tinea pedis* ir *tinea unguium*. *T. rubrum* kaip ūminės *tinea corporis* sukėlėjas paplito Europoje XIX a., manoma, jog jis atkeliavo iš endeminių sričių pietų Azijoje. Nuo 1950 metų ši sukėlėją aktyviai keitė antropofilinis *T. interdigitale* – *tinea pedis* ir *unguium* sukėlėjas. Ši tendencija stebima daugiausia šiaurės Europos šalyse. Švedijos mokslininkų atlikta retrospektyvinė apžvalga parodė, jog *T. rubrum* yra pagrindinis grybinių odos infekcijų sukėlėjas 83% atvejų. Jungtinėje Karalystėje atliktų tyrimų duomenys parodė, jog *T. rubrum* buvo dažniausia grybinės infekcijos sukeliančių dermatofitų rūšis (70%) 1980 – 2005 metais, antras pagal dažnumą sukėlėjas buvo *T. interdigitale* (20,8%). Vokietijoje *T. rubrum* sukelia 91% ligos atvejų, Belgijoje – 76%, o *T. interdigitale* apie 22% atvejų. Lenkijoje atliktų tyrimų duomenimis *T. rubrum* ir *T. mentagrophytes* sukėlė 90% visų paviršinių grybinių infekcijų atvejų 2005 – 2010 metų periodu, tačiau stebimas šiek

ties mažesnis *T. rubrum* dominavimas, nei kitose šalyse. Slovakijoje 1994 – 1999 metais atliktas tyrimas parodė, jog *T. rubrum* sudarė 81,61% visų išskirtų dermatofitų rūšių.

Didelis *T. rubrum* paplitimas sudarė geresnes galimybes šios rūšies molekuliniais tyrimams, kurie parodė, jog šis dermatofitas yra labiau prisitaikęs plisti, nei kitos dermatofitų rūšys. Nustatyta, jog, dažniausias infekcijos šaltinis yra privatūs vonios kambariai, kuriuose infekcija plinta dėl užsikrėtusių šeimos narių ir vertikali transmisija yra dažnesnė nei horizontali. Yra ir daugiau faktorių lemiančių didelį šios rūšies paplitimą. Manoma, jog tai lėmė gyvenimo būdo pokyčiai, susiję su padidėjusiu sporto klubų, baseinų bei kitų vietų, kuriose pagrindinis infekcijos plitimo šaltinis yra persirengimo kambariai, dušai, kilimėliai skaičiaus bei populiarumo didėjimu. Kitas faktorius yra orui nelaidžios avalynės avėjimas, kuris sukelia drėgmės susilaikymą, skatina *tinea pedis* ir kojų nagų onichomikozės vystymąsi. *Tinea pedis* yra laikoma grybo šaltiniu, iš kurio infekcija plinta į kitas kūno vietas ir sukelia *tinea manuum*, *inguinalis* ir *unguim*.

Nuo 1958 metų atsiradus griseofulvinui – sisteminiam vaistui, skirtam gydyti *tinea corporis* ir *tinea capitis* – centrinėje Europoje išnyko *M. audouinii* ir *M. schoenleinii* grybų rūšys. Nuo 1967 metų Vokietijoje nei vienos iš šių rūšių nebuvo aptikta. 1967–1971 metais atliktų tyrimų duomenimis tik 18 iš 38 738 pacientų, sergančių dermatofitų sukelta infekcija (*tinea capitis*), ją sukėlė *M. canis*. Kito tyrimo, atlikto 1976–1985 metais metu buvo aptiktas tik vienas ligos atvejis, sukeltas *M. schoenleinii* ir neaptikta nei vieno atvejo, kuri sukėlė *M. audouinii*. Kitų tyrimų duomenys parodė tokias pačias tendencijas ir centro Europos šalyse. Visų tyrimų rezultatai rodo griseofulvino efektyvumą ir jis iki šiol yra laikomas gydymo „aukso standartu“ kai kuriose šalyse.

Viduržemio jūros šalyse šių infekcijų situacija priklauso nuo pasirinktos šalies. Graikijoje *T. rubrum* taip pat kaip ir kitose Europos šalyse yra dominuojanti rūšis, tai parodė tyrimas, atliktas 1992 – 1996 metais: *T. rubrum* sudarė 44,4%, *M. canis* 24%, *T. interdigitale* 3,4%, *T. verrucosum* 1,8%. Po kelerių metų 1997–2003 tų pačių autorių tyrimų duomenimis *T. rubrum* sudarė 48%, *M. canis* 17,9%, *T. interdigitale* 14,2%, *E. floccosum* 6% visų išskirtų rūšių. Ispanijoje atliktų tyrimų duomenimis 1991–1995 metais dominavo *M. canis*, sukėlęs *tinea corporis* (44%), bei *T. mentagrophytes* ir *T. rubrum* (18,6%). 1998–2008 metais Ispanijoje atlikto tyrimo duomenys parodė, jog dominuojanti rūšis buvo *T. rubrum* (38,2%) ir atvejų skaičius pradėjo didėti nuo 2000 metų, o *M. canis* buvo antroji pagal gausumą rūšis (22,8%). Italijoje *M. canis* vis dar yra labiausiai paplitusi rūšis (88,9%), tai parodė 2002 – 2004 metais atliktas tyrimas. Tai siejama su *tinea corporis* dominavimu ir *tinea pedis* atvejų skaičiaus sumažėjimu iki 6,7% visų grybinių infekcijų atvejų. 1995–

2002 metų Klyvlando, Ohajo (JAV) Medicininės mikologijos centro atliktų tyrimų duomenimis *T. rubrum* buvo dažniausias patogenas, kurio atvejų skaičius ir toliau didėjo (nuo 32% iki 47% nurodytu periodu). *T. tonsurans*, kuris ilgą laiką JAV buvo pagrindinis *tinea capitis* sukėlėjas atvejų skaičius tyrimo laikotarpiu sumažėjo nuo 32% iki 17,9%. Šie rezultatai buvo priešingi lyginant su 1993–1995 metų tyrimų duomenimis, kurie parodė, jog šiuo laikotarpiu dominuojanti rūšis buvo *T. tonsurans* (44,9%), o antra pagal gausumą rūšis buvo *T. rubrum* (41,3%). Norint padaryti detalesnes išvadas apie šių grybų rūšių paplitimą šiuo metu reikėtų atlikti daugiau tyrimų.

Tyrimų duomenys rodo, jog dermatofitų sukeltos infekcijos yra dažnesnės afroamerikiečių populiacijoje. 2010 metais įvyko *tinea corporis*, sukeltos *T. tonsurans* protrūkis tarp medicinos personalo vienoje iš JAV vaikų ligoninių. Manoma, jog infekcija prasidėjo nuo 2 metų amžiaus vaiko atvejo, kai infekcija buvo apėmusi skalpą bei rankas, kuris buvo hospitalizuotas kelis kartus dėl pasikartojančios infekcijos. Šis protrūkis parodo dermatofitų hospitalinių infekcijų riziką medicinos įstaigose, tačiau tokie atvejai yra gana reti.

*T. tonsurans* sukeltų infekcijų atvejų skaičiaus padidėjimas buvo pastebėtas ir Haityje 2005 metais, jis buvo stebimas nuo 1988 metų. Meksikoje nuo 1940 metų atlikti tyrimai parodė didėjantį *T. rubrum* sukeltų infekcijų, *tinea pedis*, *tinea unguium* atvejų skaičiaus padidėjimą ir *tinea capitis* atvejų skaičiaus sumažėjimą. Tai patvirtino ir 1996–2006 metais atliktas tyrimas, kuris parodė, jog dominuojanti rūšis buvo *T. rubrum* (71,2%), *T. mentagrophytes* sudarė 5,5%, *M. canis* 4,5%, *E. floccosum* 1,9% atvejų. Du trečdalius *tinea capitis* infekcijų sukėlė *T. tonsurans*, o vieną trečdalį – *M. canis*.

Dermatofitijų paplitimas Vidurio Rytuose labai varijuoja priklausomai nuo geografinio regiono. Irane atlikti tyrimai parodė, jog *tinea corporis* yra dažniausia klinikinė dermatofitijos forma. Dažniausi sukėlėjai buvo *E. floccosum*, *T. rubrum*, *T. verrucosum*, *T. interdigitale*, o jų paplitimas ir rūšinis pasiskirtymas priklausė nuo šalies regiono.

Afrikos šalyse dermatofitijos yra dažnos, bet dažniausiai neaptinkamos ir negydomos, nes pacientai neturi galimybės susimokėti už gydymą. Dėl šių priežasčių yra labai mažai publikacijų, apibūdinančių dermatofitų sukeltų infekcijų situaciją šiame žemyne. Nustatyta, jog dažniausia ligos klinikinė forma yra *tinea capitis*. Neseniai atlikto tyrimo metu, buvo tiriama grožio salonų klientai, norint išsiaiškinti salonuose naudojamų įrankių taršos poveikį dermatofitijų plitimui. Nustatyta, jog naudojant netinkamai apdorotus įrankius, grybų sporos ir propagulės (vegetatyvinės struktūros, kurios atsiskiria nuo grybo kūno ir formuoja naują grybo kūną) buvo pernešamos nuo vieno kliento plaukų



ant kito kliento. 73% nuo naudotų įrankių paimtų pasėlių buvo išaugintos dvi dermatofitų rūšys: *Microsporium audouinii* (53,3%) ir *T. soudanense* (46,7 %).

Gana žymūs rūšinės *tinea capitis* sukėlėjų sudėties pokyčiai buvo stebimi ir Europos šalyse. Pavyzdžiui Italijoje anksčiau išnaikintos dermatofitų rūšys, tokios kaip: *M. audouinii*, *T. violaceum* ir *T. tonsurans* vėl buvo registruotos per paskutinius du dešimtmečius. Taip pat 1980 metų duomenimis *M. canis* buvo pagrindinis dermatofitijos sukėlėjas Italijoje ir dažniausiai buvo *tinea capitis* priežastis.

Stokholme, Švedijoje, Karolinska Universiteto Ligoninėje 2005–2009 metais atliktas tyrimas parodė, jog onichomikozė buvo dažniausia klinikinė dermatofitijos forma (14,1%), o *T. rubrum* buvo pagrindinis sukėlėjas, sukėlęs 83% šių infekcijų. *T. mentagrophytes* sukėlė 14% infekcijų. Autoriai pastebėjo *tinea capitis* atvejų skaičiaus padidėjimą nuo 1,4% 2005 metais iki 2,7% 2009 metais. Taip pat antropofiliniai dermatofitai buvo pagrindiniai šių infekcijų sukėlėjai (63,8%), rečiau šias infekcijas sukėlė *T. soudanense* (17,2%), *M. oudouinii* (8,2%), *T. tonsurans* (5,8%), *M. canis* (0,4%). Buvo pastebėtas *T. violaceum* sukeltų atvejų skaičiaus didėjimas nuo 5 atvejų 1989–1999 metų periodu iki 92 atvejų 1999–2001 metais ir *T. violaceum* buvo išaugintas 68% *tinea capitis* diagnostiniuose pasėliuose. Didėjantis *T. violaceum* sukeltų infekcijų skaičius siejamas su imigracija iš šiaurės – rytų Afrikos šalių, taip pat Etiopijos, kur ši rūšis dominuoja kaip mokyklinio amžiaus vaikų infekcijų sukėlėja.

Kitose Europos šalyse *M. oudouinii* yra vis dažniau aptinkamas antropofilinis patogenas. Neseniai buvo pranešta apie šios infekcijos protrūkį Miuncheno (Vokietija) vaikų darželiuose ir pradinėse mokyklose. Infekcija nustatyta 20 pacientų: 16 vaikų ir 4 suaugusiems asmenims.

Šveicarijoje atlikta retrospektyvinė 2006 – 2013 metų apžvalga parodė didėjantį *tinea capitis* atvejų bei atvejų, kuriuos sukėlė *T. violaceum* skaičių. Apie 30% infekuotų pacientų buvo kilę iš Eritrėjos, kur ši rūšis yra endeminė.

Belgijoje, Briuselio universitete 2001–2002 metais atlikto tyrimo metu nustatyta, jog dominavo antropofiliniai dermatofitai, kurie sukėlė 89,3% *tinea capitis* infekcijų. Dominuojantys sukėlėjai buvo: *M. oudouinii* (39,3%), *T. soudanense* (28,6%), *T. violaceum* (18%), *T. tonsurans* (3%). Tokia pat rūšinė sudėtis buvo nustatyta ir Briuselio mokyklose ir slaugos namuose. Tyrimas buvo atliekamas 2 metus, tiriamoji medžiaga buvo imama nuo aplinkos paviršių, patalynės, gultų, žaislų, žaidimo paklotų, iš kurių 40% buvo užteršti. Tai rodo, jog netiesioginio plitimo vietos taip pat yra labai svarbios ir jas reikėtų stebėti, tirti bei reguliariai dezinfekuoti, ypač jei aplinkoje yra infekcijos

atvejų. Molekuliniais tyrimais buvo nustatyta, jog egzistuoja skirtingi šių grybų rūšių genotipai ir tai priklauso nuo geografinės vietovės, etninės infekuotų asmenų populiacijos kilmės ir gamtinės šių grybų padermių adaptacijos.

Jungtinėje Karalystėje *T. tonsurans* yra pagrindinis *tinea capitis* ir *tinea corporis* sukėlėjas, kurio sukeltų ligos atvejų skaičius svyruoja nuo 50 iki 90%. Šis sukėlėjas yra paplitęs tarp afrikiečių ir afrokaribiečių berniukų miesto vietovėse.

Ispanijoje vis dar dominuoja zoofiliniai dermatofitai, tokie kaip *M. canis*, kuris yra pagrindinis *tinea capitis* sukėlėjas, o antras pagal dažnumą sukėlėjas – *T. mentagrophytes*. Tai buvo nustatyta 1977–2006 metais atlikto tyrimo metu. Kitų tyrimų duomenimis antropofilinių rūšių sukeltų atvejų skaičius Ispanijoje, ypač miestų regionuose, kuriems būdingi dideli imigracijos mąstai, gana žymiai didėja.

Barselonoje atlikto tyrimo (1305 vaikai) metu buvo nustatytas labai mažas *tinea capitis* atvejų skaičius (0,23%). Šiame mieste yra didžiausias visoje šalyje imigrantų skaičius.

Prancūzijoje pagrindinis *tinea capitis* sukėlėjas iki 1970 metų buvo *M. canis*. Nuo 1980 metų *M. audouinii* ir *T. soudanense* tapo dominuojančiomis rūšimis dėl imigracijos iš vakarų Afrikos. 1996–2010 metų tyrimas, atliktas vienoje Paryžiaus ligoninių parodė, jog dažniausia klinikinė dermatofitijos forma buvo *tinea capitis* (65,5%), o antra pagal dažnumą – *tinea corporis* (22,3%). Šias infekcijas daugiausia sukėlė *M. audouinii* (44,4%), *T. soudanense* (36,1%), *T. tonsurans* (19,1%). Pacientai, kurių pasėliuose išaugo *T. tonsurans* buvo kilę daugiausia iš Karibų salų ir Vakarų Afrikos. Dauguma tyrimų buvo atlikta Paryžiaus priemiesčiuose ir jų rezultatai buvo panašūs, tačiau kituose Prancūzijos regionuose situacija buvo kitokia – *M. canis* išliko pagrindiniu *tinea capitis* sukėlėju (60% atvejų), o beveik visą likusią dalį infekcijų sukėlė antropofiliniai dermatofitai (32%) *T. violaceum* (19 iš 38 atvejų) ir *M. audouinii* (15 iš 38 atvejų) [11].

Nuo 1950 metų atliktų tyrimų sisteminė analizė parodė, jog onichomikozė yra dažniausia nagų liga, sukianti iki 50% visų nagų ligų. Nagų pokyčiai yra gana dažni, iš 15 000 tirtų pacientų, pakitę nagai pastebėti 2505 (16,7%). Buvo analizuota 11 populiacinių tyrimų, bei 21 ligoninėse atliktas tyrimas. Vidutinis onichomikozės paplitimas Europoje ir Šiaurės Amerikoje buvo 4,3% (95% CI: 1,9 – 6,8) tarp populiacinių tyrimų ir 8,9% (95% CI: 4,3 – 13,6) ligoninėse atliktų tyrimų. Abiejų tipų tyrimai parodė, jog onichomikozė yra dažnesnė kojų naguose ir dažniausiai pasireiškia vyrams. Pagrindiniai šios infekcijos sukėlėjai buvo dermatofitai 65% (95% CI: 51,9 – 78,1) atvejų. *T. rubrum*

buvo dažniausia grybų rūšis išauginta 44,9% pasėlių (95% CI: 33,8 – 56,0). Pelėsiniai grybai aptikti 13,3% atvejų (95% CI: 4,6 – 22,1, o mieliagrybiai 21,1% (95% CI: 11,0 – 33,3) atvejų [12].

Informacija apie labiausiai įvairiuose pasaulio regionuose paplitusius dermatofitijos tipus, infekcijos formas, jos sukėlėjus bei lokalizaciją pateikiama 1 priede.

### 1.3. Grybinių odos ir jos darinių infekcijų paplitimas Lietuvoje

Užkrečiamųjų Ligų ir AIDS centro duomenimis 2013 metais registruoti 4467 dermatofitijos atvejai, 2014 m. – 3910 atvejų, 2015 m. – 3080 atvejų, 2016 m. – 2917 atvejų, 2017 m. – 3036 atvejai.

Lietuvoje dažniausiai nagų grybinėmis infekcijomis serga suaugusieji, ypač pacientai, kurių amžius yra daugiau nei 60 metų. Remiantis statistiniais duomenimis nurodoma, jog šiomis infekcijomis serga 2 – 14% populiacijos, tačiau realūs skaičiai greičiausiai turėtų būti gerokai didesni. Taip yra todėl, kad dažnai pacientai vengia kreiptis į gydytoją, nes grybinių odos ir jos darinių infekcijų nelaiko rimta liga arba jaučiasi nepatogiai bei nedrįsta kreiptis ir prašyti pagalbos [10].

80–90% atvejų onichomikozės sukėlėjai yra dermatofitai: *T. rubrum*, *T. interdigitale* (*mentagrophytes*), *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum spp.* Rečiau šią infekciją sukelia pelėsiniai grybai (*Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus spp.*) bei mieliagrybiai (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*).

Dažniausias *tinea pedis* ir onichomikozių sukėlėjas Lietuvoje yra *T. rubrum*. Jei ši infekcija pereina į sisteminę formą ir yra negydoma, galimi ir mirties atvejai. Infekcijos gydymui naudojami invaziniai chirurginiai metodai bei cheminis priešgrybinis gydymas, kuris būna sėkmingas apie 80% atvejų. Likusius 20% atvejų sudaro sunkios lėtinės dermatofitijos formos, atsparios standartiniams priešgrybinio gydymo metodams. Pagrindiniai veiksniai, ribojantys gydymo galimybes yra nespecifinis priešgrybinių vaistų efektyvumo spektras, mažas efektyvumas, sąveika su kitais vaistais, neadekvatus gydymo laikas ar infekcijos atsinaujinimas (recidyvas) [13].

2001–2010 metais VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje ir Dermatovenerologijos centre atlikto tyrimo (9135 pacientai, 4580 teigiamų dermatomikozės atvejų) duomenimis dermatofitų sukeltų ligos atvejų skaičius minėtu periodu mažėjo. 2001 metais dermatofitai sudarė 64,2%, o 2011 metais – tik 16,7 % visų pasėliuose išaugintų grybų rūšių. Per šį laikotarpį didėjo ne dermatofitų rūšių paplitimas, nuo 3,4% tyrimo pradžioje, iki 35,9% tyrimo pabaigoje. Taip pat buvo pastebėtas ir mieliagrybių, sukeliančių dermatomikozę atvejų skaičiaus augimas, kuris tyrimo pradžioje buvo 32,4%, o pabaigoje – 47,4%.

Per visą minėto tyrimo laikotarpį buvo išaugintos dermatofitų rūšys, priklausančios *Trichophyton*, *Microsporum* ir *Epidermophyton* gentims. Rezultatai parodė visų dermatofitų skaičiaus mažėjimą. *Trichophyton* rūšys sudarė 56,9% 2001 metais ir tik 13% 2010 metais. *Microsporum* genties grybai 2001 metais sudarė 7,0%, o 2011 metais – 3,7% visų išaugintų rūšių. Nedidelis skaičius *Epidermophyton* genties grybų buvo aptiktas 2001–2003 metais ir sudarė 0,2–0,8 visų išaugintų grybų rūšių. 2004–2010 metų periodu *Epidermophyton* genties grybų rūšių nebuvo nustatyta.

Iš dermatofitų, dažniausiai išskirtas patogenas buvo *T. rubrum*, kuris 2001 metais sudarė 56,9%, o 2010 metais – tik 11,0% visų išaugintų grybų, tačiau šis sukėlėjas vis dar yra laikomas pagrindiniu. Taip pat buvo aptiktos ir tokios rūšys, kaip: *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans* ir *T. violaceum*. Per visą tyrimo laikotarpį buvo pastebėtas *T. mentagrophytes* sukeltų atvejų skaičiaus augimas nuo 0,2% 2001 metais iki 1,4% visų atvejų 2010 metais.

Taip pat buvo aptikta ir *Microsporum* genties grybų rūšių, *M. canis* ir *M. gypseum* sudarė 3,0 – 8,2% visų išaugintų grybų rūšių. Tyrimo laikotarpiu taip pat buvo nustatyta ir *E. floccosum* sukeltų atvejų, kurie sudarė 0,2 – 0,8% visų išaugintų sukėlėjų 2001 – 2003 metais.

Dažniausia ligos forma buvo *tinea unguium* (75,5%), o retesnės – *tinea capitis* (11,7%), *tinea corporis* (9,2%) ir *tinea pedis* (1,2%). *T. rubrum* buvo dažniausia rūšis, sukianti visus *tinea* tipus, o *T. violaceum* ir *T. gypseum* dažniausiai sukėlė *tinea corporis*, *tinea capitis* ir *tinea faciei*. *Tinea capitis* buvo dažniausias *M. canis* sukeltos infekcijos tipas [14].

## **1.4. Dažniausi grybinių odos ir jos darinių infekcijų sukėlėjai**

### **1.4.1. Dermatofitai**

#### **1.4.1.1. *Trichophyton* gentis**

Šią gentį iki 2016 metų sudarė 22 rūšys, identifikuotos remiantis morfologiniais požymiais. 2016 metais nustatius visų šių rūšių DNR sekas ir jas palyginus tarpusavyje bei su kitų genčių grybų rūšių DNR sekomis bei morfologiniais požymiais, *Trichophyton* gentyje buvo paliktos 16 rūšių.

***Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*.** *T. interdigitale* yra antropofilinis grybas, dažniausiai sukiantis *tinea pedis*, ypač vezikulinį jos tipą, *tinea corporis* ir kartais paviršines nago plokštelės infekcijas žmonėms. Nėra žinoma atveju, kai šis grybas sukeltų plaukų infekcijas *in vivo*, bet sukelia plaukų perforacijas *in vitro*. Paplitęs visame pasaulyje. Ši rūšis gali būti laikoma klonine zoofilinio *T. mentagrophytes* atšaka.

***Trichophyton mentagrophytes var. mentagrophytes.*** *T. mentagrophytes* tai zoofilinis, visame pasaulyje paplitęs grybas turintis platų spektrą gyvūnų šeiminių, tokių kaip pelė, jūrų kiaulytė, kengūra, katė, arklys, avis, triušis. Šis grybas sukelia uždegiminius odos ar skalpo pažeidimus žmonėms, dažniausiai kaimo, ūkių darbininkams. Taip galimos ir plaukų folikulų bei skalpo odos grybinės infekcijos, kurias dar labiau apsunkina tuo pačiu metu kylančios bakterinės infekcijos išsivystymas. Dažniausiai šis infekcijos tipas išsivysto barzdoje ar skalpo odoje. Grybo paveikti plaukai turi paviršinės plauko dalies infekcijos požymių, tačiau *Wood'o* lempos ultravioletinėje (UV) šviesoje ne fluorescuoja.

***Trichophyton rubrum.*** *T. rubrum* yra antropofilinis grybas, šiuo metu tapęs labiausiai paplitusiu žmonių dermatofitu. Šis grybas dažniausiai sukelia lėtines odos, nagų ir retais atvejais – skalpo infekcijas. Kartais infekcija gali pasireikšti ir granulominais pažeidimais. Užkrėsti plaukai ne fluorescuoja *Wood'o* lempos UV šviesoje ir mikroskopiškai gali atrodyti kaip paviršinės ar vidinės plauko dalies pažeidimas.

***Trichophyton tonsurans.*** *T. tonsurans* yra antropofilinis grybas, paplitęs visame pasaulyje, sukeliantis uždegiminius ar lėtinius neuždegiminius smulkius odos, nagų, skalpo pažeidimus. Tai dažnas *tinea capitis* sukėlėjas tarp Australijos aborigenų ir afroamerikiečių. Užkrėstiems plaukams būdingas vidinės dalies pažeidimas, jie ne fluorescuoja *Wood'o* lempos UV šviesoje [15].

#### 1.4.1.2. *Microsporum gentis*

Šią gentį sudaro tik trys *Microsporum* rūšys: *M. oudouinii*, *M. canis* ir *M. ferrugineum*. Kitos geofilinės ir zoofilinės rūšys, anksčiau laikytos *Microsporum* rūšimis buvo perkeltos į *Lophophyton*, *Nannizzia* ir *Paraphyton* gentis.

***Microsporum canis.*** *M. canis* yra zoofilinis dermatofitas, paplitęs visame pasaulyje, dažnai sukeliantis žmonių grybines infekcijas, ypač vaikams. Infekuoja plaukus, odą, retais atvejais – nagus. Katės ir šunys yra pagrindiniai infekcijos šaltiniai. Pakenktiems plaukams būdingi paviršinio sluoksnio infekcijos požymiai ir ryški geltonai žalios spalvos fluorescencija *Wood'o* lempos UV šviesoje.

Taip pat egzistuoja *M. canis var. distortum*, tai *M. canis* atmaina, turinti iškreiptą makrokonidijų variantą. Tai zoofilinis grybas, sukeliantis infekcijas katėms, šunims ir kitiems gyvūnams. Taip pat jis yra retas, būdingas Naujajai Zelandijai, Australijai ir Šiaurės Amerikai *tinea capitis* sukėlėjas. Klinikinė ligos išraiška yra identiška *M. canis* infekcijai. Infekuoti plaukai pasižymi

išorinio sluoksnio infekcijos požymiais ir fluorescuoja žalsvai geltona spalva *Wood'o* lempos UV šviesoje.

Dar viena *M. canis* atmaina yra *M. canis var. equinum*, kuri šiuo metu yra pripažinta genotipiniu *M. canis* sinonimu. Ši atmaina yra reta ir sukelia grybines infekcijas arkliams [16].

#### 1.4.2. Ne dermatofitų rūšys

##### 1.4.2.1. *Aspergillus* gentis

*Aspergillus* yra labai didelė gentis, apimanti apie 250 rūšių, kurios šiuo metu yra skirstomos į septynias pogentes, kurios yra suskirstytos į atskirus skyrius pagal susijusias rūšis.

Tradiciskai klinikinės mikrobiologijos laboratorijos kliaunasi morfologiniais požymiais paremtais šių rūšių atskyrimo metodais. Daugelis rūšių, ypač *Fumigati* eilės, persidengia morfologiniais požymiais su kitomis rūšimis, o tai lemia kelių genetiškai skirtingų rūšių klaidingą identifikavimą. Todėl buvo nuspręsta grupuoti šias rūšis su persidengiančiais morfologiniais požymiais į rūšių kompleksus, tam, kad laboratorijos galėtų taikyti labiau morfologiškai tikslų identifikavimą.

***Aspergillus flavus* kompleksas.** *Aspergillus* skyrius *Flavi* istoriškai apima rūšis, turinčias konidijų galvutes geltonai žaliuose – rauduose sklerotijos patamsėjimuose. *A. flavus* kompleksas apima 23 rūšis bei jų atmainas ir dvi lytines rūšis *Petromyces alliaceus* ir *P. albertensis*. Kelios *Flavi* skyriaus rūšys išskiria aflatoksinus, iš kurių aflatoksinas B yra labiausiai toksiškas iš visų natūraliai produkuojamų antrinių grybų metabolitų. Aflatoksinais yra daugiausia produkuojami *A. flavus* ir *A. parasiticus*, kurie auga ir vystosi ant beveik visų javų ir maisto produktų. Iš šio komplekso, *A. flavus* yra pagrindinis mediciniškai svarbus patogenas, sukeliantis žmonių ir gyvūnų infekcijas. Kitos *A. flavus* komplekso rūšys, tokios kaip *A. oryzae*, *A. avenaceus*, *A. tamari*, *A. alliaceus* ir *A. nomius* gali sukelti retas, dažniausiai paviršines infekcijas.

Tikslus *A. flavus* komplekso rūšių identifikavimas vis dar išlieka sudėtingas dėl persidengiančių biocheminių ir morfologinių charakteristikų. Remiantis morfologiniu apibūdinimu, rekomenduojama visas šias rūšis vadinti *A. flavus* kompleksu.

***Aspergillus flavus.*** *Aspergillus flavus* yra paplitęs visame pasaulyje ir normos atveju dirvos saprofitas, aptinkamas ant daugelio gendančių organinių medžiagų, tačiau aptinkamas ir kaip žmonių bei gyvūnų patogenas. Jis gali sukelti otitą, keratitą, ūminį ar lėtinį invazinį sinusitą bei plaučių ir

sistemines infekcijas imunosupresuotiems pacientams. *A. flavus* yra antras patogenas po *A. fumigatus*, sukeliantis žmonių invazines aspergiliozes.

**Fumigati skyrius.** *Aspergillus* skyrius *Fumigati* yra apibūdinamas atskirų konidijakočių, ant kurių stulpeliais išsidėsto konidijos - mėlynai žalio atspalvio ir kolbos formos pūslelės. Teleomorfinės rūšys, priklausančios *Aspergillus fischeri* eilės *A. fumigatus* grupei buvo perkeltos į *Neosartorya* gentį (*Trichocomaceae* šeima). *Fumigati* skyrius apima daugiau kaip 23 *Neosartorya* rūšis ir 10 anamorfinių rūšių. *Aspergillus fumigatus* yra svarbiausias žmonių patogenas lyginant su kitais šiam kompleksui priklausančiais grybais. Naujausi epidemiologiniai tyrimai parodė, jog kai kurias žmonių ir gyvūnų infekcijas gali sukelti *A. lentulus*, *A. fumigati*affinis, *A. felis*, *Neosartorya fischeri*, *N. pseudofischeri*, *N. udagawae*, *N. hiratsukae* ir *N. spinsosa*.

**Nigri skyrius.** Juodieji aspergilai, *Aspergillus* skyrius *Nigri* apima rūšis, turinčias vienalinijines ir dvinijines konidijų galvutes, sferinės – kriaušės formos pūsleles, lygiasienius stiebelius ir juodas ar juodo atspalvio konidijas. Ši grupė apima 26 rūšis, iš kurių *A. niger* yra dažniausiai išauginama rūšis. *A. niger* aptinkamas visuose žemynuose ir nėra reiklus aplinkos sąlygoms. Kitos šios grupės rūšys, siejamos su žmonių ir gyvūnų infekcijomis apima *A. acidus*, *A. aculeatus*, *A. brasiliensis* ir *A. tubingensis*. *Aspergillus niger* yra viena dažniausių ir lengviausiai identifikuojamų *Aspergillus* genties rūšių. Ši rūšis turi baltą – geltoną kultūros paviršių ant kurio vėliau pasirodo juodos konidijos. Ši rūšis dažnai aptinkama aspergiliomose ir yra dažniausia otomikozės sukėlėja. Taip pat ši rūšis dažnai būna laboratorinės taršos agentas (17).

2017 metais atlikta 42 epidemiologinių tyrimų apžvalga parodė, jog *Aspergillus spp.* sukeltų onichomikozės atvejų skaičius svyruoja nuo 1 iki 35% ir yra didesnis pacientams, sergantiems diabetu (71%) ir vyresnio amžiaus žmonėms, taip pat šios infekcijos labai dažnos tarp vaikų ir paauglių. Kojų nagai yra pažeidžiami 25 kartus dažniau nei rankų nagai. Dažniausios sukėlėjų rūšys yra: *A. flavus*, *A. terreus* ir *A. niger*. Kitos retesnės sukėlėjų rūšys gali būti: *A. tubingensis*, *A. sydowii*, *A. alliaceus*, *A. candidus*, *A. versicolor*, *A. unguis*, *A. persii*, *A. sclerotiorum*, *A. uvarum*, *A. melleus*, *A. tamarii* ir *A. nomius*. Klinikinis *Aspergillus spp.* sukeltų infekcijų pasireiškimas nėra specifinis, bet dažniausiai būdinga distalinė – lateralinė onichomikozė [18].

#### 1.4.2.2. *Fusarium* gentis

Dauguma *Fusarium* rūšių yra dirvos grybai ir yra palitę visame pasaulyje. Kai kurie iš jų yra augalų patogenai, sukeliantys šaknų ir stiebo puvinius, cirkuliacinės sistemos ar vaisių pažeidimus.

Kelios rūšys yra svarbūs oportunistiniai žmonių patogenai, sukeliantys hialohifomikozes (ypač nudegusiems pacientams bei pacientams po kaulų čiulpų transplantacijos), mikožinį keratitą ir onichomikozę. Kitos rūšys sukelia sandėliuojamų produktų puvinius bei yra mikotoksinų gamintojos.

*Fusarium* gentis apima apie 300 filogenetiškai įvairių rūšių, 20 rūšių kompleksų ir devynias monotipines linijas. Daugiausia identifikuotų *Fusarium* oportunistinių patogenų priklauso *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* ir *Fusarium fujikuroi* kompleksams. *Fusarium* genties grybų identifikavimas yra apsunkintas dėl variacijos tarp kultūrų ir dėl to, jog ne visuomet išryškėja visi identifikavimui reikalingi požymiai.

***Fusarium oxysporum* kompleksas.** Šis kompleksas apima mažiausiai penkias filogenetiškai skirtingas rūšis ir sudaro apie 20% *Fusaria* sukeliamų žmonių infekcijų. Visos rūšys yra plačiai paplitę, dirvožemio kilmės patogenai, sukeliantys augalų vytimą, puvinius ir kitas sekinančias augalų ligas. Kai kurie iš šių grybų taip pat yra svarbūs kliniškai, nes sukelia lokalizuotas ar giliausias invazines gyvybei pavojingas infekcijas žmonėms ir gyvūnams. Pacientų su vidutine ir sunkia neutropenija mirtingumas šių infekcijų atvejų siekia 100%.

***Fusarium solani* kompleksas.** *Fusarium solani* sudaro apie 45 filogenetiškai skirtingų rūšių kompleksą, iš kurių apie 20 rūšių yra susiję su žmonių infekcijomis. Šis kompleksas apima mažiausiai 60 rūšių ir sukelia apie 50% visų *Fusaria* sukeliamų žmonių infekcijų. Visos rūšys yra dirvos kilmės patogenai, plačiai paplitę pasaulyje, sukeliantys įvairias augalų ligas. Kelios rūšys, dažniausiai *F. keratoplasticum*, *F. petroliphilum*, *F. Lichenicola* ir *F. Solani* yra kliniškai svarbios, sukeliančios lokalizuotas ar invazines, gyvybei pavojingas žmonių ir gyvūnų ligas [19].

### 1.4.3. Į mieliagrybius panašūs grybai

#### 1.4.3.1. *Candida* gentis

Neseniai buvo atlikti keli taksonominiai pertvarkymai ir daugelis gerai žinomų *Candida* rūšių buvo pervadintos ir perkeltos į kitas gentis. Šio rūšys yra: *Pichia kudriavzevii* (buvo *Candida krusei*), *Meyerozyma guilliermondii* (*Candida guilliermondii*), *Clavispora lusitaniae* (*Candida lusitaniae*), *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefyr*), *Diutina catenulata* (*Candida catenulata*), *Diutina rugosa* (*Candida rugosa*), *Wickerhamomyces anomalus* (*Candida pelliculosa*), o *Candida glabrata* ir *Candida parapsilosis* buvo pripažinti rūšių kompleksais.

Kelios rūšys gali būti etiologiniai agentai, dažniausiai tai *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ir *Pichia kudriavzevii* (buvusi *C. krusei*). Visos šios rūšys kartu



sukelia >95% žmonių infekcijų. Taip pat gali būti išauginama ir daugelis kitų šios genties rūšių. Visos šios rūšys yra plačiai paplitusios ir natūraliai aptinkamos ant žmogaus kūno.

***Candida albicans*.** *Candida albicans* yra gleivinių membranų ir virškinamojo trakto komensalas. Taip pat ši rūšis aptinkama ir gamtinėje aplinkoje, užterštoje žmonių ir gyvūnų išmatomis, vandenyje, dirvoje, ore, ant augalų.

***Candida glabrata* kompleksas.** Neseniai *Candida glabrata* buvo pripažinta kaip rūšių kompleksas, susidedantis iš *C. glabrata*, *C. bracarensis* (2006) ir *C. nivariensis* (2005). Šios trys rūšys fenotipiškai nesisikiria ir yra geriausiai atskiriamos naudojant molekulinis metodus.

***Candida parapsilosis* kompleksas.** Neseniai *Candida parapsilosis* buvo pripažinta keturių rūšių kompleksu: *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* ir *Lodderomyces elongisporus*. Šios keturios rūšys yra fenotipiškai neatskiriamos ir geriausiai identifikuojamos naudojant vidinio transkribuojamo tarpiklio sekvenavimą ar MALDI-TOF analizę.

***Candida tropicalis*.** *Candida tropicalis* yra pagrindinis septicemijos ir išplitusios kandidozės sukėlėjas. Taip pat šis grybas aptinkamas kaip normali žmogaus gleivinių ir odos flora, bei aplinkos mėginių: fekalijų, krevėčių, kefyro ir dirvos flora [20].

#### 1.4.3.2. *Pichia* gentis

Dvi rūšys, anksčiau priskirtos *Candida* genčiai, neseniai buvo perkeltos į *Pichia* gentį. Tai buvo *Pichia kudriavzevii* (anksčiau *Candida krusei*) ir *P. norvegensis* (anksčiau *C. norvegensis*).

***Pichia kudriavzevii*.** *Pichia kudriavzevii* yra siejama su kai kuriomis kūdikių diarėjos formomis ir kartais su sisteminėmis ligomis. Taip pat literatūros duomenimis, šis grybas kolonizuoja virškinamąjį traktą, kvėpavimo takus, šlapimo takus pacientams su granulocitopenija. Taip pat *P. kudriavzevii* buvo išauginta iš alaus, pieno produktų, nuo odos, iš gyvūnų ir paukščių išmatų [21].

#### 1.4.3.3. *Clavispora* gentis. *Clavispora lusitaniae*

*Clavispora lusitaniae* yra išplitusios kandidozės, septicemijos ir pielonefrito priežastis. Pirmąjį kartą šis grybas buvo išaugintas iš šiltakraujų gyvūnų virškinamojo trakto. Taip pat šio grybo buvo aptikta ir aplinkos mėginiuose: kukurūzų miltuose, citrusinių vaisių žievelėse, vaisių sultyse ir karvių sergančių mastitu piene [22].

#### 1.4.3.4. *Meyerozyma gentis*. *Meyerozyma guilliermondii*

*Meyerozyma guilliermondii* buvo išauginta iš daugelio žmonių infekcinės medžiagos pasėlių, dažniausiai – odos kilmės. Taip pat šis grybas natūraliai aptinkamas ant sveikos odos, jūros vandenyje, gyvūnų išmatose, figose, pasukose, odoje, žuvyje ir aluje [23].

#### 1.4.3.5. *Trichosporon gentis*

Šiai genčiai priklauso šešios kliniškai reikšmingos rūšys: *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides* ir *T. ovoides*. Kitos rūšys, sukeliančios žmonių ir gyvūnų infekcijas gali būti: *T. dermatis*, *T. domesticum*, *T. faecale*, *T. jirovecii*, *T. loubieri* ir *T. mycotoxinovorans*.

*Trichosporon* rūšys yra nedidelė dalis normalios odos floros ir yra plačiai paplitusios gamtoje. Šios rūšys yra dažnai siejamos su *tinea blanca* (plaukų grybine infekcija) bei kitomis oportunistinėmis imunosupresuotų pacientų infekcijomis. Išplitusias infekcijas dažniausiai sukelia *T. asahii* (75%) ir jos buvo siejamos su leukemija, organų transplantacija, daugybine mieloma, aplazine anemija, limfoma, minkštųjų audinių navikais ir AIDS. Išplitusios infekcijos dažniausiai labai plačiai, pažeidžia kepenis, blužnį, plaučius ir virškinamąjį traktą. Ne imunosupresuotiems pacientams dažniausiai šis grybas sukelia endooftalmitą po chirurginio kataraktos pašalinimo, endokarditą po širdies vožtuvų protezavimo, peritonitą pacientams, kuriems atliekama nuolatinė peritoninė dializė bei intraveninių narkotikų vartotojams [24].

Buvo aprašyta ir *T. mucoides* sukeltų onichomikozės atvejų. Pavyzdžiui, 2015 metais buvo aprašytas 76 metų kaukazietiškos kilmės vyro onichodistrofijos atvejis. Pacientas sirgo cukriniu diabetu (II tipo) [25].

#### 1.4.3.6. *Rhodotorula gentis*

Šios genties grybai yra dažnai nustatomi gamtiniai bazidiomicetiniai mieliagrybiai, aptinkami dirvoje, vandenynų ir ežerų vandenyje, vaisių sultyse, piene, ant dušo užuolaidų ir dantų šepetėlių. Šiuo metu *Rhodotorula* genčiai priklauso 46 rūšys, iš kurių trys yra patogenai, retais atvejais sukeliantys žmonių ligas. Šios rūšys yra: *R. mucilaginosa*, *R. glutinis* ir *R. minuta*.

*Rhodotorula mucilaginosa* yra oru plintantis odos, plaučių, šlaipimo ir išmatų teršalas. *R. mucilaginosa* yra žinomas grybinio peritonito sukėlėjas pacientams, kuriems atliekama pastovi ambulatorinė peritoninė dializė. Tai dažniausiai įvyksta dėl kolonizuotų kateterių ar dializės aparatų

ir kolonizacijos šaltinio pašalinimas dažniausiai baigiasi simptomų išnykimu. Ši rūšis yra dažniausia infekcijų sukėlėja (74 – 79%), antra pagal dažnumą rūšis yra *R. glutinis* (7,7%) [26].

Buvo aprašyta *R. mucilaginosa* sukeltų onichomikozės atvejų. Vienas iš jų buvo nustatytas 38 metų vyrui, kuriam buvo stebimi pabalę visų rankų pirštų nagai. Pacientas dirbo mokytoju ir dažnai naudodavo šlapią kempinę lentai valyti. Pasėlio rezultatai bei molekulinis tipavimas parodė, jog infekciją sukėlė *R. mucilaginosa* [27].

#### **1.4.3.7. Scopulariopsis gentis**

Dauguma šios genties grybų yra dirvos grybai, dažnai išskiriami iš maisto produktų, popieriaus ir kitų medžiagų. Taip pat šie grybai gana dažnai gali būti laboratorinės taršos sukėlėjais. Keletas šios genties grybų rūšių buvo pripažintos onichomikozę bei hialohifomikozę sukeliančiomis rūšimis. Dažniausiai klinikinėse laboratorijose išauginamos grybų rūšys yra *S. brevicaulis*, *S. gracilis*, *S. brumptii*, *Microascus cinereus*, *S. candida* kompleksas ir *Microascus cirrosus* [28].

## 2. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

### **Tiriamųjų imtis:**

Tyrimo metu analizuoti VšĮ Vilniaus Universiteto Ligoninės Santaros Klinikų Mikrobiologijos laboratorijoje 2014–2018 metais atliktų 3165 teigiamų nagų, odos, plaukų pasėlių bei mikroskopinių tyrimų duomenys.

Tyrimo metu analizuotos grybų rūšys buvo identifikuotos MALDI-TOF metodu ir / arba remiantis jų makroskopiniais bei mikroskopiniais požymiais.

Pacientai buvo suskirstyti į 5 amžiaus grupes, pagal žmogaus amžiaus ir gyvenimo tarpsnius, kurie išskiriami pagal biologinius kriterijus – iki 12 metų (ankstyvoji ir antroji vaikystė), nuo 13 iki 20 (paauglystė ir vėlyvoji paauglystė), nuo 21 iki 49 (suaugusio žmogaus tarpsnis), nuo 50 iki 64 (pagyvenusio žmogaus amžius) ir daugiau nei 65 metų (senatvė).

### **Tyrimo metodai:**

1. Mokslinės literatūros analizė;
2. Tyrimo metodikų analizė;
3. Surinktų tyrimų duomenų statistinė analizė;
4. Eksperimentas.

### **Tyrimo eiga:**

Tyrimas buvo atliktas VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje nuo 2017 m. rugsėjo iki 2019 metų gegužės mėnesio.

1. Tyrimo pradžioje buvo analizuojama mokslinė literatūra, susipažinta su tyrimo metodikomis;
2. Atlikta pacientų nagų, plaukų, odos mikrobiologinių pasėlių bei mikroskopinio tyrimo duomenų retrospektyvinė analizė, jie apibendrinti, palyginti, rezultatai pateikti diagramose bei lentelėse.
3. Atliktas 50-ies grybų, išaugusių nagų, plaukų, odos mikrobiologiniuose pasėliuose rūšių identifikavimas MALDI-TOF metodu, jautrumo nustatymas diskų difuzijos ir minimalios slopinančios koncentracijos metodais;
4. Palyginti tyrimo metodai: mikroskopinis tyrimas ir mikrobiologinis pasėlis;
5. Atliktas 30-ies tirtų grybų identifikavimas MALDI-TOF tiesioginio perkėlimo ir ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodais, bei šių metodų palyginimas;

6. Suformuluotos darbo išvados ir pasiūlymai.

## 2.1. Tiriamosios medžiagos paėmimas

**Tyrimų grupė:** Odos pleiskanų, plaukų, nagų ėminiai pasėliui ar mikroskopiniam tyrimui.

### Ėminys:

- Odos pleiskanos;
- Plaukai;
- Nagai.

### Ėminių talpyklos:

- *Eppendorf* tipo mėgintuvėlis ar sterilus sandariai užsukamas indelis;
- Uždengiama *Petri* lėkštelė, kurios dangtelis pritvirtinamas lipnia juosta;
- Medžiaga, skirta mikroskopiniam tyrimui dedama ant objektinio stiklelio ir uždengiama kitu objektiniu stikleliu, stikleliai sutvirtinami lipnia juosta, dedami į sandarų konteinerį.

### Paciento paruošimas tyrimui:

1. Odos ar nagų prieš tyrimą negalima tepti tepalais;
2. Kiek galima ilgiau nekirpti nagų, kad tyrimui būtų galima nukirpti kuo daugiau nago;
3. Prieš tyrimą nenušveisti pleiskanų ir suragėjusio epidermio, kad būtų galima nugramdyti kuo daugiau pleiskanų arba nukirpti suragėjusio epidermio;
4. Prieš imant ėminį odą ir nagus reikia nuvalyti dezinfekciniu tirpalu, skirtu odai.

### Ėminio paėmimas:

1. Ėminius ima medicinos darbuotojai, kuriems tai atlikti leidžia jų medicinos normos;
2. Odos pleiskanos, odos nuograndos imamos neaštriu, steriliu skalpeliu, prieš tai jį nuvalius dezinfektantu, skirtu odai (2 pav.);



**2 pav.** Odos nuograndų paėmimas [29].

3. Mikozinio pažeidimo viduryje aptinkama mažai grybinių struktūrų, todėl pataloginė medžiaga ėminiui imama iš pažeidimo židinio kraštu;
4. Išburkusios raginio sluoksnio atplaišos ir paviršiniai pūsleliniai dariniai imami pincetu;
5. **Odos pleiskanų ar nuograndų** reikia paimti ne mažiau kaip 5 mm<sup>2</sup>;
6. **Pažeisti plaukai** yra išraunami pincetu, iš pažeidimo vietos išraunami deformuoti, aplūžinėję, pakeitę spalvą ir elastingumą plaukai; paimta pataloginė medžiaga susmulkinama, atkerpama iki dešimties 5 mm ilgio plaukų gabaliukų;
7. **Nagai** kerpami naudojant manikiūrines žirkles, kurios prieš ėminio paėmimą nuvalomos dezinfekciniu tirpalu, skirtu odai (3 pav.).



**3 pav.** Nago ėminio paėmimas [30].

Vienam ėminiui (vienam nagui) ištirti reikia iki 10 kruopos dydžio (2-3 mm storio ir 2-3 mm ilgio) nago gabaliukų (4 pav.);



**4 pav.** Tinkamas tiriamosios medžiagos kiekis [31].

8. Jei pažeistų nagų plokštelės gilieji sluoksniai nugramdomi ir tyrimui paimami **purieji raginiai audiniai**, tuomet šių nuogrاندų reikia paimti ne mažiau nei 5 mm<sup>2</sup> (5 pav.);



**5 pav.** Nago plokštelės giliųjų sluoksnių ėminio paėmimas [31].

9. Patologinė medžiaga turi būti susmulkinama. Susmulkinti ėminiai dermatomikozijų sukėlėjų pasėliui imami į sterilų užsukamą indelį, mikroskopiniam tyrimui – į 1,5 ml talpos mėgintuvėlį su dangteliu ar uždengiamą *Petri* lėkštelę, kurios dangtelis pritvirtinamas lipnia juosta. Jei tyrimui imami kelių nagų ėminiai, ar pažeisto nago ėminiai (iki 10 gabalėlių) paimti nuo skirtingų pirštų, jie turi būti dedami į atskirus mėgintuvėlius, pažymint, kurios kojos / rankos, kuris nagas buvo paimtas tyrimui;
10. **Ėminys odos grybelio mikroskopiniam tyrimui:**

10.1. **Odos nuograndos, pleiskanos, skutmenos** dedamos ant objekcinio stiklelio ir uždengiamos kitu objekciniu stikleliu, stikleliai sutvirtinami lipnia juosta ir dedami į sandarų konteinerį. Taip pat tiriamoji medžiaga gali būti imama į *Eppendorf* tipo mėgintuvėlį ar *Petri* lėkštelę, kurios dangtelis sandariai užklijuojamas lipnia juosta (6 pav.);



**6 pav.** Odos nuograndų ėminio paėmimas [31].

10.2. **Pažeisti nagai mikroskopiniam tyrimui** dedami į sterilų, užsukamą indelį ar 1,5 ml talpos *Eppendorf* tipo mėgintuvėlį su dangteliu arba uždengiamą *Petri* lėkštelę, kurios dangtelis pritvirtinamas lipnia juosta (7 pav.);

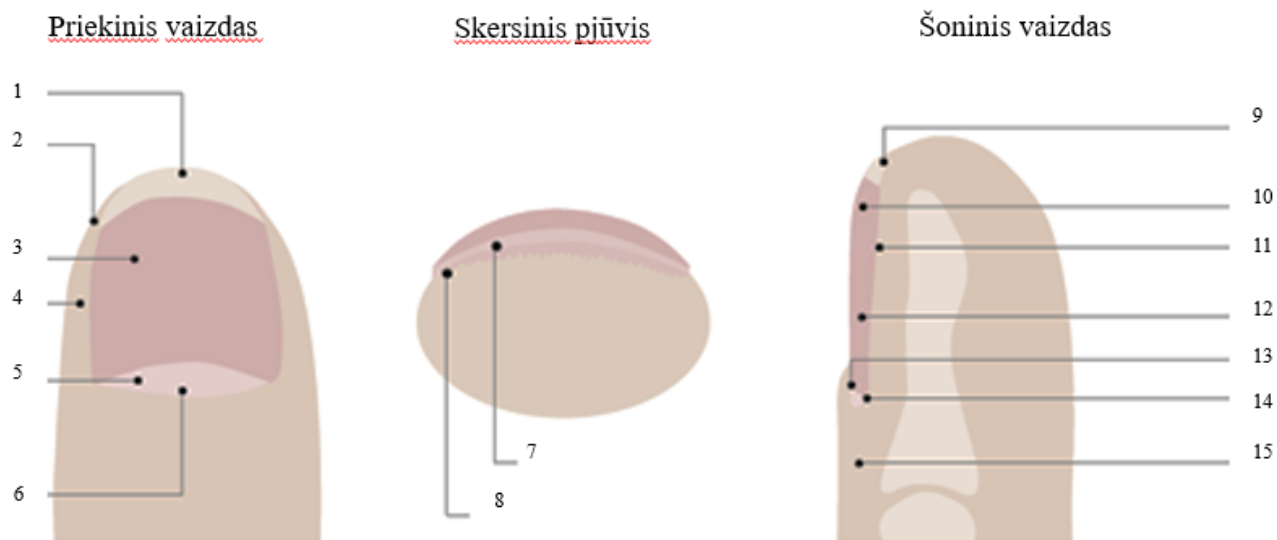


**7 pav.** Nagų ėminys Eppendorf tipo mėgintuvėlyje (autorius nuotrauka).

11. Ėminys į laboratoriją pristatomas per 24 valandas, laikomas 18 – 25 °C temperatūroje [32].



## Nago dalys, imamos tyrimui:



1 – Laisvasis nago kraštas;

2 – Antnagis;

3 – Nago plokštelė, dengianti nago guolį (rausvas);

4 – Šoninis guolio epitelis (perionychium);

5 – Pusmėnulis (lunula);

6 – Kutikulė (eponychium);

7 – Nago guolio epitelis (hyponychium);

8 – Šoninė vaga;

9 – Laisvasis nago kraštas;

10 – Nago plokštelė;

11 – Nago guolis;

12 – Pusmėnulis;

13 – Kutikulė;

14 – Nago šaknis;

15 – Mantija

8 pav. Nago dalys, imamos tyrimui [33].

## 2.2. Nagų, odos nuograndų, pleiskanų, plaukų mikrobiologinis pasėlis

### 2.2.1. Pirminiam tiriamosios medžiagos pasėliui naudojamos mikrobiologinės terpės

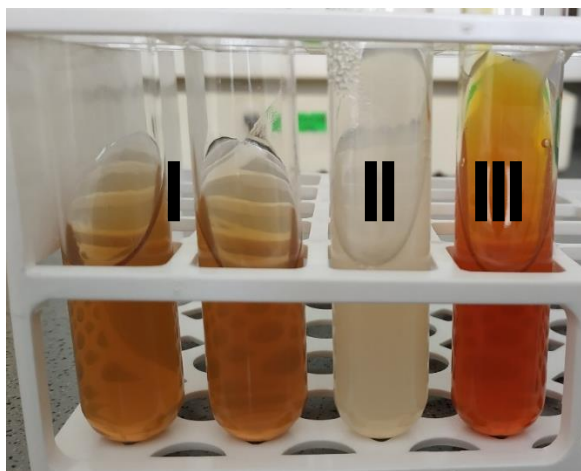
1 lentelė. Pirminiam tiriamosios medžiagos pasėliui naudojamos mikrobiologinės terpės ir jų paskirtis [34-36].

Terpės pavadinimas	Sudėtinės medžiagos	Paskirtis
Saburo agaras	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Mikologinis peptonas;</li> <li>✓ Gliukozė;</li> <li>✓ Agaras;</li> <li>✓ 5% levomicetino spiritinis tirpalas.</li> </ul>	<p>Dermatofitų ir kitų grybų rūšių kultivavimas.</p>

<p><b>Kukurūzų miltų agaras</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Kukurūzų miltų ekstraktas;</li> <li>✓ Agaras;</li> <li>✓ 5% levomicetino spiritinis tirpalas.</li> </ul>	<p>Agaras skirtas mikologiniam <i>Candida albicans</i> chlamidosporų augimo skatinimui bei rūšies identifikavimui.</p>
<p><b>Dermatofitų agaras</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Sojų peptonas;</li> <li>✓ Gliukozė;</li> <li>✓ Fenolio raudonasis;</li> <li>✓ Agaras;</li> <li>✓ Dermatofitų suplementas.</li> </ul>	<p>Dermatofitų rūšių identifikavimui pagal spalvos pokyčius (į raudoną spalvą – augant <i>T. rubrum</i> ir kt.).</p>

### 2.2.2. Odos ir jos darinių pasėlio atlikimo eiga

1. Gavus tiriamąją medžiagą sutikrinami paciento identifikaciniai duomenys siuntimo lape ir ant tiriamosios medžiagos talpyklos;
2. Ant pasėliui skirtų mėgintuvėlių užrašomas tyrimui suteiktas laboratorijos identifikacinis numeris, pasėlio sėjimo data;
3. Tiriamoji medžiaga išsėjama į keturis mėgintuvėlius (9 pav.): 2 mėgintuvėliai Saburo agaro (I), 1 mėgintuvėlis kukurūzų miltų agaro (II) ir 1 mėgintuvėlis dermatofitų agaro (III);

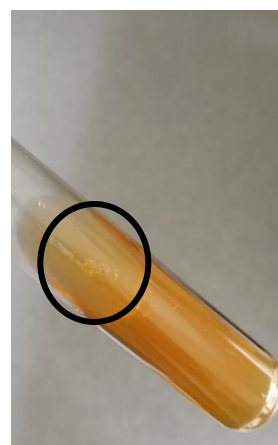


**9 pav.** Tyrimui naudojamų terpių mėgintuvėliai (autoriaus nuotrauka).

4. Tiriamoji medžiaga į mėgintuvėlį perkeliama naudojant 1 ar 10 mikrolitrų tūrio sterilias mikrobiologines kilpeles (10 pav.), prieš tai jas staigiu judesiu įsmeigus į agarą (11 pav.), kad sudrėktų jų paviršius ir tiriamoji medžiaga galėtų prikibti;

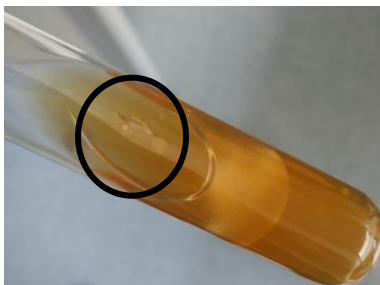


**10 pav.** Mikrobiologinės kilpelės (autoriaus nuotrauka).



**11 pav.** Kilpelės išmeigimo vieta (autoriaus nuotrauka).

5. Įvertinamas tiriamosios medžiagos kiekis ir ji tolygiai paskirstoma į mėgintuvėlius, kilpele įterpant ją į agarą (12 pav.);



**12 pav.** Į agarą įterptas tiriamo nago gabalėlis (autoriaus nuotrauka).

6. Mėgintuvėliai dedami į stovėlį, kuris patalpinamas į 28 °C temperatūros termostatą, kuriame vyksta inkubacija, trunkanti 14 parų (13 pav.);



**13 pav.** Inkubacija termostate (autoriaus nuotrauka).

7. Po 14 parų mėgintuvėliai išimami iš termostato, įvertinamas grybų augimas juose (14–15 pav.);



**14 pav.** *T. rubrum* augimas dermatofitų terpėje (autoriaus nuotrauka).



**15 pav.** *Candida* genties grybų augimas Sabouraud agarė (autoriaus nuotrauka).

8. Išaugusios grybų kultūros identifikuojamos remiantis morfologinėmis savybėmis, mikroskopija, panaudojant chromogeninį *Candida* agarą (4 lentelė) ar MALDI-TOF identifikavimo metodą;
9. Priklausomai nuo nustatytos grybų rūšies atliekamas jautrumo priešgrybiniams vaistams nustatymas diskų difuzijos ir minimalios slopinančios koncentracijos (*MIC*) metodais;
10. Jautrumo nustatymui naudojamos terpės: *Mueller Hinton* agaras su gliukoze ir metileno mėliu, RPMI agaras (3 lentelė);

### 2.2.3. Jautrumui priešgrybiniams vaistams nustatyti naudojamos terpės

2 lentelė. Jautrumui priešgrybiniams vaistams nustatyti naudojamos terpės [37-38].

TERPĖS PAVADINIMAS	SUDĖTINĖS MEDŽIAGOS	PASKIRTIS
<b>MUELLER HINTON AGARAS SU GLIUKOZE IR METILENO MĖLIU</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Jautienos buljonas;</li> <li>✓ Kazeino hidrolizatas rūgštimis (peptonas);</li> <li>✓ Krakmolai;</li> <li>✓ Agarai;</li> <li>✓ Gliukozė;</li> <li>✓ Metileno mėlis.</li> </ul>	Naudojama jautrumui priešgrybiniams vaistams nustatyti diskų difuzijos metodu.
<b>RPMI AGARAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ RPMI 1640 su MOPS 0,165 M ir L- glutaminu;</li> <li>✓ Gliukozė;</li> </ul>	

	✓ Agaras.	Naudojama jautrumui priešgrybiniams vaistams nustatyti minimalios slopinančios koncentracijos (MIC) metodu.
--	-----------	---

#### 2.2.4. Terpės skirtos *Candida* genties grybams identifikuoti

3 lentelė. Terpės skirtos *Candida* genties grybams identifikuoti [39].

TERPĖS PAVADINIMAS	TERPĖS SUDĖTIS	PASKIRTIS
<b>CHROMOGENINIS CANDIDA AGARAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Peptonai;</li> <li>✓ Augimo faktoriai;</li> <li>✓ Neorganinės druskos;</li> <li>✓ Chloramfenikolis;</li> <li>✓ Chromogeninis mišinys;</li> <li>✓ Agaras.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tai selektyvi terpė, skirta <i>Candida</i> genties grybų išskiriami ir preliminariam kliniškai svarbių <i>Candida</i> genties grybų (<i>C. albicans</i>, <i>C. tropicalis</i> ir <i>C. krusei</i>), identifikavimui.</li> <li>✓ Spalvinė <i>Candida</i> rūšių indentifikacija gaunama dėl reakcijos su specifiniais baltymineis substratais.</li> </ul>

#### 2.2.5. Terpių kokybės kontrolė (remiantis europoje galiojančiomis normomis EN 12322, EN ISO 11133, CLSI ir EUCAST standartais bei LMC Mikrobiologijos laboratorijos vidaus kokybės normomis)

4 lentelė. Naudojamų terpių kokybės kontrolė [34-39].

Terpė	Tikrinama savybė	Normos ribos
<b>Dermatofitų agaras</b>	Spalva	Tamsiai gelsva
	Skaidrumas	Skaidri
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	5,6 ± 0,2
	Mikroorganizmų augimas	Geras šių padermių augimas:

		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Geras <i>T. rubrum</i> ATCC 28188 – terpės spalvos pokytis į raudoną;</li> <li>✓ <i>Microsporum gypseum</i> ATCC 24102 terpės spalvos pokytis į raudoną;</li> <li>✓ <i>E. coli</i> WDCM 00012/ATCC 25922 augimo inhibicija;</li> </ul>
	Inkubacijos sąlygos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 30 ± 1 °C;</li> <li>✓ aerobinės sąlygos.</li> </ul>
<b>Saburo agaras</b>	Spalva	Šviesiai gelsva
	Skaidrumas	Skaidri
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	5,6 ± 0,2
	Mikroorganizmų augimas	<p>Geras šių padermių augimas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Geras <i>C. albicans</i> WDCM 00054;</li> <li>✓ <i>A. brasiliensis</i> WDCM 00053;</li> <li>✓ <i>S. cerevisiae</i> WDCM 00058.</li> </ul>
	Inkubacijos sąlygos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>C. albicans</i> 32,5 ± 2,5 °C, 24-48 h;</li> <li>✓ Kitiems minėtiems grybams - 22,5 ± 2,5 °C, 5 dienas, aerobinės sąlygos.</li> </ul>
<b>Kukurūzų miltų agaras</b>	Spalva	Balkšva
	Skaidrumas	Skaidri
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	6,0 ± 0.2
	Mikroorganizmų augimas	<p>Geras šių padermių augimas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>T. rubrum</i> ATCC 28188;</li> <li>✓ <i>C. albicans</i> ATCC 90028;</li> </ul> <p>Inhibuojamas šių padermių augimas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>S. aureus</i> ATCC 29213 ;</li> <li>✓ <i>E. coli</i> ATCC 25922.</li> </ul>

	Inkubacijos sąlygos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>T. rubrum</i> ATCC 28188 - 28 °C ± 1 °C, 6 paros;</li> <li>✓ <i>C. albicans</i> ATCC 90028 - 28 °C ± 1 °C, 3 paros;</li> <li>✓ <i>S. aureus</i> - 36 ± 1 °C, 2 paros;</li> <li>✓ <i>E.coli</i> ATCC 25922 – 36 ± 1 °C, 2 paros.</li> </ul>
<b>Mueller Hinton agaras su gliukoze ir metileno mėliu</b>	Spalva	Gintarinė
	Skaidrumas	Skaidri
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	7,3 ± 0,2
	Mikroorganizmų augimas	<p>Geras šių padermių augimas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>C. albicans</i> ATCC 10231;</li> <li>✓ <i>C. krusei</i> ATCC 14243.</li> </ul>
	Inkubacijos sąlygos	35 ± 2 °C, 24h, aerobinės sąlygos
	Mikroorganizmų suspensijos paruošimas bei naudojamas jautrumo nustatymo metodas	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 0,5 <i>Mac Farlando</i> suspensija;</li> <li>✓ diskų difuzijos metodas</li> </ul>
<b>RPMI agaras</b>	Spalva	Rausva
	Skaidrumas	Skaidrus
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	7,1 ± 0,1
	Mikroorganizmų augimas bei kontrolinių MIK zonų ribų atitikimo nustatymas	<p>Geras šių padermių augimas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>C. albicans</i> ATCC 6258;</li> <li>✓ <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019;</li> <li>✓ <i>C. albicans</i> ATCC 90028 augimas;</li> <li>✓ Priešgybinių preparatų MIK zonų atitikimas gamintojo nurodytoms zonoms (X lentelė).</li> </ul>
	Inkubacijos sąlygos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 48h;</li> <li>✓ 35 °C, aerobinės sąlygos.</li> </ul>

	Mikroorganizmų suspensijos paruošimas bei naudojamas jautrumo nustatymo metodas	✓ 0,5 <i>Mac Farlando</i> suspensija; ✓ Minimalios slopinančios koncentracijos (MIC) metodas.
<b>Chromogeninis Candida agaras</b>	Spalva	Lengvai gelsva
	Skaidrumas	Skaidri
	Terpės išvaizda	Standi
	pH 25 °C temperatūroje	6,0 ± 0,2
	Mikroorganizmų augimas	✓ <i>C. albicans</i> ATCC 10231 – geras augimas, žaliai melsvomis kolonijomis; ✓ <i>C. tropicalis</i> NCPF 8841 – geras augimas, mėlynai pilkomis kolonijomis.
Inkubacijos sąlygos	✓ 35 – 37 °C; ✓ 48 h.	

### 2.3. Išaugintų grybų kultūrų identifikavimo metodai

#### 2.3.1. Identifikavimas remiantis morfologinėmis grybų rūšių savybėmis

Mikrobiologiniuose odos ir jos darinių pasėliuose išaugę grybai yra identifikuojami remiantis jų makroskopinėmis (kolonijų augimas, dydis, spalva, paviršiaus išvaizda, konsistencija ir kt.) bei mikroskopinėmis (konidijų buvimas / nebuvimas, jų forma, kiekis, išsidėstymas ir kt.) savybėmis (2 priedas).

#### 2.3.2. Mikroskopinis tyrimas naudojant kalio hidroksidą

Šis mikroskopijos būdas yra naudojamas greitam grybo forminių elementų aptikimui klinikiniame mėginyje. Jo metu suardomas tiriamasis mėginys ir išryškėja bei tampa geriau matomos įvairios grybo sudedamosios dalys tiesioginės mikroskopijos metu.

Kalio hidroksidas (KOH) yra stipriai šarminė medžiaga. Sumaišius tiriamąjį mėginį (oda, plaukai, nagai, seilės ir kt.) su 20% KOH tirpalu, jis suminkština, ištirpdo ir išvalo audinius (pavyzdžiui keratiną esantį odoje ir jos dariniuose), supančius grybą ir padeda mikroskopu geriau matyti hifus bei konidijas.



Šis metodas naudojamas diagnostinėse laboratorijose kaip pagrindinis atrankinis metodas, skirtas nustatyti grybines infekcijas. KOH metodas yra tinkamas atrankai, jo metu galima matyti grybo elementus, tačiau sunku tiksliai identifikuoti grybo rūšį. Tikslesniam rūšies identifikavimui reikėtų naudoti išaugintą grybo kultūrą, ar pasitelkti molekulinis metodus.

#### **Procedūra:**

1. Ant gauto tyrimui objekcinio stiklelio užlašinamas lašas 20% KOH tirpalo;
2. Mėginys, ar jo smulkesnės dalys sustumiamos į tirpalo lašą, uždengiama objektiniu stikleliu;
3. Jei nėra galimybės mėginį ištirti iš karto, paruoštas objekcinis stiklis gali būti dedamas uždengiamą Petri lėkštelę kartu su drėgnu vatos ar filtrinio popieriaus gabalėliu ir uždengiamas dangteliu. Taip mėginys bus apsaugotas nuo išdžiūvimo;
4. Norint gauti ryškų mikroskopinį vaizdą, tiriami plaukų gabalėliai neturėtų būti ilgesni nei 5 mm, o odos nuograndos, atplaišos, nukirpti nagų gabalėliai ar jų nuograndos – ne ilgesni nei 2 mm ilgio bei skersmens;
5. Mėginiui ištirpus, jis tiriamas naudojant 10x ir 40x padidinimo objektyvus, uždarius kondensoriaus lęšio membraną tiek, kad būtų matomas vaizdas su geru kontrastu;
6. Jei naudojamas per stiprus šviesos šaltinis, kontrastas nebus tinkamas ir grybo elementai nebus matomi;
7. Mikroskopijos metu ieškoma grybo elementų (konidijų, sporų ir kt.);
8. Rasti grybo elementai pažymimi tyrimo protokole (pvz.: rasta / nerasta, aptikta / neaptikta) [40].

#### **2.3.3. MALDI-TOF identifikacijos metodas**

MALDI-TOF masių spektrometrija yra švelnioji jonizacijos technika, leidžianti atlikti stambių, nelakių molekulių, tokių kaip ląstelės vidiniai baltymai, jonizaciją ir garinimą. Ši technika padeda atskirti vienodai įkrautus jonus, todėl analičių masės-krūvio santykis atspindi jų masės vertę.

Kiekvienas MALDI-TOF masių spektrometras yra sudarytas iš trijų pagrindinių dalių. Pirmoji dalis yra jonų šaltinis, kuris leidžia vykdyti jonizacijai ir perveda molekulių jonus į dujinę būseną. Antroji dalis yra masių analizatorius, kuris atskiria jonus pagal jų masės-krūvio santykį. Trečioji dalis yra prietaisas, aptinkantis atskirtus jonus (detektorius).

Pradinė medžiaga, reikalinga mikroorganizmų klasifikacijai naudojant „IVD MALDI Biotyper“ yra viena kultūros kolonija, išaugusi agarų lėkštelėje / mėgintuvėlyje. Mėginys (kolonija ar jos dalis) yra užnešamas ant specialios MALDI plokštelės duobutės ir išdžiovinamas kambario temperatūroje.

Mėginiui išdžiūvus, jis padengiamas nedideliu kiekiu (1 mikrolitru) matricos tirpalo. Matricos sudėtyje esantis organinis tirpiklis ekstrahuoja baltymus iš mikroorganizmų. Dažniausiai išsiskiria didelė ribosominių baltymų koncentracija. Matricai baigus kristalizuotis, mėginių paruošimo procedūra yra baigta ir galima atlikti jų analizę.

MALDI TOF masių spektrometrija yra pagrindinis analizės metodas, naudojamas „IVD MALDI Biotyper“. Lazeris, esantis MALDI TOF masių spektrometre apšviečia matricos – mėginio junginį išgarindamas matricą ir atpalaiduodamas teigiamai įkrautus baltymus – tai vadinama „švelniuotu“ jonizacijos procesu. Matricos gebėjimas absorbuoti ultravioletinę šviesą ir pernešti protonus ant išsiskyrusių baltymų yra labai svarbus tyrimo procesui.

Baltymų jonai yra elektrostatiškai pagreitinami nedideliu atstumu ir patenka į lėkio vamzdelį greičiu, proporcingu jų masei. Skirtingos masės baltymų jonai patenka į lėkio vamzdelį skirtingais laiko tarpais. Fiksuoiant laiką (nanosekundžių diapazone) nuo baltymų jonų sužadavimo iki atsakomojo detektoriaus signalo, galima labai tiksliai išmatuoti baltymų jonų greitį ir jį konvertuoti į tikslią molekulinę masę.

MALDI Biotyper analizė generuoja daugiausia ribosominių baltymų būdingą masę ir krūvio intensyvumo pasiskirstymą. Masių spektras yra specifinis daugeliui mikroorganizmų rūšių ir jį galima naudoti kaip skiriamąjį bruožą (molekulinį „piršto atspaudą“). Nežinomi mikroorganizmai gali būti identifikuoti lyginant jų masių spektrą su daugybe kitų masių spektrų, esančių MALDI TOF etalonų duomenų bazėje.

Pirmasis duomenų apdorojimo etapas yra gauto masių spektro pavertimas smailių (pikų) sąrašais. Antrame etape šie smailių sąrašai yra lyginami su kiekvienu IVD MALDI Biotyper etalonų bibliotekos įrašu.

Smailių ir etalonų palyginimui yra naudojamas panašumo algoritmas, kuris padeda apskaičiuoti tris skirtingas pagrindines mėginio ir etaloninio spektro charakteristikas:

1. Pirmiausia skaičiuojamas etaloninio spektro signalų, turinčių sutampantį ar artimą atitikmenį nežinomame spektre, skaičius. Visiškas nesutapimas vertinamas 0 balų, o visiškasis sutapimas – 1 balu;

2. Vėliau nustatomas nežinomo spektro signalų skaičius, turintis sutampantį atitikmenį. Visiškas nesutapimas vertinamas 0 balų, visiškai sutapimas – 1 balu;
3. Galiausiai yra apskaičiuojama visų sutampančių signalų porų simetrija. Jei didelio intensyvumo etaloninio spektro signalai sutampa su nežinomo spektro didelio intensyvumo signalais ir mažo intensyvumo signalai taip pat sutampa, gaunama didelė simetrijos reikšmė ir vadinamosios koreliacijos matricos reikšmė artima vienetui. Jei tarp sutampančių porų signalų nėra jokios simetrijos, gaunami rezultatai, artimi nuliui.

Šios trys reikšmės sudauginamos tarpusavyje, o rezultatas padauginamas iš 1000. Po to skaičiuojamas gautos reikšmės logaritmas. Šio skaičiavimo rezultatas yra balų skaičius. Didžiausia galima balų reikšmė yra 3.

Ranguojant balų skaičius, aukščiausioje pozicijoje atsiduria geriausia koreliacija. Kuo didesnis gautų balų skaičius, tuo labiau tikėtinas yra mikroorganizmų rūšies identifikavimas. Balų skaičiai yra rodomi kompiuterio ekrane ir žymimi skirtingomis spalvomis, todėl galima greitai ir paprastai įvertinti rezultatus.

Balų skaičius  $\geq 2$  gali būti vertinamas kaip tikėtinas mikroorganizmų rūšies identifikavimas su tam tikrais apribojimais. Svarbu atkreipti dėmesį į tai, kad MALDI Biotyper pateikiamos balų vertės išreiškia tikimybę, kuria nežinomas mikroorganizmas atitinka IVD MALDI Biotyper etalonų bibliotekoje įrašytą rūšį. Dėl šios priežasties labai svarbu, kad vertintų ir rezultatus interpretuotų patyręs klinikinės mikrobiologijos specialistas. Taip pat labai svarbu vertinant ir interpretuojant IVD MALDI Biotyper pateikiamus duomenis atsižvelgti ir į visą turimą taikytiną informaciją apie mėginį ir pacientą.

#### **2.3.4. Microflex masių spektrometras**

VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje MALDI-TOF MS yra vienas iš naujausių analizatorių. Jis pakeičia daugelį anksčiau naudotų rutininių indentifikacijos metodų.

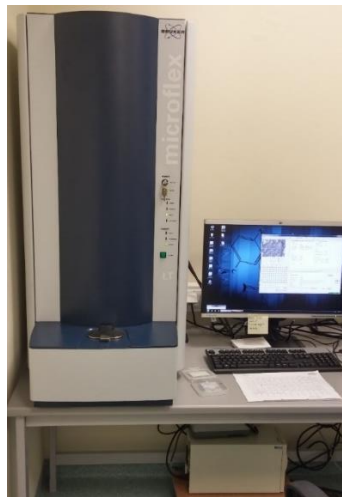
Nuo 2007 metų, kai Bruker pristatė MALDI Biotyper mikrobiologijos laboratorijoms, jis tapo metodu, pakeičiančiu tradicinius biocheminius mikroorganizmų identifikavimo metodus.

Stalinis microflex serijos prietaisas (16 pav.) – tai masių spektrometras, naudojantis technologiją, vadinamą MALDI (matrica paremta lazerio desorbcija/jonizacija) t.y. lėkio trukmės masių spektrometrija. Prietaise įmontuoti Bruker microScout jonizatorius, vertikaliai nukreiptas jonų lėkio vamzdelis, turintis optinį reflektorių ir dvigubus mikrokanalinės plokštelės detektorius.

Prietaisas yra pritaikytas automatiniam baltymų identifikavimui ir charakterizavimui, biomarkerių aptikimui, oligonukleotidų kokybės kontrolei ir VNP (vieno nukleotido polimorfizmas) genotipavimui.

Trumpai tariant, MALDI-TOF – tai masių spektrometrijos metodu paremtas tyrimo metodas, leidžiantis greitai, tiksliai, paprastai ir taupant lėšas identifikuoti įvairias mikroorganizmų rūšis.

MALDI-TOF mikroorganizmų biblioteka yra nuolat papildoma, plečiama ir tobulinama, tai leidžia šiam analizatoriui lengvai, be konkurencijos išstumti tradicinius biocheminius tyrimo metodus.



**16 pav.** Microflex masių spektrometras (autorius nuotrauka).

**Bruker Microflex MALDI – TOF yra sudarytas iš dviejų pagrindinių komponentų (16 pav.):**

1. Masių spektrometro;
2. Duomenų sistemos (kompiuterio).

**Microflex masių spektrometras turi tris pagrindinius paviršius (16 pav.):**

1. Valdymo skydą;
2. Įdėjimo liuką (angą su dangčiu);
3. Galinį skydą;

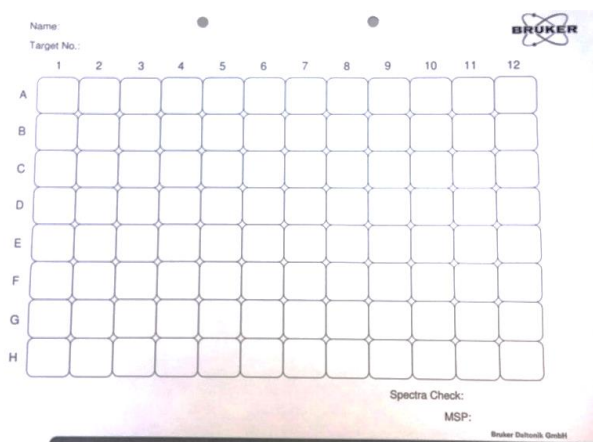
Bruker MALDI Biotyper mikrobiologinės identifikacijos sistema padeda taupyti lėšas ir laiką, lyginant su tradiciniais biocheminiais testais bei atliekanti aukšto patikimumo mikroorganizmų identifikaciją.

### 2.3.4.1. Mėginių ruošimas tiesioginio perkėlimo metodu

Tiesioginio perkėlimo metodas yra pagrindinis mėginių ruošimo metodas. Medžiaga yra ląstelės, užaugintos agarų lėkštelėje esančioje vienoje kolonijoje.

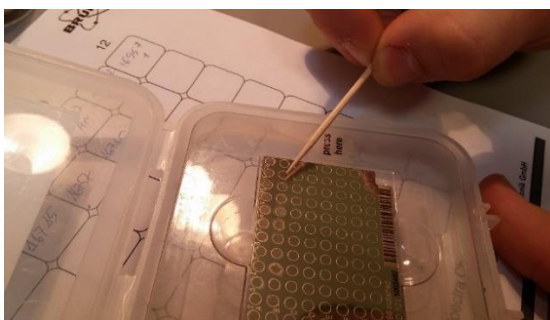
#### Procedūra:

1. Įsitikinama, kad mėginys turi unikalų identifikacijos kodą, priskirtą naudojant laboratorijos mėginių registracijos sistemą, jis pažymimas MALDI plokštelės mėginių lape (17 pav);



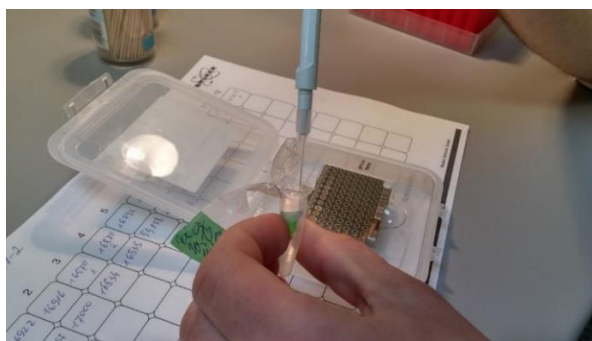
**17 pav.** MALDI plokštelės mėginių registracijos lapas (autorius nuotrauka).

2. Ant išvalytos MALDI plokštelės, naudojant pipetės antgalius, sėjimo kilpeles ar medinius pagaliukus plonu sluoksniu užtepama biologinės medžiagos (18 pav.);

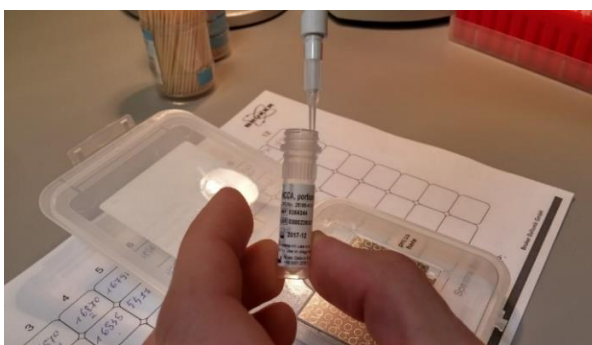


**18 pav.** Analizuojamos kolonijos užnešimas ant MALDI plokštelės (autorius nuotrauka).

3. Patikrinama ar kiekvieno mėginio padėtis MALDI plokštelėje sutampa su duomenimis, įvestais mėginių registravimo sistemoje, įvertinama preparato išvaizda. Jis turi būti homogeniškas;
4. Ant kiekvieno mėginio užlašinama po 1  $\mu$ l 98% skruzdžių rūgties, jai išdžiūvus lašinama 1  $\mu$ l IVD HCCA matricos tirpalo (19-21 pav.).



**19 pav.** Mėginių apdorojimas 98% trifluoracto rūštimi (autoriaus nuotrauka).



**20 pav.** Mėginių padengimas matrica (autoriaus nuotrauka).



**21 pav.** Mėginių padengimas matrica (autoriaus nuotrauka).

5. Matrica padengtam mėginiui leidžiama išdžiūti patalpos temperatūroje. Preparatas turi būti homogeniškas;
6. Dar kartą patikrinama, ar mėginiai tinkamai išdėstyti ir ar matricos lašeliai tarpusavyje nesusilieję;
7. Paruošta mėginių plokštelė nedelsiant dedama į MALDI-TOF masių spektrometrą (22 pav.).



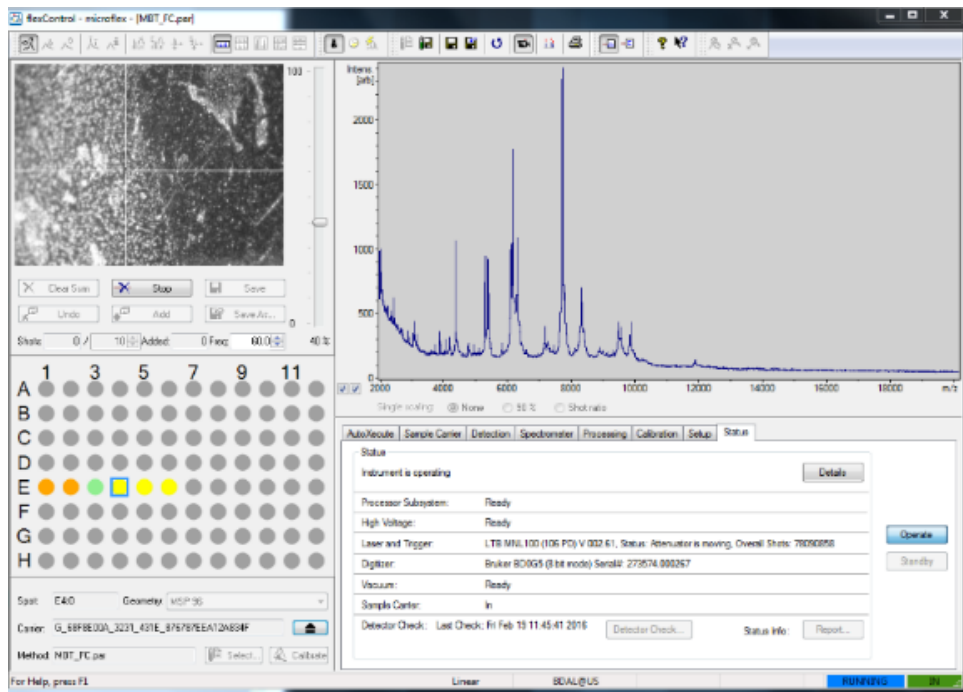
**22 pav.** Mėginių plokštelės įdėjimas į analizatorių (autoriaus nuotrauka)

8. Įvedami mėginių identifikaciniai duomenys (23 pav.);

Position	Chip	Creation Date	Name [optional]	ID	Description [optional]
A6	0	4/14/2016 7:24:29	A6	167000014962	
A7	0	4/14/2016 7:24:30	A7	167000014903	
A8	0	4/14/2016 7:24:29	A8	167000015078	
A9	0	4/14/2016 7:24:29	A9	167000014838	
A10	0	4/14/2016 7:24:29	A10	167000014804	
A11	0	-	A11		

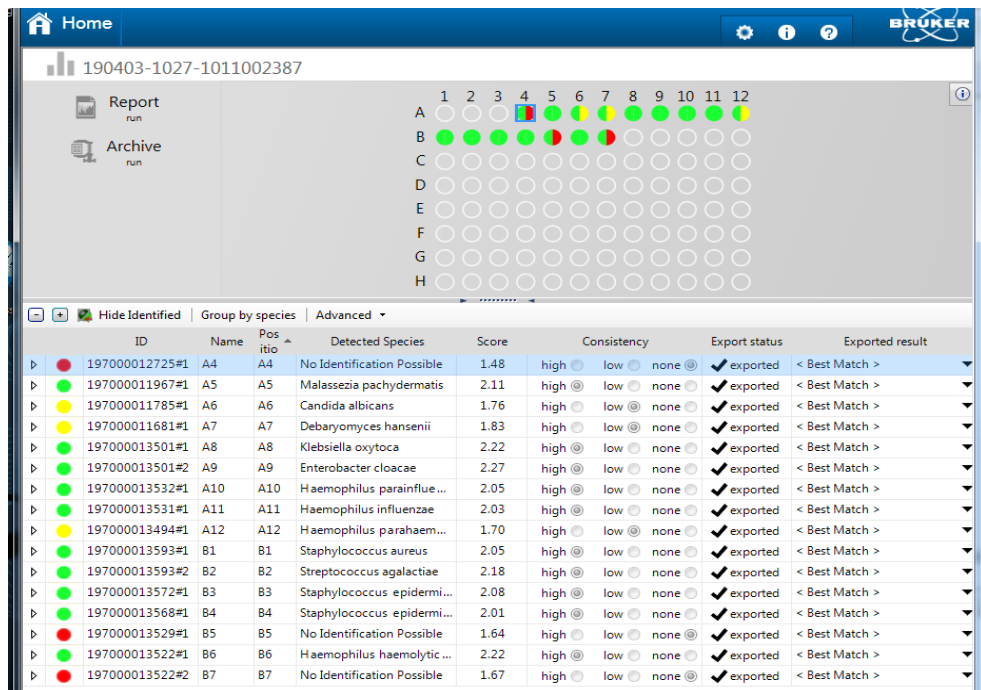
**23 pav.** Tyrimų identifikacinių kodų įvedimas (autoriaus nuotrauka).

9. Įvedus reikiamus identifikacinius duomenis, pradedama mėginių analizė. Analizatorius vidutiniškai identifikuoja 200 mėginių per valandą. Analizės metu atsivėrusiame lange matomos masių spektro kreivės, kurios yra lyginamos su etalonais, saugomais duomenų bazėje (24 pav.);



24 pav. Analizės eiga (autoriaus nuotrauka).

10. Pasibaigus analizei, atsiveria langas, kuriame matomi jos rezultatai (25 pav.).



25 pav. Analizės rezultatų langas (autoriaus nuotrauka).

11. Atspausdinamas identifikavimo rezultatų protokolas (26 pav.)



### Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
A4 (-) (C)	197000012725# 1 (Standard)	No Organism Identification Possible	1.48	No Organism Identification Possible	1.35
A5 (+++)(A)	197000011967# 1 (Standard)	Malassezia pachydermatis	2.31	Malassezia pachydermatis	1.99
A6 (+) (B)	197000011785# 1 (Standard)	Candida albicans	1.76	No Organism Identification Possible	1.65
A7 (+) (B)	197000011681# 1 (Standard)	Debaryomyces hansenii	1.83	No Organism Identification Possible	1.48
A8 (+++)(A)	197000013501# 1 (Standard)	<a href="#">Klebsiella oxytoca</a>	2.32	<a href="#">Klebsiella oxytoca</a>	2.32

Result overview table—continued on next page

26 pav. Analizės rezultatų protokolas (autoriaus nuotrauka).

#### 2.3.4.1. Mėginių ruošimas ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodu

Ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodas taikomas nepavykus mikroorganizmų identifikuoti tiesioginio perkėlimo metodu.

##### Procedūra:

1. Naudojamas tas pats mėginys, kurio nepavyko identifikuoti tiesioginio perkėlimo metodu;
2. Įsitikinama ar mėginys yra pažymėtas unikaliu identifikavimo kodu, naudojamu laboratorijoje;
3. Viena mikroorganizmų kolonija (pakanka vienos sėjimo kilpelės) perkeliama į Eppendorf mėgintuvėlį su 300 μl HPLC grynumo klasės vandens;
4. Įsiurbiant ir išstumiant pipete, maišant sūkurinėje maišyklėje gaunama į Eppendorf mėgintuvėlį perkeltą ląstelių homogeniška suspensija;
5. Į gautą suspensiją įpilama 900 μl gryno (96%) etanolio ir mažiausiai vieną minutę maišoma sūkurinėje maišyklėje;

Ląstelių suspensija etanolyje gali būti tiesiogiai naudojama baltymų ekstrakcijai arba ne ilgiau kaip 6 mėnesius laikoma šaldiklyje, -18 °C temperatūroje. Be to šią suspensiją galima naudoti prireikus pergabenti deaktyvintus mikroorganizmus aplinkos temperatūroje, nes ji lieka stabili keletą dienų.

6. Vykdomas ląstelių centrifugavimas 2 minutes, 13000 aps./min. greičiu, nusiurbiamas supernatantas (paviršinis skysčio sluoksnis be nuosėdų);
7. Siekiant visiškai pašalinti etanolio likučius, dar kartą kartojamas 7 etapas, pakartotinai pipete nusiurbiamas supernatantas;

Ypač svarbu pašalinti visą etanolį, nes dėl jo likučių gali pakisti galutinių masių spektrų kokybė. Ruošiant „kritinių“ (pavyzdžiui, mažos ląstelių koncentracijos) mikroorganizmų mėginius, reikia patalpos temperatūroje keletą minučių džiovinti gautas nuosėdas.

8. Į Eppendorf mėgintuvėlį įpilama 30 µl HPLC grynumo klasės vandens ir 70 µl 100% skruzdžių rūgšties, gerai išmaišoma sukurinėje maišyklėje. Gautas mišinys yra 70% skruzdžių rūgšties vandeninis tirpalas;
9. Ant nuosėdų užpilama 50 µl 70% skruzdžių rūgšties vandeninio tirpalo ir gerai išmaišoma siurbiant ir išstumiant pipete bei maišant sukurinėje maišyklėje;
10. Pridedama 50 µl acetonitrilo ir siurbiant bei išstumiant pipete gerai išmaišoma;
11. Mikroorganizmų ekstraktas centrifuguojamas 2 minutes 13000 aps./min. greičiu;
12. Ant išvalytos MALDI plokštelės užlašinamas 1 µl mikroorganizmų ekstrakto supernatanto;
13. Patikrinama ar kiekvieno mėginio padėtis MALDI plokštelėje su duomenimis naudojamoje mėginių registracijos sistemoje;
14. Leidžiama mėginiui išdžiūti patalpos temperatūroje, patikrinama ar preparato išvaizda yra tinkama. Preparatas turi būti homogeniškas.
15. Ant kiekvieno mėginio užlašinama po 1 µl IVD HCCA matricos tirpalo;
16. Matrica padengtam mėginiui leidžiama išdžiūti patalpos temperatūroje, preparatas turi būti homogeniškas;
17. Dar kartą patikrinama ar mėginiai tinkamai išdėstyti plokštelėje ir ar tarpusavyje nesusilieję matricos lašeliai;
18. Paruošta mėginių plokštelė nedelsiant dedama į MALDI-TOF masių spektrometrą

#### **2.3.4.2. MALDI-TOF rezultatų interpretavimas ir tolesnė tyrimo eiga**

1. Peržiūrima, kokios grybų rūšys buvo identifikuotos;
2. Pagal grybo rūšį, remiantis EUCAST ir CLSI standartais parenkama, kokių priešgrybinių preparatų jautrumą numatoma tirti;
3. Jei standartuose nenumatyta jautrumo nustatymo galimybė, jis netiriamas, išrašomas galutinis atsakymas [41].

### 2.3.5. *Candida* genties grybų identifikavimas naudojant chromogeninį *Candida* agarą

Chromogeninis *Candida* agaras yra selektyvi ir diferencinė terpė, naudojama kliniškai svarbioms *Candida spp.* grybams auginti bei nustatyti galimą jų rūšį. Šis agaras leidžia identifikuoti tris grybų rūšis: *C. albicans*, *C. tropicalis* ir *C. krusei*. Terpės selektyvumas pasiekiamas į jos sudėtį pridėjus chloramfenikolio (antibiotikas). Chromatinė diferenciacija yra paremta grybo saveika su terpės sudėtyje esančiais specifiniais fermentiniais substratais bei kitomis specifinėmis reakcijomis.

#### Atlikimo metodika:

- Tiriamoji medžiaga ar grybo kultūra sėjama tiesiogiai į chromogeninio agarą lėkštelę naudojant mikrobiologines kilpeles;
- Lėkštelės inkubuojamos 35-37 °C temperatūroje;
- Rezultatai vertinami po 24 -48h.

#### Rezultatų vertinimas. Chromatinės grybų kolonijų charakteristikos vertinant augimą po 48 h inkubacijos (27 pav.):

1. Žalios, mėlynai žalios kolonijos – *C. albicans*;
2. Pilkai mėlynos kolonijos su violetiniu atspalviu ir/ar violetinės spalvos “aureole” – *C. tropicalis*;
3. Rožinės, rausvai violetinės, stambios, šiurkčiu paviršiumi, plintančios kolonijos – *C. krusei*;
4. Baltos, rožinės, rausvai violetinės kolonijos – kitos *Candida spp.* rūšys.

Rekomenduojama identifikavimą chromogeninio agarą metodu patvirtinti kitais identifikavimo metodais, kad būtų gauti patikimi rezultatai [39].



27 pav. *Candida* genties grybų identifikavimas naudojant chromogeninį agarą (autoriaus nuotraukos).

## 2.4. Jautrumo priešgrybiniams vaistams nustatymo metodai

Mieliagrybių jautrumui priešgrybiniams vaistams nustatyti gali būti naudojami diskų difuzijos ir minimalios slopinančios koncentracijos (MSK) metodai.

### Jautrumo nustatymo eiga:

1. Jei grybo kultūra yra gryna, 1 mikrolitro kilpele paimama jos dalis, telpanti į kilpelės tūrį;
2. Jei kultūra nėra gryna, pasirenkamos grybo kolonijos, kurios prieš tai buvo identifikuotos MALDI-TOF ar kitais metodais;
3. Iš paimtos grybo kolonijos ar kultūros dalies yra padaroma 0,5 McF suspensija 2 ml 0,9% NaCl tirpale (28 pav.);



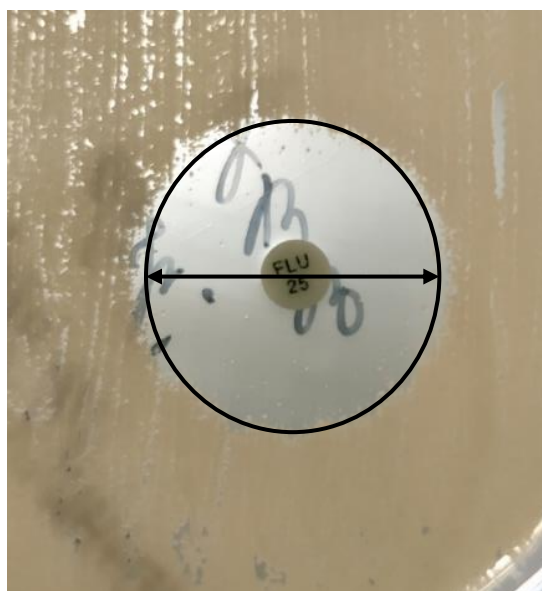
**28 pav.** Naudojamos priemonės (autoriaus nuotrauka).

4. Pagaminta suspensija išglaištoma tamponėliu *Mueller Hinton* agaro su gliukoze ir metileno mėliu ar RPMI agaro paviršiuje (priklauso nuo pasirinkto jautrumo nustatymo metodo);
5. Išglaisčius suspensiją, ant terpės paviršiaus dedami jautrumui nustatyti skirti diskai (29 pav.), MSK juostelės, lėkštelės patalpinamos į termostatą (35 °C), 24 – 48h;



**29 pav.** Terpės lėkštelė su uždėtais diskais [42].

6. Praėjus reikiamam inkubacijos laikui, lėkštelės išimamos iš termostato, matuojamos liniuote ir vertinamos diskų ir MSK juostelų slopinamųjų zonų ribos (pažymėtos apskritimais). Vertinama remiantis EUCAST arba CLSI standartais (1 lentelė): diskų slopinamosios zonos matuojamos milimetrais (30 pav., pažymėta rodykle), o MSK zonos – vertinamos pagal minimalią slopinančią koncentraciją (31 pav., pažymėta rodykle) [43-44].



**30 pav.** Diskų difuzijos metodo rezultatų vertinimas (autoriaus nuotrauka).



**31 pav.** MSK metodo rezultatų vertinimas (autoriaus nuotrauka).

7. Įvertinus jautrumą priešgrybiniams vaistams, išrašomas galutinis tyrimo atsakymas.

**1 lentelė. Jautrumo nustatymas remiantis CLSI ir EUCAST standartais bei gamintojo rekomendacijomis [45-47].**

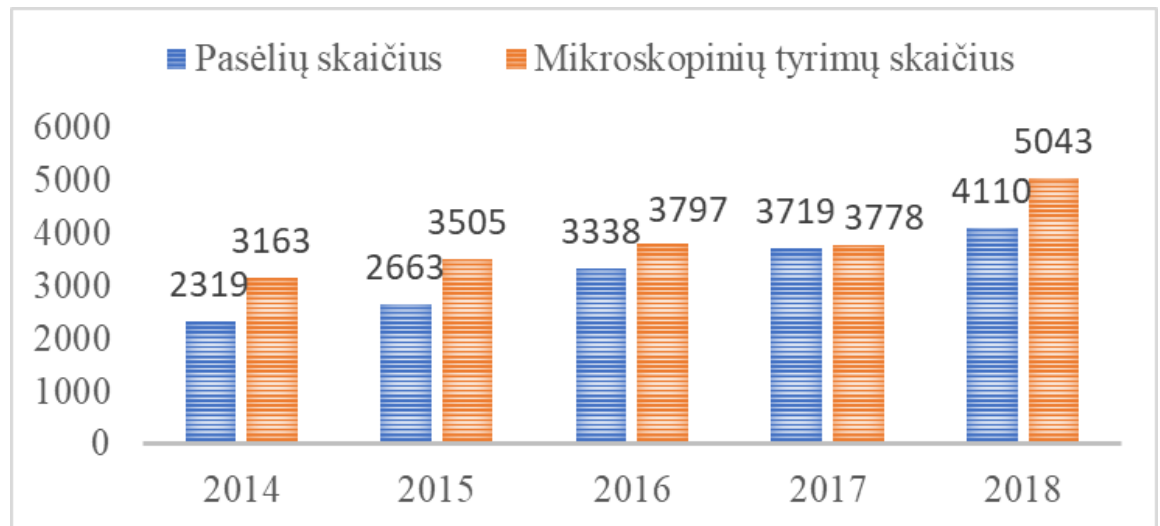
	MSK					Diskai					MSK					Diskai						
	CLSI			EUCAST		J	VJ	A	Vertini mas		CLSI			EUCAST		J	VJ	A	Vertini mas			
	J	VJ	A	J	A						J	VJ	A	J	A							
<b>Amfotericinas B</b>	Nėra					≥15	11 - 14	≤10	MAST	<b>Amfotericinas B</b>	≤0,25	0,5	≥1	≤0,016	>0,016	≥22	20 - 21	≤19	CLSI			
C. albicans			≤1	>1	<b>Mikafunginas</b>																	
C. glabrata			≤1	>1	C. albicans																	
C. tropicalis			≤1	>1	C. glabrata																	
C. krusei			≤1	>1	C. tropicalis																	
C. parapsilosis			≤1	>1	C. krusei																	
<b>Anidulafunginas</b>	≤0,25	0,5	≥1	≤0,03	>0,03	Nėra				C. parapsilosis	≤2	4	≥8	≤0,002	>2	≥16	14 - 15	≤13	CLSI			
C. albicans					C. guilliermondii					≤2	4	≥8	-	-	≥16	14 - 15	≤13					
C. glabrata	≤0,12	0,25	≥0,5	≤0,06	>0,06					<b>Posakonazolis</b>		Nėra		≤0,06	>0,06	Nėra						
C. tropicalis	≤0,25	0,5	≥1	≤0,06	>0,06									C. albicans								
C. krusei	≤0,25	0,5	≥1	≤0,06	>0,06									C. parapsilosis								
C. parapsilosis	≤2	4	≥8	≤0,002	>4					C. tropicalis			≤0,06	>0,06								
C. guilliermondii	≤2	4	≥8	Nėra		<b>Vorikonazolis</b>		Nėra		≤0,12	0,25 -0,5	≥1	≤0,12	≥0,12	≥17	15 - 16	≤14	CLSI				
<b>Kasprofuninas</b>	≤0,25	0,5	≥1	Nėra						≥17	15 - 16	≤14	C. albicans	≤0,12	0,25 -0,5	≥1	≤0,12		>0,12	≥17	15 - 16	≤14
C. albicans										-	-	-	C. krusei	0,5	1	≥2	-		-	≥15	13 - 14	≤12
C. glabrata	≤0,12	0,25	≥0,5					≥17	15 - 16	≤14	C. parapsilosis	≤0,12	0,25 -0,5	≥1	≤0,12	>0,12	≥17	15 - 16	≤14			
C. tropicalis	≤0,25	0,5	≥1					≥17	15 - 16	≤14	C. tropicalis	≤0,12	0,25 -0,5	≥1	≤0,12	>0,12	≥17	15 - 16	≤14			
C. krusei	≤0,25	0,5	≥1					≥13	11 -12	≤10	<b>Nistatinas</b>			-	-	≥21	15 - 20	≤14	MAST			
C. parapsilosis	≤2	4	≥8					≥13	11 -12	≤10	<b>Mikonazolis</b>			-	-	≥15	11 - 14	≤10				
C. guilliermondii	≤2	4	≥8			≥13	11 -12	≤10	<b>Ekonazolis</b>			-	-	≥15	11 - 14	≤10						
<b>Flukonazolis</b>	≤2	4	≥8	≤2	>4	≥17	14 - 16	≤13	<b>Ketokonazolis</b>			-	-	≥15	11 - 14	≤10						
C. albicans					Nėra		Nėra		<b>Klotrimazolis</b>			-	-	≥15	11 - 14	≤10						
C. glabrata	-	32	≥64	≤0,002					>32	-	≤15	≤14										
C. parapsilosis	≤2	4	≥8	≤2					>4	≥17	14 - 16	≤13										
C. tropicalis	≤2	4	≥8	≤2					>4	≥17	14 - 16	≤13										
Nesusiję su rūšimi	-	-	-	≤2	>4	-	-	-														
<b>Itrakonazolis</b>	Nėra			≤0,06	>0,06	Nėra																
C. albicans																						
C. parapsilosis										≤0,12	>0,12											
C. tropicalis										≤0,12	>0,12											

### 3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Retrospektyvinės analizės rezultatai

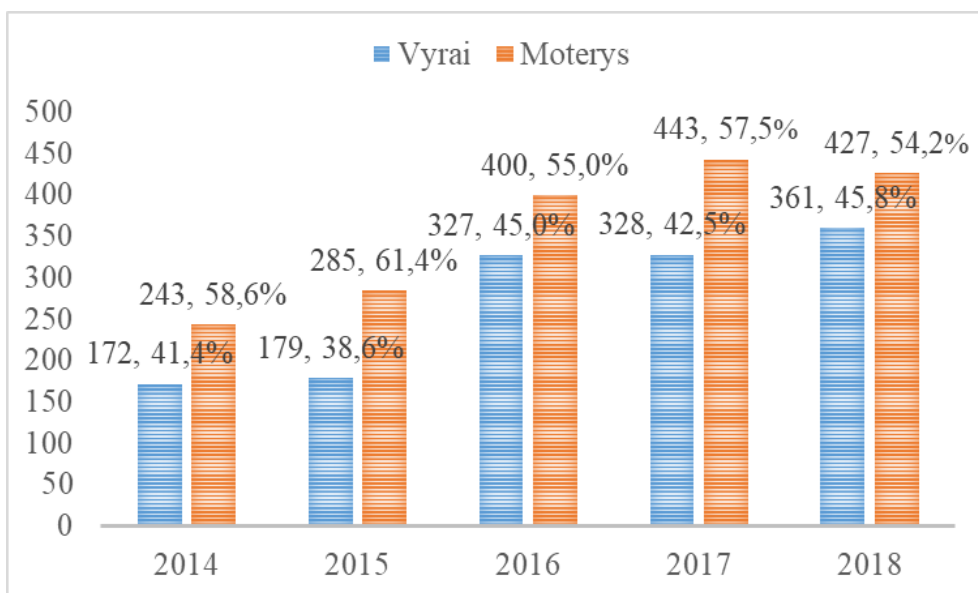
Tiriamuoju laikotarpiu buvo atlikti 16149 mikrobiologiniai pasėliai bei 19286 mikroskopiniai tyrimai grybui nustatyti. Atrinkti 3165 teigiami 2014-2018 metais tirti pacientų nagų, odos, plaukų, pleiskanų pasėliai, iš kurių 1550 buvo mikroskopiškai teigiami, 907 – mikroskopiškai neigiami, o 708 – mikroskopiškai netirti. Toliau buvo analizuojama atrinkta teigiamų pasėliuose mėginių imtis N=3165.

Išanalizavus 2014–2018 metų laikotarpio duomenis buvo stebėtas tyrimų skaičiaus augimas nuo 2014 metais atliktų 2319 pasėlių ir 3163 mikroskopinių tyrimų iki 2018 metais atliktų 4110 mikrobiologinių pasėlių ir 5043 mikroskopinių tyrimų (1 pav.)



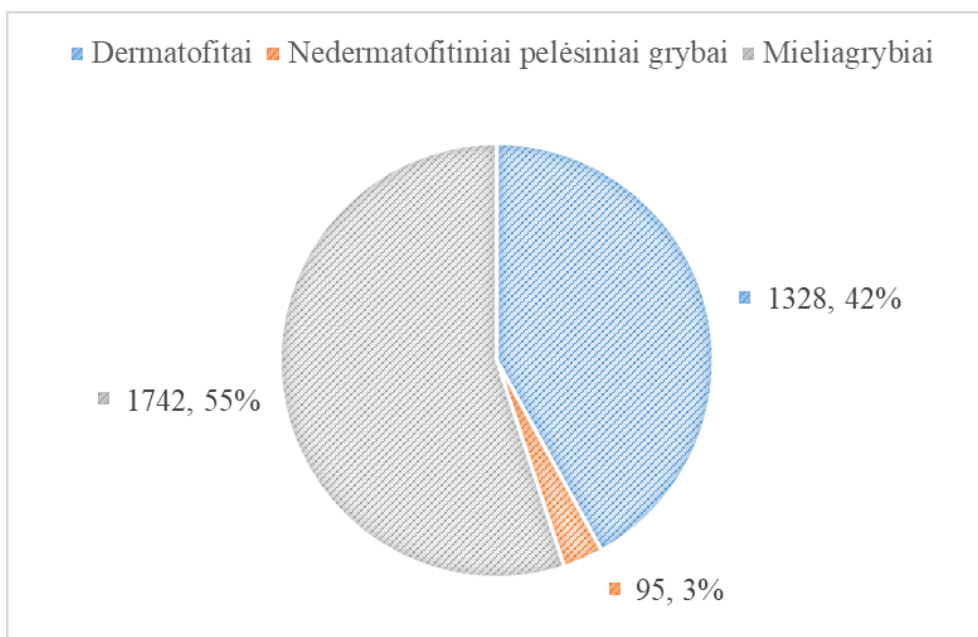
**1 pav.** Mikrobiologinių pasėlių ir mikroskopinių tyrimų skaičiaus kaita 2014–2018 m.

Analizuojant pacientų duomenis, nustatyta 43,2% (1367) pasėlių sudarė vyriškos lyties pacientų mikrobiologiniai pasėliai, 56,8% (1798) – moteriškos lyties pacientų mikrobiologiniai pasėliai. Pacientų amžiaus vidurkis buvo 49,2 ( $\pm 17.5$ ) metai, minimalus amžius – 1 metai, maksimalus – 91 metai. Vidutinis vyrų amžius buvo 48,2 metai, moterų – 50 metų. Lyčių pasiskirstymas pagal metus pateikiamas 2 paveikslėlyje.



**2 pav.** Lyčių pasiskirstymas skirtingais metais.

Visų tirtų grybų pasiskirstymas pagal tipus matomas 4 paveikslėlyje. Didžiausią tirtų grybų dalį sudarė mieliagrybiai (1740, 55%).



**3 pav.** Grybų tipų pasiskirstymas.

Rasti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp pacientų lyties bei pasėliuose išaugintų grybų tipo. Dermatofitai (746; 56,2%) ir nedermatofitiniai pelėsiniai (56; 58,9%) dažniau sukėlė infekcijas vyrams, o mieliagrybiai (1177; 67,6%) – moterims ( $p < 0,05$ ) (1 lentelė).



**1 lentelė.** Grybų tipų pasiskirstymas pagal pacientų lytį.

		Lytis		Iš viso
		Vyras	Moteris	
Grybų tipai	Dermatofitai	746	582	1328
		56,2%	43,8%	100,0%
	Nedermatofitiniai pelėsiniai grybai	56	39	95
		58,9%	41,1%	100,0%
	Mieliagrybiai	565	1177	1742
		32,4%	67,6%	100,0%
Iš viso		1367	1798	3165
		43,2%	56,8%	100,0%

Iš viso 2014–2018 metų laikotarpiu buvo išaugintos 57 skirtingos grybų rūšys, kurių sudėtis matoma 3 lentelėje. Dažniausia išauginta grybų rūšis buvo *T. rubrum* (1226, 38,7%), šiek tiek rečiau buvo išauginti nenustatytos rūšies *Candida spp.* grybai (671, 21,2%), *C. parapsilosis* (481, 15,2%), *C. albicans* (332, 10,5%), *C. tropicalis* (89, 2,8%) ir *M. canis* (42, 1,3%) (2 lentelė).

**2 lentelė.** Grybų rūšių pasiskirstymas.

Grybo rūšis	Išaugintų kultūrų skaičius	Išaugintų kultūrų skaičius (%)
<i>A. candidus</i>	1	0,03
<i>A. flavus</i>	7	0,22
<i>A. fumigatus</i>	15	0,47
<i>A. niger</i>	23	0,73
<i>A. sydowii</i>	1	0,03
<i>A. terreus</i>	1	0,03
<i>A. versicolor</i>	7	0,22
<i>Aspergillus spp.</i>	4	0,13
<i>C. albicans</i>	<b>332</b>	<b>10,49</b>
<i>C. allociferri</i>	1	0,03
<i>C. boidinii</i>	1	0,03
<i>C. catenulata</i>	1	0,03
<i>C. inconspicua</i>	2	0,06
<i>C. duobushaemulonii</i>	1	0,03
<i>C. glabrata</i>	<b>34</b>	<b>1,07</b>
<i>C. guilliermondii</i>	19	0,60
<i>C. intermedia</i>	1	0,03
<i>C. lusitaniae</i>	13	0,41

<i>C. metapsilosis</i>	3	0,09
<i>C. ortopsilosis</i>	1	0,03
<i>C. parapsilosis</i>	<b>481</b>	<b>15,20</b>
<i>C. pararugosa</i>	2	0,06
<i>C. saitoana</i>	1	0,03
<i>C. sphaerica</i>	1	0,03
<i>C. tropicalis</i>	<b>89</b>	<b>2,81</b>
<i>C. zeilanooides</i>	9	0,28
<i>Candida spp.</i>	<b>671</b>	<b>21,20</b>
<i>Cladosporium spp.</i>	1	0,03
<i>D. hansenii</i>	2	0,06
<i>F. oxysporum</i>	1	0,03
<i>F. solani</i>	1	0,03
<i>H. uvarum</i>	1	0,03
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	1	0,03
<i>M. canis</i>	<b>42</b>	<b>1,33</b>
<i>Metschnikowia pulcherima</i>	1	0,03
<i>Microsporium spp.</i>	2	0,06
<i>P. kudriavzevii</i>	29	0,92
<i>P. lilacinus</i>	5	0,16
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	3	0,09
<i>Penicillium spp.</i>	5	0,16
<i>R. mucilaginosa</i>	33	1,04
<i>Rhodotorula spp.</i>	5	0,16
<i>S. brevicaulis</i>	19	0,60
<i>Scopulariopsis spp.</i>	1	0,03
<i>T. interdigitale</i>	13	0,41
<i>T. mentagrophytes</i>	6	0,19
<i>T. mucoides</i>	3	0,09
<i>T. rubrum</i>	<b>1226</b>	<b>38,74</b>
<i>T. tonsurans</i>	5	0,16
<i>T. violaceum</i>	1	0,03
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	1	0,03
<i>Trichophyton spp.</i>	<b>33</b>	<b>1,04</b>
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	1	0,03
<i>Yarrowia lipolytica</i>	2	0,06
<b>Iš viso</b>	<b>3165</b>	<b>100,0</b>

Iš minėtų dažniausiai išaugintų grybų rūšių *T. rubrum* statistiškai reikšmingai dažniau išaugo vyrų pasėliuose (694, 50,8%), *Candida spp.* (477, 26.5% ), *C. parapsilosis* (304, 16.9%), *C. albicans* (266, 14.8%), *C. tropicalis* (48, 2.7%) – moterų pasėliuose ( $p < 0,05$ ) (3 lentelė).

**3 lentelė.** Grybų rūšių pasiskirstymas pagal pacientų lytį.

		Lytis		Iš viso
		Vyras	Moteris	
Grybų rūšys	<i>A. niger</i>	11	12	23
		0,8%	0,7%	0,7%
	<i>C. albicans</i>	66	266	332
		4,8%	14,8%	10,5%
	<i>C. guilliermondii</i>	7	12	19
		0,5%	0,7%	0,6%
	<i>P. kudriavsevi</i>	12	17	29
		0,9%	0,9%	0,9%
	<i>C. parapsilosis</i>	177	304	481
		12,9%	16,9%	15,2%
	<i>C. tropicalis</i>	41	48	89
		3,0%	2,7%	2,8%
	<i>Candida spp.</i>	233	477	710
		17,0%	26,5%	22,4%
	<i>M. canis</i>	23	21	44
		1,7%	1,2%	1,4%
	<i>R. mucilaginosa</i>	15	23	38
		1,1%	1,3%	1,2%
	<i>S. brevicaulis</i>	16	4	20
		1,2%	0,2%	0,6%
<i>T. rubrum</i>	694	532	1226	
	50,8%	29,6%	38,7%	
<i>Trichophyton spp.</i>	29	29	58	
	2,1%	1,6%	1,8%	
<i>C. glabrata</i>	10	24	34	
	0,7%	1,3%	1,1%	
<i>Aspergillus spp.</i>	14	7	21	
	1,0%	0,4%	0,7%	
<i>A. fumigatus</i>	8	7	15	
	0,6%	0,4%	0,5%	
Kiti grybai*	11	15	26	
	0,8%	0,8%	0,8%	
Iš viso	1367	1798	3165	
	100,0%	100,0%	100,0%	

\**Cladosporium spp.*, *D. hansenii*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Y. lipolytica*, *P. lilacinus*, *Penicillium spp.*, *T. mucoides*, *T. delbrueckii*, *W. anomalus*.

Taip pat buvo pastebėtas ryšys tarp pacientų amžiaus grupių ir pasėliuose išaugintų grybų tipo. Dermatofitų rūšys buvo dažniausios iki 12 metų amžiaus grupėje ( $p < 0,05$ ), mieliagrybių rūšys – virš 65 metų amžiaus grupėje ( $p < 0,05$ ), o nedermatofitinių pelėsinių grybų – 21-49 ir 50-64 metų amžiaus grupėse ( $p < 0,05$ ). Tai matoma 4 lentelėje.

**4 lentelė.** Grybų tipų pasiskirstymas pagal amžiaus grupes.

		Amžiaus grupės					Iš viso
		Iki 12 m.	13 – 20 m.	21 – 49 m.	50 – 64 m.	Virš 65 m.	
Grybų tipai	Dermatofitai	50	39	620	386	232	1327
		64,1%	45,3%	44,6%	40,6%	35,3%	42,0%
	Nedermatofitiniai pelėsiniai grybai	1	0	47	32	15	95
		1,3%	0,0%	3,4%	3,4%	2,3%	3,0%
	Mieliagrybiai	27	47	723	533	410	1740
34,6%		54,7%	52,0%	56,0%	62,4%	55,0%	
Iš viso		78	86	1390	951	657	3162
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Lyginant sukeltų pažeidimų lokalizaciją skirtingais tiriamojo laikotarpio metais, buvo nustatyta, jog kojų nagų pažeidimų skaičius statistiškai reikšmingai didėjo visą tyrimo laikotarpį. Rankų nagų pažeidimų skaičius kito skirtingais tyrimo metais nežymiai ir vidutiniškai sudarė 19,9% (622) atvejų. Kitų kūno vietų (odos, plaukuotos galvos dalies) pažeidimų skaičius visą tyrimo laikotarpį mažėjo ( $p < 0,05$ ) (5 lentelė).

**5 lentelė.** Pažeidimo lokalizacijos pasiskirstymas pagal pasėlio atlikimo metus.

		Metai					Iš viso
		2014	2015	2016	2017	2018	
Pažeidimo lokalizacija	Kojų nagai	286	319	510	576	588	2279
		68,9%	68,8%	74,2%	74,7%	74,6%	72,9%
	Rankų nagai	69	107	127	162	157	622
		16,6%	23,1%	18,5%	21,0%	19,9%	19,9%
	Kitos vietos*	60	38	50	33	43	224
14,5%		8,2%	7,3%	4,3%	5,5%	7,2%	
Iš viso		415	464	687	771	788	3125
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

\*Abiejų galūnių nagai, oda, plaukuota galvos dalis.

Ryšys pastebėtas ir tarp grybo rūšies bei pažeidimo vietos lokalizacijos. *Candida* genties grybai dažniau sukėlė rankų nagų pažeidimus (*C. albicans* – 197, 31,7%, *C. parapsilosis* – 124, 19,9%,

nenustatytos rūšies *Candida spp.* grybai – 235, 37,8%), *Trichophyton* genties grybai – kojų nagų pažeidimus (1135, 49,8%), o kitos grybų rūšys (35, 42,7%) – plaukuotos galvos dalies pažeidimus. Įvairios lokalizacijos odos (39, 48,1%) bei abiejų galūnių nagų (21, 34,4%) pažeidimus dažniausiai sukėlė *Trichophyton* genties grybai ( $p < 0,05$ ) (6 lentelė).

**6 lentelė.** Grybų rūšių pasiskirstymas pagal pažeidimo lokalizaciją.

		Vieta					Iš viso
		Kojų nagai	Rankų nagai	Abiejų galūnių nagai	Oda	Plaukuota galvos dalis	
Grybų rūšys	<i>C. albicans</i>	104	197	7	13	6	327
		4,6%	31,7%	11,5%	16,0%	7,3%	10,5%
	<i>C. parapsilosis</i>	335	124	10	4	2	475
		14,7%	19,9%	16,4%	4,9%	2,4%	15,2%
	<i>Candida spp.</i>	566	235	17	13	11	842
		24,8%	37,8%	27,9%	16,0%	13,4%	26,9%
	<i>Trichophyton spp.</i>	1135	43	21	39	28	1266
		49,8%	6,9%	34,4%	48,1%	34,1%	40,5%
	<i>Aspergillus spp.</i>	47	9	2	1	0	59
		2,1%	1,4%	3,3%	1,2%	0,0%	1,9%
	Kitos rūšys*	92	14	4	11	35	156
		4,0%	2,3%	6,6%	13,6%	42,7%	5,0%
Iš viso		2279	622	61	81	82	3125
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

\**Cladosporium spp.*, *D. hansenii*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Y. lipolytica*, *M. canis*, *P. lilacinus*, *Penicillium spp.*, *P. kudriavsevii*, *R. mucilaginosa*, *S. brevicaulis*, *T. mucoides*, *T. delbrueckii*, *W. anomalus*.

Rasti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp vyrų ir moterų pažeidimo vietų lokalizacijos. Moterų rankų nagai buvo pažeidžiami dažniau nei vyrų (509, 81,8% vs. 113, 18,2%). Taip pat, vyrams dažniau buvo pažeisti abiejų galūnių nagai (34, 55,7%). Kojų, odos ir plaukuotos galvos dalies pažeidimų dažnumas buvo panašus abiem lytims ( $p < 0,05$ ) (7 lentelė).

**7 lentelė.** Pažeidimo vietų pasiskirstymas pagal pacientų lytį.

		Vieta					Iš viso
		Kojų nagai	Rankų nagai	Abiejų galūnių nagai	Oda	Plaukuota galvos dalis	
Lytis	Vyras	1119	113	34	40	42	1348
		49,1%	18,2%	55,7%	49,4%	51,2%	43,1%
	Moteris	1160	509	27	41	40	1777
		50,9%	81,8%	44,3%	5,6%	48,8%	56,9%

Iš viso	2279	622	61	81	82	3125
	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Rasti skirtumai tarp pacientų amžiaus ir pažeidimo vietos lokalizacijos. Kojų nagai dažniausiai buvo pažeisti 50-64 metų amžiaus grupėje, rankų nagai – 21-49 metų amžiaus grupėje, abi galūnės – virš 65 metų amžiaus grupėje, plaukuota galvos dalis ir kūno oda – iki 12 metų amžiaus grupėje. Tačiau šiems rezultatams statistinio reikšmingumo nustatyta nebuvo ( $p>0,05$ ) (8 lentelė).

**8 lentelė.** Pažeidimo vietų pasiskirstymas pagal pacientų amžiaus grupes.

		Amžiaus grupės					Iš viso	
		Iki 12 m.	13-20 m.	21-49 m.	50-64 m.	Virš 65 m.		
Pažeidimo lokalizacija	Kojų nagai	31	59	998	705	483	2276	
		40,3%	69,4%	73,2%	74,5%	74,2%	72,9%	
	Rankų nagai	13	17	284	193	115	622	
		16,9%	20,0%	20,8%	20,4%	17,7%	19,9%	
	Abiejų galūnių nagai	1	0	20	18	22	61	
		1,3%	0,0%	1,5%	1,9%	3,4%	2,0%	
	Oda	6	2	31	22	20	81	
		7,8%	2,4%	2,3%	2,3%	3,1%	2,6%	
	Plaukuota galvos dalis	26	7	30	8	11	82	
		33,8%	8,2%	2,2%	0,8%	1,7%	2,6%	
	Iš viso		77	85	1363	946	651	3122
			100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Stebėtas statistiškai reikšmingas ryšys tarp grybų tipo ir pažeidimo vietos lokalizacijos. Kojų nagų (1137, 49,9%), kūno odos (47, 58,0%), plaukuotos galvos dalies (62, 75,6%) pažeidimus dažniausiai sukėlė dermatofitai, rankų nagų (566, 91,0%) bei abiejų galūnių nagų (37, 60,7%) pažeidimus – mieliagrybiai ( $p<0,05$ ) (9 lentelė).

**9 lentelė.** Grybų tipų pasiskirstymas pagal pažeidimo vietų lokalizaciją.

		Pažeidimo lokalizacija					Iš viso
		Kojų nagai	Rankų nagai	Abiejų galūnių nagai	Oda	Plaukuota galvos dalis	
Tipai	Dermatofitai	1137	43	21	47	62	1310
		49,9%	6,9%	34,4%	58,0%	75,6%	41,9%
	Nedermatofitiniai pelėsniai grybai	78	13	3	1	0	95
		3,4%	2,1%	4,9%	1,2%	0,0%	3,0%

	Mieliagyrbai	1064	566	37	33	20	1720
		46,7%	91,0%	60,7%	40,7%	24,4%	55,0%
Iš viso		2279	622	61	81	82	3125
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp tiriamųjų amžiaus grupių ir grybo rūšies. *C. albicans* dažniausiai augo pacientų iki 12 metų amžiaus grupės pasėliuose (10, 12,8%), *C. parapsilosis* – virš 65 metų amžiaus grupės pasėliuose (117, 17,8%), nenustatytos rūšies *Candida spp.* grybai – 13-20 metų amžiaus grupės pasėliuose (195, 25,1%), *Trichophyton spp.* grybai – 21-49 metų amžiaus grupės pasėliuose, *Aspergillus spp.* grybai – 50-64 metų amžiaus grupės pasėliuose, kiti grybai – amžiaus grupės iki 12 metų pasėliuose ( $p < 0,05$ ) (10 lentelė).

**10 lentelė.** Išaugintų grybų rūšių pasiskirstymas pagal pacientų amžiaus grupes.

		Amžiaus grupės					Iš viso
		Iki 12 m.	13-20 m.	21-49 m.	50-64 m.	Virš 65 m.	
Grybų rūšys	<i>C. albicans</i>	10	8	150	93	71	332
		12,8%	9,3%	10,8%	9,8%	10,8%	10,5%
	<i>C. parapsilosis</i>	5	11	206	141	117	480
		6,4%	12,8%	14,8%	14,8%	17,8%	15,2%
	<i>Candida spp.</i>	8	27	337	277	202	851
		10,3%	31,4%	24,2%	29,1%	30,7%	26,9%
	<i>Trichophyton spp.</i>	26	35	607	386	229	1283
		33,3%	40,7%	43,7%	40,6%	34,9%	40,6%
	<i>Aspergillus spp.</i>	1	0	25	23	10	59
		1,3%	0,0%	1,8%	2,4%	1,5%	1,9%
	Kiti grybai*	28	5	65	31	28	157
		35,9%	5,8%	4,7%	3,3%	4,3%	5,0%
	Iš viso	78	86	1390	951	657	3162
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	1000%

\**Cladosporium spp.*, *D. hansenii*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Y. lipolytica*, *M. canis*, *P. lilacinus*, *Penicillium spp.*, *P. kudriavzevii*, *R. mucilaginosa*, *S. brevicaulis*, *T. mucoides*, *T. delbrueckii*, *W. anomalus*.

Taip pat stebėti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp rūšių pasiskirstymo ir pacientų lyties. *C. albicans* (266, 14,8%), *C. parapsilosis* (304, 16,9%), nenustatytos rūšies *Candida spp.* grybai (477, 26,5%) dažniau augo moteriškos lyties pacientų pasėliuose, o *T. rubrum* (694, 50,8%) – vyriškos lyties pacientų pasėliuose (11 lentelė).

11 lentelė. Išaugintų grybų rūšių pasiskirstymas pagal pacientų lytį.

		Lytis		Iš viso
		Vyras	Moteris	
Grybų rūšys	<i>A. niger</i>	11	12	23
		0,8%	0,7%	0,7%
	<i>C. albicans</i>	66	266	332
		4,8%	14,8%	10,5%
	<i>C. guilliermondii</i>	7	12	19
		0,5%	0,7%	0,6%
	<i>P. Kudriavsevii</i>	12	17	29
		0,9%	0,9%	0,9%
	<i>C. Parapsilosis</i>	177	304	481
		12,9%	16,9%	15,2%
	<i>C. Tropicalis</i>	41	48	89
		3,0%	2,7%	2,8%
	<i>Candida spp.</i>	233	477	710
		17,0%	26,5%	22,4%
	<i>M. canis</i>	23	21	44
		1,7%	1,2%	1,4%
	<i>R. mucilaginosa</i>	15	23	38
		1,1%	1,3%	1,2%
	<i>S. brevicaulis</i>	16	4	20
		1,2%	,2%	,6%
	<i>T. rubrum</i>	694	532	1226
		50,8%	29,6%	38,7%
	<i>Trichophyton spp.</i>	29	29	58
		2,1%	1,6%	1,8%
	<i>C. glabrata</i>	10	24	34
		0,7%	1,3%	1,1%
	<i>Aspergillus spp.</i>	14	7	21
		1,0%	0,4%	0,7%
<i>A. fumigatus</i>	8	7	15	
	0,6%	0,4%	0,5%	
Kiti grybai*	11	15	26	
	0,8%	0,8%	0,8%	
Iš viso		1367	1798	3165
		100,0%	100,0%	100,0%

\**Cladosporium spp.*, *D. hansenii*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Y. lipolytica*, *P. lilacinus*, *Penicillium spp.*, *T. mucoides*, *T. delbrueckii*, *W. anomalus*.



### 3.2. Mikrobiologinio pasėlio ir mikroskopinio tyrimo palyginimas

Atlikus išaugintų grybų rūšių bei atliktų mikroskopinių tyrimų analizę buvo nustatyta, kad dalis mikroskopinių tyrimų rezultatų nesutapo su pasėlio rezultatais arba mikroskopinis tyrimas nebuvo atliktas ( $p < 0,05$ ). Geriausiai mikroskopiniu tyrimo metodu buvo aptinkami buvo dermatofitai (886, 66,7%), prasčiau - nedermatofitiniai pelėsiniai grybai (50, 52,6%), o prasčiausias rezultatų sutapimas buvo mieliagrybių grupėje (614, 35,2%) ( $p < 0,05$ ) (15 lentelė).

**15 lentelė.** Mikroskopinio tyrimo rezultatai pagal grybų tipus.

		Išaugintų grybų tipai			Iš viso
		Dermatofitai	Nedermatofitiniai pelėsiniai grybai	Mieliagrybiai	
Mikroskopinio tyrimo rezultatas	Rasta	886	50	614	1550
		66,7%	52,6%	35,2%	49,0%
	Nerasta	156	28	723	907
		11,7%	29,5%	41,5%	28,7%
	Netirta	286	17	405	708
		21,5%	17,9%	23,2%	22,4%
Iš viso		1328	95	1742	3165
		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

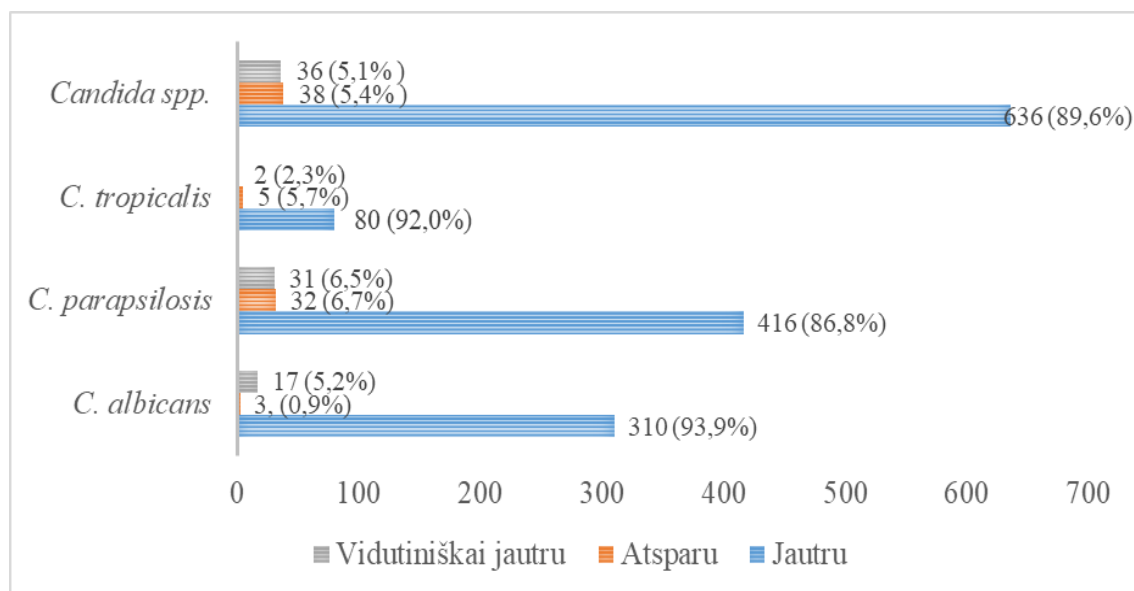
Taip pat lyginant šiuos du tyrimo metodus buvo apskaičiuotos mikroskopinio tyrimo jautrumo, specifiškumo, teigiama (TPV) ir neigiama prognostinė (NPV) vertės. Gauti rezultatai pateikiami 16 lentelėje.

**16 lentelė.** Metodų palyginimo rezultatai

	Teigiamas pasėlis	Neigiamas pasėlis	TPV	NPV
Teigiama mikroskopija	1550	3019	33.92%	87.50%
Neigiama mikroskopija	907	6347		
Jautrumas	63.09%			
Specifiškumas	67.77%			

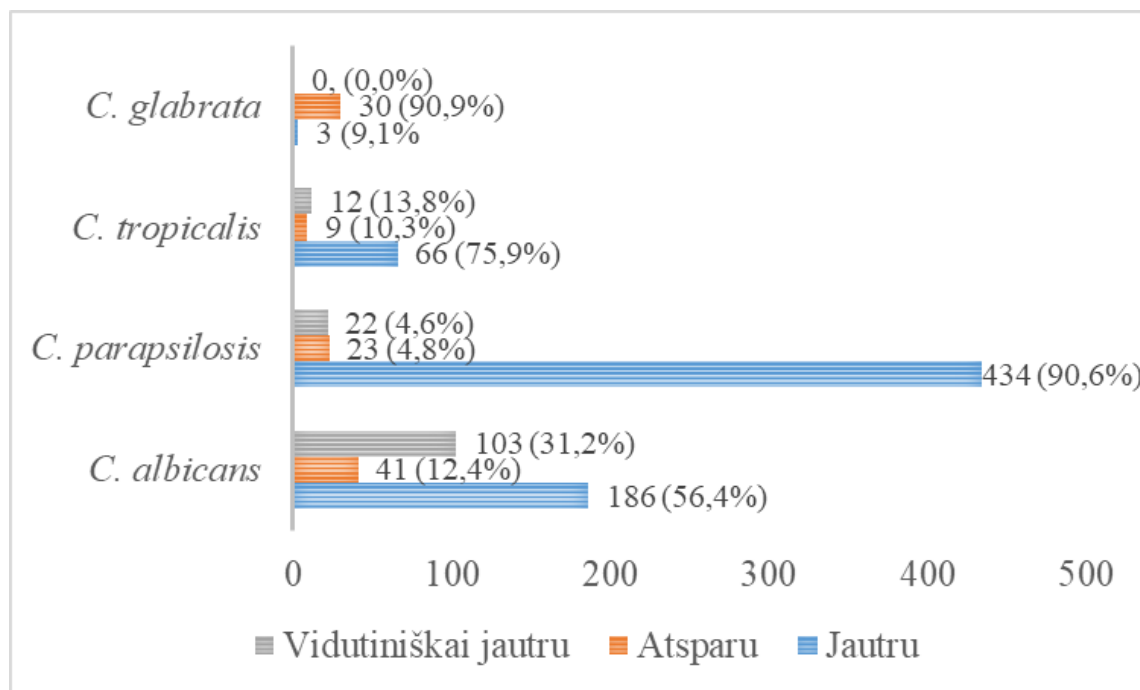
### 3.3. Mieliagrybių jautrumo priešgrybiniais vaistams palyginimas

Lyginant jautrumo duomenis tarp grybų rūšių, buvo nustatyta, jog iš visų *Candida* genties grybų rūšių didžiausias atsparumas nistatinui buvo tarp *C. parapsilosis* rūšies grybų (32, 6,7%), o mažiausias – tarp *C. albicans* rūšies grybų (3, 0,9%) ( $p < 0,05$ ) (9 pav.).



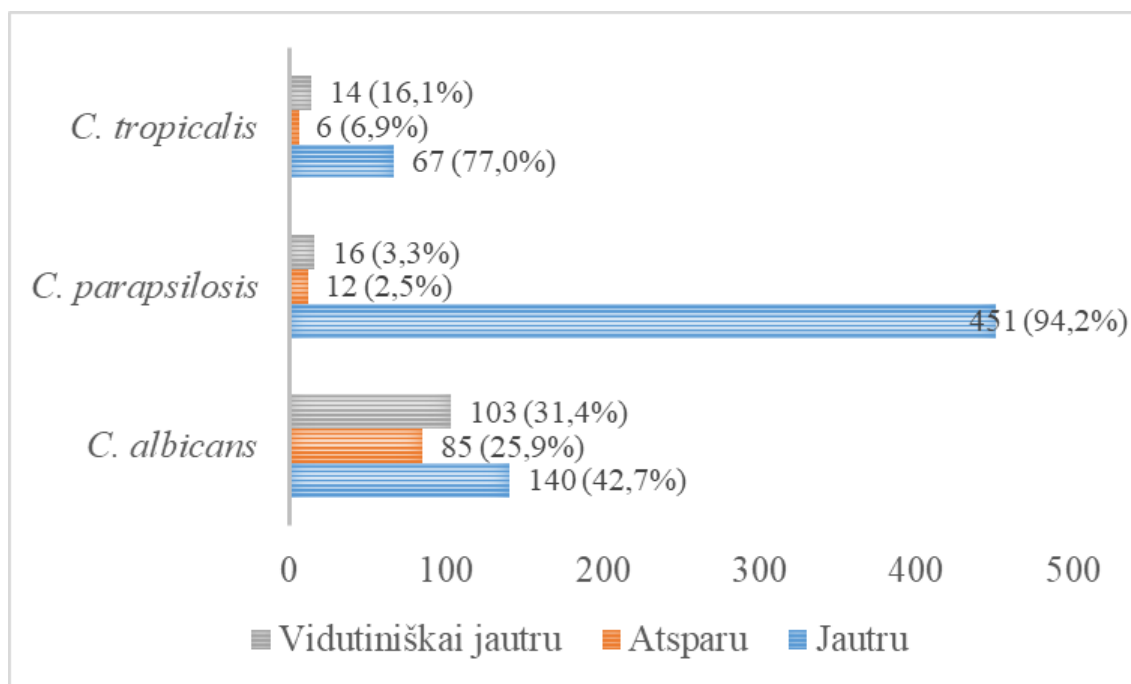
**9 pav.** Jautrumas nistatinui pagal grybų rūšis.

Didžiausias atsparumas flukonazoliui buvo tarp *C. glabrata* izoliatų (30, 90,9%), o mažiausias - *C. parapsilosis* (23, 4,8%) ( $p < 0,05$ ) (10 pav.).



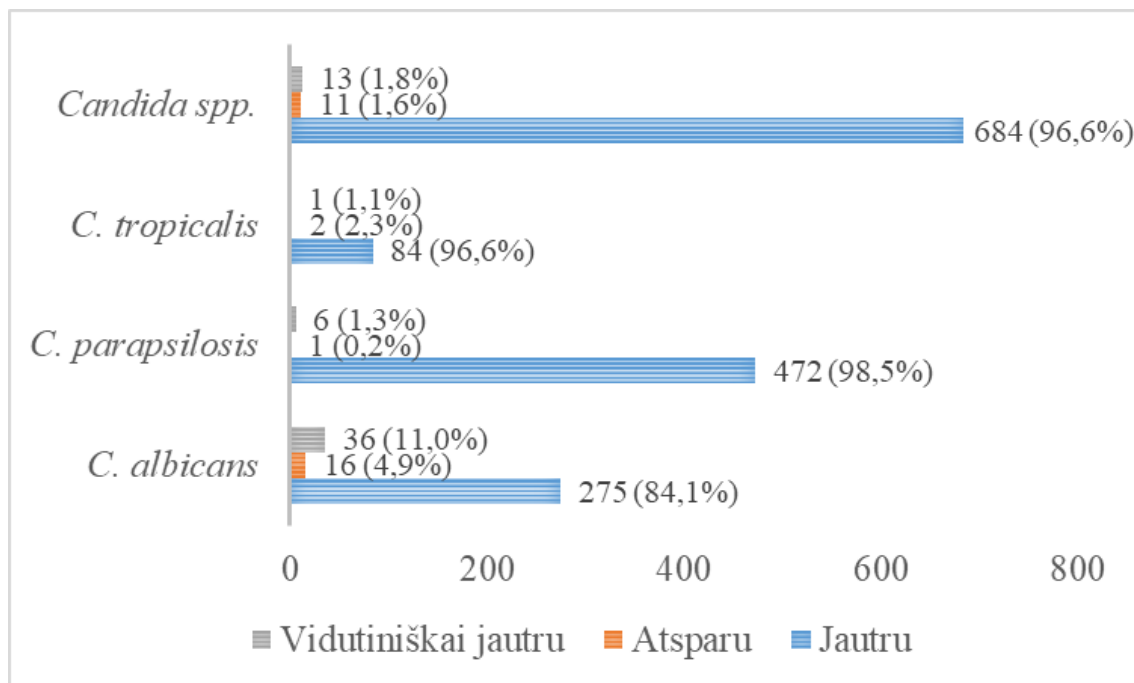
**10 pav.** Jautrumas flukonazoliui pagal grybų rūšis.

Didžiausias atsparumas itraconazoliui buvo nustatytas *C. albicans* izoliatams (85, 25,9%), o mažiausias – *C. parapsilosis* (12, 2,5%) ( $p < 0,05$ ) (11 pav.).



**11 pav.** Jautrumas itrakonazoliui pagal grybų rūšis.

Didžiausias atsparumas ketokonazoliui nustatytas *C. albicans* rūšies grybams (16, 4,9%), o mažiausias – *C. parapsilosis* (1, 0,2%) ( $p < 0,05$ ) (12 pav.).



**12 pav.** Jautrumas ketokonazoliui pagal grybų rūšis.

### 3.4. Mieliagybių jautrumas priešgrybiniams vaistams ir jo interpretacija

Ištirus 50 išaugintų grybų kultūrų, buvo nustatyta jų rūšis (MALDI-TOF metodu), jautrumas priešgrybiniams vaistams diskų difuzijos (DDM) ir minimalios slopinančios koncentracijos (MSK) metodais. DD metodu interpretacijos neturinčių (NI) priešgrybinių vaistų jautrumo kategorija buvo nustatyta remiantis MSK vertėmis. Toks interpretavimo būdas buvo pasirinktas todėl, kad MSK metodas yra laikomas „aukso standartu“. MSK metodas laikomas tikslesniu už diskų difuzijos metodą, todėl esant rezultatų nesutapimui tarp šių dviejų metodų buvo pasirinkta interpretacija gauta MSK metodu.

Tirti grybai buvo suskirstyti pagal rūšis, nes jautrumo priešgrybiniams vaistams interpretacija priklauso nuo grybo rūšies. Jautrumas priešgrybiniams vaistams buvo interpretuojamas remiantis EUCAST ir CLSI standartais bei gamintojo rekomendacijomis (MAST diagnostics).

Buvo lyginti grybų jautrumo rezultatai dviems priešgrybiniams vaistams (flukonazoliui ir itrakonazoliui) gauti dviem jautrumo tyrimo metodais – DDM ir MSK nustatymo metodu. Jautrumo flukonazoliui, nustatant jį diskų difuzijos ir MSK metodu, interpretacija buvo galima remiantis abiem minėtais standartais. Jei kuri nors grybų rūšis neturėjo interpretacijos, priklausomos nuo grybo rūšies, buvo pasirinkta vertinti pagal „nesusiję su rūšimi“ interpretaciją. Jautrumas itrakonazoliui gali būti nustatomas tik MSK metodu, nes nustatymas diskų difuzijos metodu neturi interpretacijos pagal nei vieną minėtą standartą. DD metodo rezultatų interpretacija buvo atlikta remiantis MSK metodu gautais rezultatais (17 lentelė).

Atlikus interpretaciją pagal minėtus kriterijus, vis dar liko grybų rūšių, kurių interpretacija tiriant jautrumą MSK ir / arba diskų difuzijos metodu buvo negalima dėl turimų standartų duomenų apie kai kurių grybų rūšių (žr. 17 lentelėje) jautrumo nustatymą trūkumo. Su šiomis grybų rūšimis reikėtų atlikti daugiau tyrimų, kurie leistų padaryti išvadas apie jų jautrumą priešgrybiniams vaistams.

Tirtų 50 grybų kultūrų rezultatų nepakanka padaryti tikslioms išvadoms apie tai, koks statistinis ryšys sieja diskų difuzijos ir MSK metodais gaunamas jautrumo priešgrybiniams vaistams reikšmes, todėl gauti rezultatai turėtų būti vertinami atsargiai. Norint atlikti detalesnį metodų palyginimą, reikėtų didinti tiriamąją imtį.

17 lentelė. Jautrumas priešgrybiniams vaistams bei jo interpretacija pagal grybų rūšis.

Rūšis	Nistatinas (DDM), mm	Interpretacija (DDM)	Flukonazolis (DDM), mm	Interpretacija (DDM)	Interpretacija pagal MSK	Flukonazolis (MSK)	Itrakonazolis (DDM), mm	Interpretacija (DDM)	Interpretacija pagal MSK	Itrakonazolis (MSK)	Ketokonazolis (DDM), mm	Interpretacija (DDM)	Klotrimazolis (DDM), mm	Interpretacija (DDM)
<i>C. albicans</i>	21	J	34	J	J	1,5	6	NI	A	0,25	40	J	32	J
<i>C. albicans</i>	24	J	34	J	J	0,75	30	NI	A	0,38	26	J	28	J
<i>C. albicans</i>	24	J	28	J	J	2,00	24	NI	A	1,00	38	J	24	J
<i>C. albicans</i>	22	J	30	J	J	1,50	30	NI	A	0,50	40	J	30	J
<i>C. albicans</i>	24	J	34	J	J	0,50	28	NI	A	0,25	44	J	38	J
<i>C. albicans</i>	22	J	30	J	J	1,50	28	NI	A	0,25	42	J	32	J
<i>C. albicans</i>	22	J	30	J	J	2,00	26	NI	A	0,38	46	J	34	J
<i>C. albicans</i>	22	J	30	J	J	0,19	34	NI	A	0,064	42	J	34	J
<i>C. albicans</i>	24	J	28	J	J	1,00	28	NI	A	0,125	40	J	30	J
<i>C. albicans</i>	28	J	30	J	J	0,38	24	NI	A	0,19	36	J	26	J
<i>C. albicans</i>	24	J	28	J	J	3,00	26	NI	A	6,00	38	J	18	J
<i>C. allociferii</i>	18	VJ	6	NI	J	0,75	28	NI	NI	0,19	44	J	34	J
<i>C. guilliermondii</i>	19	VJ	24	NI	J	0,25	25	NI	NI	0,19	46	J	38	J
<i>C. guilliermondii</i>	18	VJ	24	NI	J	0,25	26	NI	NI	0,023	34	J	28	J
<i>C. guilliermondii</i>	22	J	26	NI	J	0,38	24	NI	NI	0,023	44	J	40	J
<i>C. guilliermondii</i>	22	J	6	NI	J	0,19	6	NI	NI	0,032	42	J	40	J
<i>C. guilliermondii</i>	21	J	26	NI	J	0,19	22	NI	NI	0,064	50	J	40	J
<i>C. guilliermondii</i>	22	J	30	NI	J	0,19	22	NI	NI	0,047	36	J	26	J
<i>C. guilliermondii</i>	21	J	27	NI	J	0,75	24	NI	NI	0,125	30	J	24	J
<i>C. lusitaniae</i>	26	J	44	NI	J	0,75	36	NI	NI	0,094	32	J	24	J
<i>C. lusitaniae</i>	22	J	36	NI	J	0,25	34	NI	NI	0,047	40	J	28	J
<i>C. lusitaniae</i>	28	J	34	NI	J	0,25	32	NI	NI	0,047	40	J	24	J
<i>C. parapsilosis</i>	18	VJ	34	J	J	0,25	30	NI	J	0,042	36	J	24	J
<i>C. parapsilosis</i>	21	J	34	J	J	1,50	30	NI	A	0,50	38	J	22	J

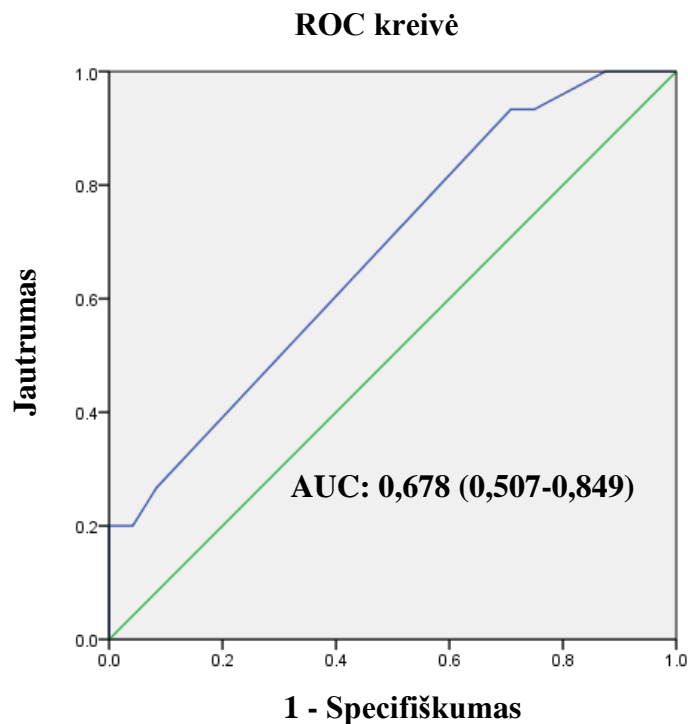
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>38</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>1,00</b>	<b>36</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,023</b>	40	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>32</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,25</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,023</b>	32	J	28	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>40</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,25</b>	<b>36</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,023</b>	38	J	34	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>36</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,13</b>	<b>26</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,032</b>	38	J	34	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>34</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,38</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,023</b>	30	J	24	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>40</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,19</b>	<b>32</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,047</b>	36	J	26	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>40</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,19</b>	<b>36</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,012</b>	34	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	26	J	<b>40</b>	<b>J</b>	<b>A</b>	<b>256</b>	<b>32</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>32,00</b>	30	J	6	A
<i>C. parapsilosis</i>	20	VJ	<b>14</b>	<b>VJ</b>	<b>A</b>	<b>256</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>1,00</b>	32	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	18	VJ	<b>18</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,25</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,047</b>	36	J	28	J
<i>C. parapsilosis</i>	18	VJ	<b>22</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,50</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	38	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>22</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>1,00</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,75</b>	36	J	16	J
<i>C. parapsilosis</i>	21	J	<b>22</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,25</b>	<b>27</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,094</b>	36	J	28	J
<i>C. parapsilosis</i>	20	VJ	<b>16</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,38</b>	<b>26</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	40	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>24</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,19</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	44	J	34	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>28</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,38</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,094</b>	32	J	22	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>24</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,50</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	36	J	26	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>22</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>2,00</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>1,00</b>	36	J	22	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>26</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>1,00</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	40	J	26	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>20</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,50</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>J</b>	<b>0,032</b>	30	J	24	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>24</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,75</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,25</b>	32	J	26	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>17</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,50</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,19</b>	30	J	24	J
<i>C. parapsilosis</i>	21	J	<b>28</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,19</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,064</b>	32	J	26	J
<i>C. parapsilosis</i>	20	VJ	<b>20</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>0,75</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,094</b>	40	J	30	J
<i>C. parapsilosis</i>	24	J	<b>26</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>2,00</b>	<b>30</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>0,38</b>	38	J	28	J
<i>C. parapsilosis</i>	22	J	<b>26</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>2,00</b>	<b>28</b>	<b>NI</b>	<b>A</b>	<b>1,50</b>	38	J	20	J

### 3.5. Jautrumo priešgrybiniams vaistams nustatymo metodų palyginimas.

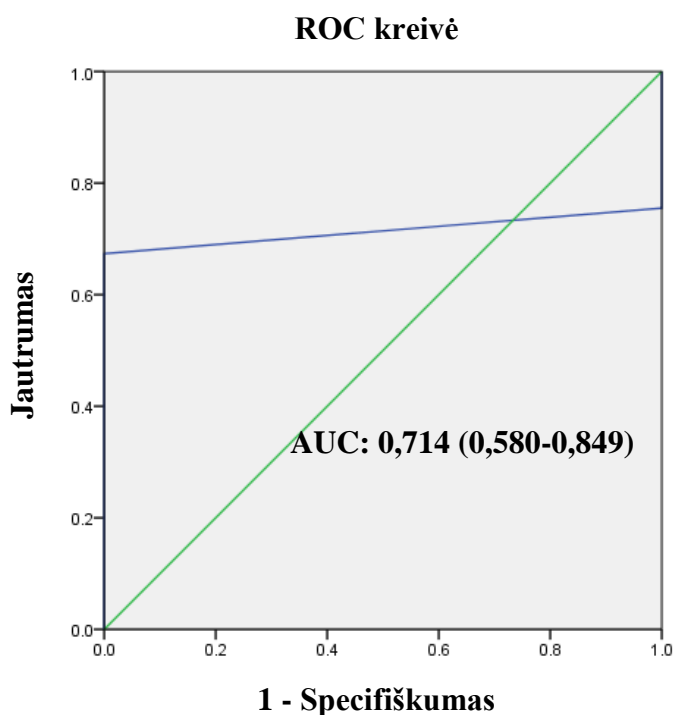
Atlikus gautų itrakonazolio ir flukonazolio DDM rezultatų palyginimą (13-14 pav.) su MSK metodu, kuris buvo laikytas „aukso standartu“ buvo gauta AUC (plotas po kreive) ir CI (pasikliautinis intervalas) reikšmės. AUC reikšmės galimos ribos yra nuo 0 iki 1. Reikšmei artėjant prie 0 tyrimo metodas pateikia atvirkštines jautrumo reikšmes, reikšmei esant 0,5 – remiantis tyrimo metodu negalima tarpusavyje atskirti gautų jo reikšmių, reikšmei artėjant prie 1, tai rodo tyrimo galimybę naudojant analizuojamą metodą gauti teisingas reikšmes. Pasikliautinis intervalas (CI) – intervalas, kuriame, tikėtina, jog yra matuojamo dydžio parametras (pvz., aritmetinis vidurkis). Tikimybė, jog vidurkis iš tiesų yra šiame intervale, vadinama reikšmingumo lygmeniu (moksliniams tyrimams - 0,95 arba 95%).

Itrakonazolio ir flukonazolio DD ir MSK metodų palyginimas rodo, jog vertinant grybų jautrumą priešgrybiniams vaistams reikėtų remtis MSK metodu gautais rezultatais, nes DD metodu gauti rezultatai yra mažiau patikimi. Tai rodo gautos AUC reikšmės. IC intervalas nurodo, jog atlikus tyrimą su 100 mėginių 95 iš jų gautos reikšmes patektų į nurodytą intervalą.

Nustatyta AUC reikšmė parodė, jog jautrumo flukonazoliui nustatymas DD metodu yra patikimesnis nei jautrumo itrakonazoliui nustatymas (AUC 0,714 vs. 0,678). Norint patikrinti, ar gauti duomenys yra tikslūs, reikėtų atlikti tyrimą su didesne tiriamąja imtimi.



**13 pav.** Itrakonazolio DDM palyginimo su MSK metodu ROC kreivė.



**14 pav.** Flukonazolio DDM palyginimo su MSK metodu ROC kreivė.

### **3.6. Tirtų grybų kultūrų identifikavimo tiesioginio perkėlimo bei ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodų palyginimas**

Buvo atliktas dviejų MALDI-TOF metodo protokolų – tiesioginio perkėlimo ir ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi - palyginimas. Taikant abu protokolus iširta 30 grybų rūšių. Rezultatai matomi 19 lentelėje. Minimali galima patikimumo reikšmė yra 0, o maksimali – 3. Artėjant link 0 rezultatų patikimumas mažėja, o artėjant link 3 – didėja.

**19 lentelė.** Tirtų grybų rūšių indentifikavimo patikimumo reikšmės.

Grybų rūšis	Patikimumo reikšmė tiesioginio perkėlimo metodu	Patikimumo reikšmė ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodu
<i>C. albicans</i>	1,72	2,05
<i>C. albicans</i>	1,59	2,06
<i>C. albicans</i>	2,05	2,16
<i>C. albicans</i>	1,72	2,16
<i>C. albicans</i>	1,90	2,32
<i>C. albicans</i>	1,94	2,37
<i>C. albicans</i>	1,82	2,16
<i>C. albicans</i>	1,82	2,30
<i>C. albicans</i>	1,96	2,18



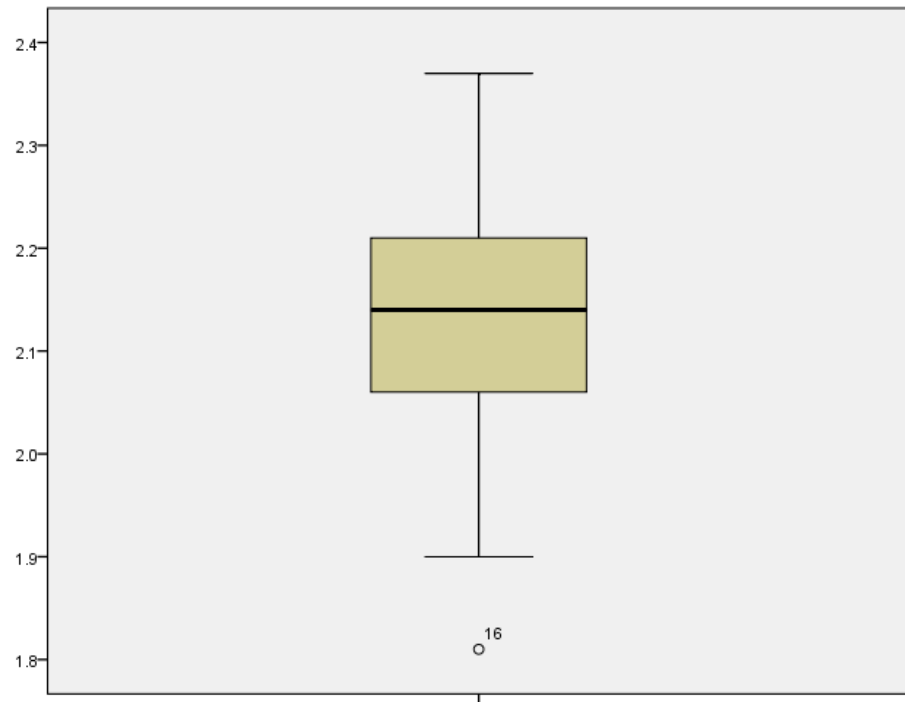
<i>C. albicans</i>	1,92	2,11
<i>C. albicans</i>	1,93	2,13
<i>C. albicans</i>	1,77	2,15
<i>C. albicans</i>	1,79	2,21
<i>C. albicans</i>	1,93	2,20
<i>C. albicans</i>	1,89	2,27
<i>C. dubliniensis</i>	1,85	1,81
<i>C. dubliniensis</i>	1,98	2,09
<i>C. dubliniensis</i>	1,89	2,05
<i>C. glabrata</i>	2,02	2,08
<i>C. glabrata</i>	2,14	2,21
<i>C. jadinii</i>	1,94	1,90
<i>C. lusitaniae</i>	1,71	2,28
<i>C. parapsilosis</i>	1,55	1,98
<i>C. parapsilosis</i>	1,90	2,16
<i>P. kudriavsevii</i>	1,96	2,23
<i>P. kudriavsevii</i>	2,34	2,05
<i>P. kudriavsevii</i>	2,09	2,06
<i>K. marxianus</i>	2,24	1,95
<i>K. marxianus</i>	2,47	2,13
<i>K. marxianus</i>	2,28	2,06

Gautų rezultatų palyginimas pateiktas 20 lentelėje. 15-16 paveikslėliuose matomas kiekvienu metodu gautų patikimumo reikšmių pasiskirstymas: apačioje – minimalios reikšmės, viršuje – maksimalios reikšmės, viduryje – vidutinės reikšmės.

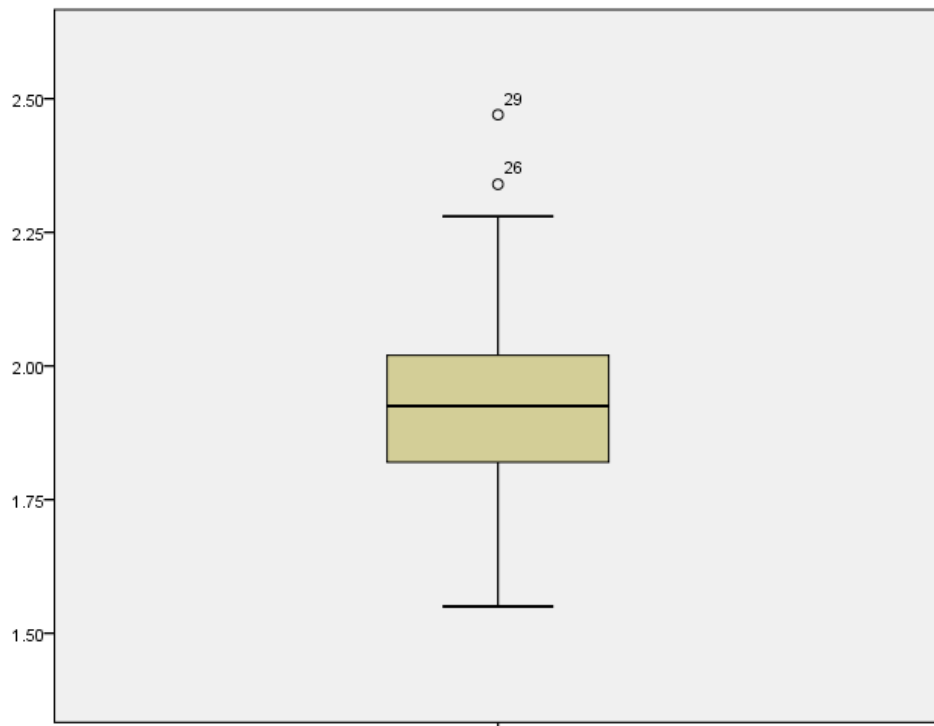
Atlikus statistinę abiejų identifikavimo metodų patikimumo reikšmių analizę, gauti rezultatai parodė, jog skirtumai tarp šių metodų nebuvo statistiškai reikšmingi ( $p=0,076$ ). Manoma, jog tai galėjo lemti per maža tiriamoji imtis, nes gauta  $p$  reikšmė buvo artima reikšmingai reikšmei, o gautų rezultatų vidutinės reikšmės ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodu buvo didesnės.

**20 lentelė.** Metodų palyginimo rezultatai.

	Tirtų kultūrų skaičius	Minimalios reikšmės	Maksimalios reikšmės	Vidutinės reikšmės	Standartinis nuokrypis
Tiesioginio perkėlimo metodas	30	1,55	2,47	1,94	0,20
Ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodas	30	1,81	2,37	2,13	0,12



**15 pav.** Tiesioginio perkėlimo metodo patikimumo reikšmių pasiskirstymas.



**16 pav.** Ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodo patikimumo reikšmių pasiskirstymas.

### 3.7. Tyrimo rezultatų aptarimas

Grybų sukeltos infekcijos vis dar yra aktuali visuomenės sveikatos problema visame pasaulyje (11). Remiantis statistiniais duomenimis nurodoma, jog grybų sukeltomis nagų ir jos darinių infekcijomis serga 2–14% populiacijos, tačiau realūs skaičiai greičiausiai turėtų būti gerokai didesni [10]. Šiame tyrime mieliagrybių rūšys (55,04%) sudarė didžiausią dalį visų pasėliuose išaugintų grybų, šiek tiek mažesnę dalį sudarė dermatofitai (41,96%) bei nedermatofitai (3,00%). Panašius tyrimo rezultatus aprašo ir *Paškevičius A. et al.*

Didžiausią dalį išaugintų mieliagrybių sudarė *Candida* genties grybai (95,47%), o likusią grybų dalį kitos mieliagrybių rūšys, tokią pat situaciją atspindi ir literatūros šaltinių duomenys [14].

*Candida* genties grybai dažniausiai sukelia odos ir nagų infekcijas. Taip pat šie grybai yra laikinosios ar komensalinės tam tikrų žmogaus kūno vietų mikrobiotos dalis. Tai oportunistiniai patogenai, kurie tampa patogeniški tik tam tikroms pacientų grupėms, sergančioms sisteminėmis ar lokalizuotomis ligomis. *Candida* ir kiti mieliagrybiai taip pat gali būti naginio audinio saprofitai, tiesiogiai pažeidžiantys nago plokštelę, kai šeimininko apsauginiai mechanizmai yra sutrikę, pavyzdžiui imunosupresijos atveju [14].

Nedermatofitų rūšys dažniausiai yra laikomos antriniais patogenais, sukeliančiais jau pažeistų nagų infekcijas, tačiau šie grybai gali būti ir pirminiai infekcijos sukėlėjai, sukeltys nedidelę dalį šių infekcijų. Nedermatofitų paplitimas pasaulyje yra 1,5 – 17,6% [12-14]. Šio tyrimo metu nustatytas nedermatofitų rūšių skaičius sutampa su minimumu literatūroje ir sudaro 3,0%.

Atlikta išaugintų grybų rūšių analizė parodė, jog dažniausias infekcijos sukėlėjas buvo *T. rubrum* (38,74%). Tai patvirtina ir analizuoti literatūros šaltiniai. *T. rubrum* yra patogenas, paplitęs visame pasaulyje ir sukeltis įvairius tinea tipus. Šis grybas gali pažeisti kojų ir rankų nagus, tarpupirščių, pėdų ar bet kurios kitos kūno vietos odą [12]. Gauti duomenys atitinka ir situaciją Lietuvoje, literatūros šaltiniuose *T. rubrum* minimas kaip dažniausias odos ir jos darinių infekcijų sukėlėjas [14].

Atlikto tyrimo metu išanalizavus gautus duomenis nustatyta, jog statistiškai reikšmingai daugiau mikrobiologinių pasėlių buvo atlikta moterims, todėl galima teigti, jog moterims grybų sukeltos odos ir jos darinių infekcijos buvo dažnesnės. Ši situacija literatūros šaltiniuose aprašoma gana įvairiai, infekcijos paplitimas pagal pacientų lytį skirtinguose pasaulio regionuose skiriasi, o tai lemiantys faktoriai kol kas dar nėra visiškai aiškūs [12]. Manoma, jog to priežastis galėtų būti

dažnesnis moterų naudojimas manikiūro salonų paslaugomis. Atliekant manikiūrą bei kitas procedūras visad išlieka užsikrėtimo grybine infekcija tikimybė, jei naudojami įrankiai nėra tinkamai apdorojami dezinfekcinėmis medžiagomis ar sterilizuojami. Ši problema yra aktualesnė besivystančiose šalyse, kuriose trūksta žinių bei supratimo apie tinkamą higieną. Taip pat, atliekant įvairias nagų priežiūros procedūras, jie gali būti pažeidžiami naudojamų įrankių, o net ir nedideli nago pažeidimai gali tapti infekcijos išsivystymo priežastimi [1, 6, 9, 11-12, 48-50].

Analizuojant pacientų amžiaus bei infekciją sukėlusių grybų tipų duomenis buvo nustatyta, jog dermatofitų rūšys dažniausiai infekciją sukėlė iki 12 metų amžiaus grupėje, mieliagrybiai – virš 12 metų amžiaus grupėje, o nedermatofitai – 21-49 ir 50-64 metų amžiaus grupėse. Gauti duomenys yra panašūs į literatūroje minimas dažniausias pacientų amžiaus grupes. Dažniausiai grybine infekcija užsikrečia 10–20, 20–39 metų arba vyresnio amžiaus pacientai (nuo 60 metų) [51-52].

Dažniausia nustatyta pažeidimo vietos lokalizacija buvo kojų nagai (72,9%), antra pagal dažnumą – rankų nagai (19,9%), trečia - abiejų galūnių nagai (1,9%). Kojų nagai abiejų lyčių pacientams buvo pažeisti panašiu dažnumu, rankų nagai dažniausiai buvo pažeisti moterims, abi galūnės – vyrams. Stebėti skirtumai tarp pažeidimo lokalizacijos skirtingose amžiaus grupėse. Kojų nagai dažniausiai buvo pažeisti 51–62 metų amžiaus grupėje, rankų nagai, plaukuota galvos dalis – 1–36 metų amžiaus grupėje, abi galūnės bei oda – 63–91 metų amžiaus grupėje. Dažniausiai kojų nagų, odos bei plaukuotos galvos dalies pažeidimus sukėlė dermatofitai (49,9%), o rankų nagų ir abiejų galūnių nagų pažeidimus mieliagrybiai (atitinkamai 91,0% ir 60,7%). Gauti duomenys atitinka minimus literatūroje, nurodomas pažeidimo vietų lokalizacijos pasiskirstymas, pažeidimai pagal amžiaus grupes ir grybų gentis sutampa [6, 9, 11-12, 53].

Lyginant teigiamų mikrobiologinių pasėlių ir mikroskopinio tyrimo rezultatus buvo nustatyta, kad dermatofitai mikroskopiškai buvo nustatyti 66,7% atvejų, nedermatofitai – 52,6% atvejų, mieliagrybiai – 35,2% atvejų. Atlikus išaugintų grybų rūšių bei atliktų mikroskopinių tyrimų analizę buvo nustatyta, kad dalis mikroskopinių tyrimų rezultatų nesutapo su pasėlio rezultatais arba mikroskopinis tyrimas nebuvo atliktas ( $p < 0,05$ ). Panašūs rezultatai aprašomi ir nagrinėtuose literatūros šaltiniuose. Mikroskopinio tyrimo metu nustatomų teigiamų atvejų skaičius sudaro 54 – 56%, o mikrobiologinio pasėlio – 35 – 40% [54-55].

Tiesioginis mikroskopinis tyrimas, naudojant kalio hidroksidą (KOH) yra paprastas, greitas ir nebrangus tyrimas, nerikalaujantis didelių techninių išteklių ir jį galima atlikti greitai šalia paciento (*POCT – Point of Care Testing*). Šio tyrimo vertinimas reikalauja praktinės vertintojo patirties.

Lyginant su pasėliu, mikroskopinis tyrimas suteikia galimybę nustatyti didesnę kiekį grybinių sukėlėjų tiriamojame medžiagoje. Rašoma, jog mikroskopinio tyrimo jautrumas lyginant su pasėliu svyruoja nuo 25 iki 80%, o klaidingai neigiami rezultatai sudaro apie 30% visų gautų rezultatų. Mikroskopinio tyrimo klaidingai neigiamų rezultatų skaičius taip pat yra gana aukštas, tačiau jis gali pralenkti pasėlio metodą galimybe dažniau aptikti grybinius infekcijų sukėlėjus. Pasėlio metodas yra laikomas aukso standartu, todėl, kad tai vienintelis metodas, leidžiantis identifikuoti grybų rūšis, sukeliančias odos ir jos darinių infekcijas. Klaidingai neigiamų rezultatų skaičius yra didelis ir gali varijuoti priklausomai nuo laboratorijos darbo patirties.

Manoma, jog didelio klaidingai neigiamų rezultatų skaičiaus priežastys galėtų būti tokios:

1. Sukėlėjas tiriamosios medžiagos ėminyje gali būti nebegyvybingas ir dėl to neišaugti;
2. Ėminys paimtas per toli nuo pažeidimo vietos (pvz.: nagas nukirptas distaliau nuo jo pažeidimo);
3. Ėminys po jo paėmimo nepakankamai susmulkintas;

Klaidingai neigiami šių tyrimų rezultatai yra nepriimtini, todėl yra reikalingi diagnostikos metodai, turintys didesnę jautrumą bei trumpesnę atlikimo laiką. DNR nustatymu paremti metodai jau yra naudojami identifikuoti daugelį patogeninių grybų rūšių ir artimiausiu metu turėtų pakeisti dabar naudojamus pasėlio bei mikroskopinio tyrimo metodus. Šie metodai dažnai yra brangesni ir gali būti prieinami ne visiems sveikatos priežiūros įstaigų centrams, dirbantiems su grybinių infekcijų sukėlėjais [54-55].

Analizuojant mieliagrybių jautrumą nistatinui pagal grybų rūšis, buvo nustatyta, jog jautriausia šiam vaistui grybų rūšis buvo *C. albicans* (93,9%), o atsparūs šios rūšies grybai sudarė tik 0,9%. Mažiausiai jautri nistatinui grybų rūšis buvo *C. parapsilosis* (86,8%), atsparūs šios rūšies grybai sudarė 6,7%. Panašūs rezultatai aprašomi ir literatūros šaltiniuose, tačiau nurodomas kiek mažesnis jautrių šiam vaistui *C. albicans* skaičius (70,8%), o atsparių grybų nebuvo nustatyta. *C. parapsilosis* rūšies grybams palyginti su kitais moksliniais tyrimais nepakanka duomenų, nes tiriamas vaistas naudojamas vis rečiau ir todėl yra retai įtraukiamas tarp mokslinių tyrimų metų analizuojamų vaistų. [56].

Nistatinas – tai polienų grupės priešgrybinis vaistas, kuriam yra jautrūs daugelis pelėsinų grybų bei mieliagrybių. Vaistas gali būti toksiškas vartojant intraveniškai, tačiau nėra absorbuojamas per nepažeistą odą ar gleivinių membranas. Nistatinas laikomas gana saugiu vaistu, tinkamu gydyti

kvėpavimo takų ir virškinamojo trakto grybines infekcijas, paviršines odos ir jos darinių infekcijas. Galimos vaisto formos yra: geriamoji, intraveninė bei tepalas [57].

Palyginus jautrumą flukonazoliui tarp visų tirtų mieliagrybių rūšių, buvo nustatyta, jog mažiausiai jautrios šiam vaistui rūšys buvo *C. glabrata* (9,1%) bei *C. albicans* (56,4%), o atsparių šių rūšių grybų skaičius buvo 90,9% ir 12,4%. Literatūroje nurodomas *C. albicans* jautrumas šiam vaistui yra apie 80 - 95%, atsparūs grybai kai kurių šaltinių duomenimis sudaro 1 - 11%, vidutiniškai jautrūs 2,9 – 13,9% [56, 58-62]. Gauti duomenys šiek tiek skiriasi nuo literatūroje nurodomų. Taip galėjo atsitikti dėl didelio vidutiniškai jautrių *C. albicans* rūšies grybų skaičiaus (31,2%), kuris tiriant jautrumą buvo ribinių verčių ribose ir todėl buvo priskirtas kategorijai „vidutiniškai jautru“.

Flukonazolis – tai priešgrybinis vaistas, naudojamas sisteminėms bei paviršinėms grybinėms infekcijoms, pasireiškiančioms įvairiose audinių grupėse, gydyti. Jis priklauso azolų priešgrybinių vaistų grupei, kartu su tokiais vaistais kaip ketokonazolis ir itrakonazolis. Flukonazolis turi gana daug privalumų lyginant su kitais priešgrybiniais vaistais, vienas iš jų – galimybė skirti geriamąją šio vaisto formą. Šio vaisto nepageidaujamas poveikis yra minimalus [63].

Lyginant jautrumą itrakonazoliui pagal tirtas grybų rūšis, buvo nustatyta, jog mažiausiai jautri šiam vaistui grybų rūšis buvo *C. albicans* (42,7%), o jautriausia *C. parapsilosis* (94,2%), šių rūšių atsparių grybų skaičius atitinkamai buvo 25,9% ir 2,5%, o vidutiniškai jautrių grybų – 31,4% ir 3,3%. Literatūros duomenimis *C. albicans* jautrumas minimam vaistui buvo 60 – 96%, *C. parapsilosis* – apie 66%, atsparių grybų skaičius atitinkamai buvo 4 - 33,7% ir 3,5%, vidutiniškai jautrių *C. albicans* grybų 4 – 33,3% [62]. Gauti duomenys šiek tiek skiriasi nuo literatūroje nurodomų. Taip galėjo atsitikti dėl didelio vidutiniškai jautrių ar jautrių grybų skaičiaus, kuris tiriant jautrumą buvo ribinių verčių ribose ir todėl buvo priskirtas kategorijai „vidutiniškai jautru“ arba „jautru“.

Itrakonazolis – tai azolų grupės priešgrybinis vaistas, naudojamas grybinių makšties, burnos, odos ir nagų infekcijų gydymui. Gali būti naudojamos geriamosios arba intraveninės šio vaisto formos [64-65].

Analizuojant tirtų grybų rūšių jautrumą ketokonazoliui nustatyta, jog mažiausiai šiam vaistui jautri rūšis buvo *C. albicans* (84,1%), jautriausia – *C. parapsilosis* (98,5%). Atsparių ir vidutiniškai jautrių grybų skaičius atitinkamai sudarė 4,9% ir 0,2% bei 11,0% ir 1,3%. Literatūroje nurodomas atsparumas ketokonazoliui yra: *C. albicans* - 9,4%, *C. parapsilosis* – 3,5% [62].

Ketokonazolis - tai plataus spektro priešgrybinis vaistas, ilgą laiką ir didelėmis dozėmis naudojamas imunosupresinių pacientų grybinėms infekcijoms gydyti. Gali būti naudojamas tepalo forma, geriamoji forma naudojama rečiau, tik rimtoms ir išplitusioms infekcijoms gydyti. Dažniausia panaudojimo sritis – grybinių odos infekcijų gydymas [66-67].

Brangiai kainuojantis gydymas, ilga jo trukmė, neefektyvus infekcijos valdymas, pacientų nepaklusnumas, hepatotoksinis vaistų poveikis ir jų sukeliama virškinamojo trakto sutrikimai turi neigiamų pasekmių paciento gydymo eigai. Dėl šios priežasties tarptautiniai komitetai kuria ir nuolat atnaujina gydymo šiais vaistais protokolus bei rekomendacijas.

Nagų grybinėms infekcijoms gydyti yra naudojami paviršinio ir sisteminio veikimo vaistai. Flukonazolis, itrakonazolis, imidazolai (klotrimazolis, ketokonazolis ir mikonazolis) ir alilaminai (terbinafinas) – tai pagrindiniai onichomikozės gydymui veiksmingi vaistai, saugūs naudoti žmonėms. Nustačius, jog infekciją sukėlė dermatofitai, jai gydyti galima pasitelkti terbinafiną, nes atlikti moksliniai tyrimai rodo, kad toks gydymas duoda gerus rezultatus. Jei infekciją sukėlė mieliagrybiai, ją galima efektyviai gydyti azolų grupės priešgrybiniais vaistais, dažniausiai – itrakonazoliu. Onichomikozės gydymas paviršinio veikimo vaistais ne visuomet yra efektyvus, šiais atvejais reikalingas sisteminis gydymas. Vaistai, naudojami sisteminiam gydymui, skirstomi į dvi dideles farmakologines grupes: alilaminus ir azolų derivatus [59, 61].

Deja, tyrimų, kuriuose analizuojamas grybų jautrumas onichomikozės ir kitų odos bei jos darinių infekcijų atvejais, yra labai nedaug. Šių infekcijų atvejai dažnai aprašomi kartu su gleivinių, šlapimo takų ir kraujo infekcijų atvejais. Dėl šios priežasties, palyginti odos ir jos darinių infekcijų atvejų paplitimą yra gana sudėtinga [61].

## IŠVADOS

1. Retrospektyvinės analizės metu nustatyta, jog dažniau grybų sukeltomis odos ir jos darinių infekcijomis sirgo moterys. Dažniausi moterų infekcijų sukėlėjai - mieliagrybiai, vyrų – dermatofitai. Dažniausias grybų tipas - mieliagrybiai, tačiau dažniausias infekcijos sukėlėjas - *T. rubrum*, kuris dažniau sukėlė infekcijas vyrams. Moterų rankų nagai buvo pažeidžiami dažniau nei vyrų. Vyrams dažnesni abiejų galūnių nagų pažeidimai. Dažniausiai kojų nagų, odos bei plaukuotos galvos dalies pažeidimus sukėlė dermatofitai, o rankų bei abiejų galūnių nagų pažeidimus – mieliagrybiai. Grybų tipas priklausė nuo pacientų amžiaus, dermatofitai infekciją dažniausiai sukėlė iki 12 metų, mieliagrybiai – virš 65 metų, o nedermatofitai – 21-49 ir 50-64 metų amžiaus grupėse. Kojų nagų pažeidimai dažnesni virš 65 metų, rankų nagų – 21-49 metų, abiejų galūnių nagų – virš 65 metų, plaukuotos galvos dalies ir odos – iki 12 metų amžiaus grupėse.
2. Tiksliausiai mikroskopiniu tyrimo metodu lyginant su mikrobiologiniu pasėliu yra nustatomi dermatofitai, prasčiausiai – mieliagrybiai. Apskaičiuotas mikroskopinio metodo jautrumas buvo 63,09%, specifiškumas- 67,77%. Jautriausia nistatinui grybų rūšis buvo *C. albicans*, atspariausia – *C. parapsilosis*. Jautriausia flukonazoliui – *C. parapsilosis*, atspariausia – *C. glabrata*. Jautriausia itrakonazoliui ir ketokonazoliui – *C. parapsilosis*, atspariausia – *C. albicans*.
3. Atlikus 50 išaugintų grybų kultūrų itrakonazolio ir flukonazolio DD ir MSK metodų palyginimą nustatyta, jog vertinant grybų jautrumą priešgrybiniams vaistams reikėtų remtis MSK metodo rezultatais dėl didesnio jų tikslumo.
4. Palyginus grybų identifikavimo MALDI-TOF metodu tiesioginio perkėlimo bei ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi protokolus patikimesni rezultatai buvo gauti ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi metodu. Atlikus statistinį palyginimą tarp rezultatų nebuvo statistiškai reikšmingo skirtumo. Tiksliesniam palyginimui atlikti reikėtų didinti tiriamąją imtį bei į ją įtraukiamų grybų rūšių skaičių.



## SANTRAUKA

### **Dermatofitijų sukėlėjų paplitimas ir laboratorinės diagnostikos metodų taikymas**

**Darbo tikslas:** Atlikti retrospektyvinę dermatofitijų analizę, apžvelgti ir palyginti gautus duomenis bei kasdienėje praktikoje taikomus dermatofitijų diagnostikos metodus.

**Darbo uždaviniai:** Atlikti retrospektyvinę 2014–2018 m. VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje nustatytų dermatofitijos atvejų analizę; Įvertinti 2014–2018 m. VUL SK Mikrobiologijos laboratorijoje nustatytų dermatofitijų sukėlėjų laboratorinės diagnostikos metodus bei išanalizuoti sukėlėjų jautrumą priešgrybiniams preparatams; Atlikti dviejų jautrumo nustatymo metodų – diskų difuzijos bei minimalios slopinančios koncentracijos nustatymo – palyginimą tiriant 50 išaugintų grybų rūšių; Identifikuoti 30 grybų kultūrų taikant du MALDI-TOF metodo protokolus – tiesioginio perkėlimo ir ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi – bei atlikti šių metodų palyginimą.

**Tyrimo objektas ir metodai.** Analizuoti VšĮ Vilniaus Universiteto Ligoninės Santaros Klinikų Mikrobiologijos laboratorijoje 2014–2018 metais atliktų 3166 teigiamų odos ir jos darinių pasėlių bei mikroskopinių tyrimų duomenys. Grybų rūšys identifikuotos remiantis MALDI-TOF metodu ir / arba remiantis jų makroskopiniais bei mikroskopiniais požymiais.

**Rezultatai.** Nustatyta, jog dažniau grybų sukeltomis infekcijomis sirgo moterys. Dažniausi moterų infekcijų sukėlėjai - mieliagrybiai, vyrų – dermatofitai. Dažniausias grybų tipas - mieliagrybiai, o infekcijos sukėlėjas - *T. rubrum*, dažniau sukėlęs infekcijas vyrams. Moterų rankų nagai buvo pažeidžiami dažniau nei vyrų. Vyrams dažnesni abiejų galūnių nagų pažeidimai. Dažniausiai kojų nagų, odos bei skalpo pažeidimus sukėlė dermatofitai, o rankų bei abiejų galūnių nagų pažeidimus – mieliagrybiai. Kojų nagų pažeidimai dažnesni virš 65 metų, rankų nagų – 21-49 metų, abiejų galūnių nagų – virš 65 metų, skalpo ir kūno odos – iki 12 metų amžiaus grupėse. Geriausiai mikroskopiniu tyrimo metodu nustatomi dermatofitai, prasčiausiai – mieliagrybiai. Jauriausia nistatinui – *C. albicans.*, atspariausia – *C. parapsilosis*. Jautriausia flukonazoliui – *C. parapsilosis*, atspariausia – *C. glabrata*. Jautriausia itrakonazoliui ir ketokonazoliui – *C. parapsilosis*, atspariausia – *C. albicans*. Itrakonazolio ir flukonazolio DD ir MSK metodų palyginimas parodė, jog vertinant grybų jautrumą priešgrybiniams vaistams reikėtų remtis MSK metodo rezultatais dėl didesnio jų tikslumo. Palyginus grybų identifikavimo MALDI-TOF metodu tiesioginio perkėlimo bei ekstrakcijos skruzdžių rūgštimi protokolus geresni rezultatai gauti antruoju metodu, tačiau tarp rezultatų nebuvo statistiškai reikšmingo skirtumo.

## SUMMARY

### **Prevalence of pathogens causing dermatophytosis and application of laboratory diagnostic methods**

**The aim of the Thesis:** To perform a retrospective analysis of dermatophytosis, review and compare its laboratory diagnostic methods used in everyday practice.

**Objectives:** To perform retrospective analysis of dermatophytosis cases examined in Vilnius university hospital Santaros clinics (VUH SC) Microbiology laboratory (ML) in 2014 – 2018 period; To compare laboratory diagnostic methods of dermatophytosis used in VUH SC ML in 2014-2018 period; To compare two antifungal susceptibility testing methods – disk diffusion method and minimal inhibitory concentration method - in 50 fungal samples. To identify 30 fungal cultures using MALDI-TOF methods and compare two different identification protocols.

**Methods:** A retrospective analysis of five-year period was performed at VUH SK CLM. There were 3165 clinical samples tested for dermatophytosis and susceptibility to antifungals. Susceptibility to antifungals was evaluated according to manufacturer's recommendations (MAST diagnostics, Germany). Fungal species were identified by MALDI-TOF method, morphological and microscopic characteristics.

**Results.** Female patients were more frequently affected than male patients. Female infections mostly were caused by yeasts and male infections – by dermatophytes. Yeasts were the most common type of isolated fungi, but the most frequent causative agent was *T. rubrum*, which was more common in male cases. The lesions of toe nails, skin and scalp mainly were caused by dermatophytes and lesions of hand nails and nails of both limbs by yeasts. Lesions of toenails and nails of both limbs were more common in age group above 65 years, lesions of hand nails – in 21-49, lesions of scalp and skin – in below 12 years age groups. The most susceptible to nystatin was *C. albicans*, the most resistant – *C. parapsilosi*. The most susceptible to fluconazole was *C. parapsilosis*, the most resistant – *C. glabrata*. The most susceptible to itraconazole and ketoconazole was *C. parapsilosis*, the most resistant – *C. albicans*. The evaluation of DDM and MIC methods shows that susceptibility to itraconazole and fluconazole should be determined using MIC method. Results of evaluation of two MALDI-TOF protocols have not shown no statistical significant results.

## PADĖKA

*Norėčiau nuoširdžiai padėkoti:*

Darbo vadovei **Asist. Dr. Silvijai Kiverytei** už vertingas konsultacijas ir pastabas rašant šį darbą.

**Dr. Algimantui Paškevičiui** už suteiktą pagalbą, pastabas ir pasiūlymus diagnostinių tyrimų atlikimui bei rezultatų vertinimui, jų palyginimui.

VUL SK Mikrobiologijos laboratorijos **kolektyvui** už draugišką darbo atmosferą, pagalbą atliekant šiame darbe aprašomus tyrimus bei palaikymą.

Draugui **Pauliui Jacevičiui**, už nuolatinį paskatinimą, moralinį palaikymą, pagalbą taisant darbo stiliaus ir rašybos klaidas bei atliekant surinktų tyrimų duomenų statistinę analizę.

**Mamai**, už palaikymą ir pagalbą atliekant darbo formatavimą pagal nurodytus darbo metodinius reikalavimus.

## LITERATUROS SĄRAŠAS

1. Odos grybelis: kaip išvengti ir gydyti. *Lietuvos gydytojo žurnalas. Dermatologijos aktualijos* 2016 Nr. 6. 2016 m.
2. Ghannoum, Mahmoud ir Isham, Nancy. *Fungal Nail Infections (Onychomycosis): A Never-Ending Story?*, PLOS Pathogens, 2014; 10 (6). DOI: 10.1371/journal.ppat.1004105
3. Pariser, David M, et al. *Managing Onychomycosis New and Emerging Treatments and Recurrence Prevention Strategies*. *Dermatology News*. 2015; 34 (3):4. Interneto prieiga: [http://www.globalacademycme.com/fileadmin/pdf/supplement\\_pdf/SCMS\\_Onychomycosis\\_Supplement\\_.pdf](http://www.globalacademycme.com/fileadmin/pdf/supplement_pdf/SCMS_Onychomycosis_Supplement_.pdf).
4. Bitew, Adane. *Dermatophytosis: Prevalence of Dermatophytes and Non-Dermatophyte Fungi from Patients Attending Arsho Advanced Medical Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia*. *Dermatology Research and Practice*. 2018. DOI: 10.1155/2018/8164757. eCollection 2018.
5. Piraccini, Bianca Maria ir Alessandrini, Aurora. *Onychomycosis: A Review*. *Journal of Fungi*. 2015; 1(1):30- 43. DOI: 10.3390/jof1010030.
6. Ben Youssef, A, et al. *Onychomycosis: Which fungal species are involved? Experience of the Laboratory of Parasitology-Myecology of the Rabta Hospital of Tunis*. *Journal de Mycologie Médicale*. 2018; 28(4):651-654. DOI: 10.1016/j.mycmed.2018.07.005. Epub 2018 Aug 11
7. Černauskienė, Karolina ir Kontautienė, Silvija . Onichomikozės diagnostika ir gydymas. *Lietuvos gydytojo žurnalas. Dermatologijos aktualijos*. 2016 m.
8. Gailevičius, P. *Vaikų odos ligos*. Kaunas : Spindulys, 2001. p. 29.
9. Jaskovikienė, J. Onichomikozė – ne tik kosmetinė problema. *Farmacija ir laikas*. 2005 m.
10. Nagų grybelio gydymas: priemonių veiksmingumo in vitro palyginimas. *Lietuvos gydytojo žurnalas Nr. 6*. 2016 m.
11. Hayette, Marie-Pierre ir Sacheli, Rosalie s.l. *Dermatophytosis, Trends in Epidemiology and Diagnostic Approach*. Springer US Current Fungal Infection Reports. 2015; p.164–179. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12281-015-0231-4>
12. Sigurgeirsson , B. ir Baran, R. *The prevalence of onychomycosis in the global population – A literature study*. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013; 28(11):1480-91. DOI: 10.1111/jdv.12323. Epub 2013 Nov 28.
13. Novickij, Vitalij, et al. *Controlled inactivation of Trichophyton rubrum using shaped electrical pulse bursts: Parametric analysis*. *Biotechnology Progress*. 2016; 32 (4):1056-60. DOI: 10.1002/btpr.2276. Epub 2016 Apr 27.
14. Paškevičius, A. ir Švedienė, J. *Distribution and Species Composition of Causative Agents of Dermatophytoses in Lithuania*. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2013; 21(2):99-104.
15. The University of Adelaide. Mycology online: Trichophyton.

- <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/dermatophytes/trichophyton/>. [Tinkle]
16. The University of Adelaide. Mycology online: Microsporum. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/dermatophytes/microsporum/>. [Tinkle]
17. The University of Adelaide. Mycology online: Aspergillus. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>. [Tinkle]
18. Bongomin, Felix, et al. *A Review of Onychomycosis Due to Aspergillus Species*. *Mycopathologia*. 2018; 183(3):485–493. DOI: 10.1007/s11046-017-0222-9. Epub 2017 Nov 16.
19. The University of Adelaide. Mycology online: Fusarium. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/fusarium/>. [Tinkle]
20. The University of Adelaide. Mycology online: Candida. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/candida/>. [Tinkle]
21. The University of Adelaide. Mycology online: Pichia. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/pichia/>. [Tinkle]
22. The University of Adelaide. Mycology online: Clavispora lusitaniae. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/clavispora/>. [Tinkle]
23. The University of Adelaide. Mycology online: Meyerozyma guilliermondii. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/meyerozyma/>. [Tinkle]
24. The University of Adelaide. Mycology online: Trichosporon. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/trichosporon/>. [Tinkle]
25. Rizzitelli, Gaetano, et al. *Onychomycosis caused by Trichosporon mucoides*. *International Journal of Infectious Diseases*. 2016; 42:61-63. DOI: 10.1016/j.ijid.2015.11.011. Epub 2015 Nov 19.
26. The University of Adelaide. Mycology online: Rhodotorula. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/rhodotorula/>. [Tinkle]
27. Martini, K, et al. *Nail psoriasis masqueraded by secondary infection with Rhodotorula mucilaginosa*. *Mycoses. Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases*. 2013; 56(6):690-692. DOI: 10.1111/myc.12091. Epub 2013 May 20.
28. The University of Adelaide. Mycology online: Scopulariopsis. <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/scopulariopsis/>. [Tinkle]
29. Onkohematologinių ligų apibūdinimai. <https://oncohemakey.com/superficial-fungal-diseases-of-the-hair-skin-and-nails/>. [Tinkle]
30. Momentinė ekrano nuotrauka iš vaizdo įrašo. Toenail Fungus Removal - How to Cut Toenail Fungus. [https://www.youtube.com/watch?v=iKxz1\\_s3Om0](https://www.youtube.com/watch?v=iKxz1_s3Om0). [Tinkle]
31. Momentinės ekrano nuotraukos iš vaizdo įrašo. Mycology Specimen Collection. [https://www.youtube.com/watch?time\\_continue=136&v=WyyjhA5gG7M](https://www.youtube.com/watch?time_continue=136&v=WyyjhA5gG7M). [Tinkle]
32. Ikram, Rosemary. *Collecting specimens for the investigation of fungal infections*. *Best Tests*. 2011;

33. *Paveikslėlis iš straipsnio*. Soni, Anisha ir Siu, Win Leung. *How to treat fungal nail effectively*. The Pharmaceutical Journal.2018
34. Technical sheet: Sabouraud Dextrose Agar. <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni/schede-tecniche-inglese/TS-4020052.pdf>. [Tinkle]
35. Liofilchem. Instructions For Use: Corn Meal Agar. [http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/11507\\_IFU.pdf](http://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/11507_IFU.pdf). [Tinkle]
36. Biomaxima. Quality Control Certificate: Dermatophytes Lab-Agar.
37. Quality Control Certificate: Mueller Hinton Lab-Agar + Glucose + Methylene Blue. 2019.
38. Biolife Italiana S.r.l. Quality Control Certificate: RPMI agar.
39. Biolife Italiana S.r.l. Quality Control Certificate: Chromogenic Candida Agar.
40. Acharya, Tankeshwar . Microbeonline. *KOH Preparation Test: Principle, Procedure, Results and Uses*. [Tinkle] 2016 m. <https://microbeonline.com/koh-preparation-test-principle-procedure-results-uses/>.
41. Žvirgždas, J. *Grybų identifikavimo maldi-tof metodu tyrimo metodikos tobulinimas įvertinant įvairių veiksmų įtaką jo kokybei*. 2016 m.
42. Lėkštelė su uždėtais diskais (paveikslėlis). [Tinkle] <https://www.fishersci.com/shop/products/thermo-scientific-remel-mueller-hinton-agar-w-4-nacl-oxacillin-mrsa-screen-ag-mueller-hinton-agar-w-4-nacl-6-mcg-ml-oxacillin-mrsa-screen-agar-format-monoplate-pack-10/r01626>.
43. Pfaller, A. Michael , Kauffman, A. Carol ir Thorner, R. Anna s.l. *Antifungal susceptibility testing*. Wolters Kluwer, 2018 m.
44. MIC Test Strip Application Guide. Liofilchem, 2015 m.
45. CLSI M60-ED1:2017 Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI M60 ED1:2017&scope=user>. [Tinkle] 2017 m.
46. MIC Test Strip Technical Sheet Yeast. [Tinkle] 2016 m. [http://www.liofilchem.net/login.area.mic/technical\\_sheets/MTS24.pdf](http://www.liofilchem.net/login.area.mic/technical_sheets/MTS24.pdf).
47. Antifungal disc: Discs for antifungal susceptibility test of yeasts. [Tinkle] 2012 m. <https://www.liofilchem.com/images/prodotti-evidenza/antibiotic-disc/AFD.pdf>.
48. Fatahinia, Mahnaz, et al. *Mycological aspects of onychomycosis in Khuzestan Province, Iran: A shift from dermatophytes towards yeasts*. Current Medical Mycology. 2017; 4(3):26–31. DOI: 10.29252/cmm.3.4.26.
49. Seck, M. C., et al. *Mycological profile of onychomycosis in Dakar (Senegal)*. Journal de Mycologie Médicale; 2014; 24(2):124-128. DOI: 10.1016/j.mycmed.2014.02.002. Epub 2014 Mar 14.

50. Diongue, K., et al. *Causative agents of superficial mycoses isolated in Dakar, Senegal: Retrospective study from 2011 to 2015*. *Journal de Mycologie Médicale*. 2016. 26(4):368-376. DOI: 10.1016/j.mycmed.2016.08.003. Epub 2016 Aug 31.
51. Vineetha, Mary, et al. *Profile of Dermatophytosis in a Tertiary Care Center*. *Indian Journal of Dermatology*. 2018; 63(6):490–495. DOI: 10.4103/ijd.IJD\_177\_18
52. Cengiz, Fatma Pelin, et al. *Etiology of Onychomycosis in Patients in Turkey*. *Journal of the American Podiatric Medical Association*. 2018; 103(3):253-256. DOI: 0.7547/16-139. Epub 2017 Jun 8.
53. Motamedi, Marjan , et al. *Growing Incidence of Non-Dermatophyte Onychomycosis in Tehran, Iran*. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2016; 9(8). Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27800138>
54. Shenoy , M. M., et al. *Comparison of potassium hydroxide mount and mycological culture with histopathologic examination using periodic acid-Schiff staining of the nail clippings in the diagnosis of onychomycosis*. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2008; 74(3):226-229. DOI:
55. *Hyderabad*. Manick Dass, S., et al. *Comparison of KOH, Calcofluor White and Fungal Culture for Diagnosing Fungal Onychomycosis in an Urban Teaching Hospital*. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2015; 175 (4):315–321.
56. Shafi Dar, M., et al. *An in vitro study of antifungal drug susceptibility of Candida species isolated from human immunodeficiency virus seropositive and human immunodeficiency virus seronegative individuals in Lucknow population Uttar Pradesh*. *Journal of Oral and Maxillo Facial Pathology*. 2015; 19(2):205–211. DOI: 10.4103/0973-029X.164534
57. DrugBank version 5.1.3. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] 2019 m. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00646>.
58. Pakshir, K., et al. *Molecular identification and in-vitro antifungal susceptibility testing of Candida species isolated from patients with onychomycosis*. 2015; 4(1):26-32. DOI: 10.18869/acadpub.cmm.1.4.26.
59. Sav , H., et al. *The frequency, antifungal susceptibility and enzymatic profiles of Candida species in cases of onychomycosis infection*. 2018; 116:257-262. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.01.036. Epub 2018 Feb 20.
60. Kulkarni, S. S., Bhakre, J. B. ir Damle, A. S. *In vitro susceptibility testing of four antifungal drugs against fungal isolates in onychomycosis*. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20183268>
61. Mobin , M., et al. *Antifungal Susceptibility of Candida Species Isolated from Horticulturists with Onychomycosis in Piauí, Brazil*. *Iranian Journal of Public Health*. 2018; 47(12):1816-1821. Prieiga per internetą:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Antifungal+Susceptibility+of+Candida+Species+Isolated+from+Horticulturists+with+Onychomycosis+in+Piau%C3%AD%2C+Brazil>

62. Badiie, P. ir Alborzi, A. *Susceptibility of clinical Candida species isolates to antifungal agents by E-test, Southern Iran: A five year study*. Iranian Journal of Microbiology. 2011; 4(3):183–188.
63. DrugBank version 5.1.3. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] 2019 m. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00196>.
64. DrugBank version 5.1.3. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] 2019 m. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01167>.
65. Drugs.com. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] <https://www.drugs.com/pro/itraconazole.html>.
66. Drugs.com. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] 2019 m. <https://www.drugs.com/search.php?searchterm=ketoconazole>.
67. DrugBank version 5.1.3. *Informacija apie vaistą*. [Tinkle] 2019 m. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01026>.
68. Hassanzadeh Rad, Babak , et al. *Epidemiological Survey of Human Dermatophytosis due to Zoophilic Species in Tehran, Iran*. Iranian Journal of Public Health. 2018; 47(12):1930–1936.
69. Khaled, Jamal M., et al. *Dermatophyte and non dermatophyte fungi in Riyadh City, Saudi Arabia*. Saudi Journal of Biological Sciences. 2015; 22(5):604-609.DOI: 10.1016/j.sjbs.2014.12.006. Epub 2015 Jan 5.
70. Hilmioğlu-Polat, S., et al. *Non-dermatophytic Molds as Agents of Onychomycosis in Izmir, Turkey – A Prospective Study*. Mycopathologia. 2005; 160(2):125–128. Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=non+dermatophyte+molds+as+agents+of+onychomycosis+in+izmir>.
71. Pathania, Sucheta , et al. *A prospective study of the epidemiological and clinical patterns of recurrent dermatophytosis at a tertiary care hospital in India*. Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology. 2018; 678-684.
72. Paveikslėlis iš Wikipedia The Free Encyclopedia. [https://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium\\_oxysporum](https://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_oxysporum). [Tinkle]
73. Denning, David . LIFE: Leading International Fungal Infection Education. [Tinkle] <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/fusarium-solani>.
74. Candida albicans augimas - paveikslėlis. <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2009/12/candida-albicans.html>. [Tinkle]
75. Candida albicans mikroskopinė morfologija - paveikslėlis. <https://www.pinterest.com/pin/346777240044831108/>. [Tinkle]
76. Anderson, H. W. , Meyer , S. A. ir Yarrow . JCM Catalogue: Candida glabrata (paveikslėlis). [https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Candida&BN=glabrata&CN=&DN=](https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Candida&BN=glabrata&CN=&DN=). [Tinkle]
77. Hardy, Jay . Candida glabrata: Sometimes a problem, sometimes not.... <http://www.hardydiagnostics.com/wp-content/uploads/2016/05/Candida-glabrata.pdf>. [Tinkle]



78. Ashford, Langeron ir Talice. JCM Catalogue: Candida parapsilosis (paveikslēlis). [https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Candida&BN=parapsilosis&CN=&DN=](https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Candida&BN=parapsilosis&CN=&DN=). [Tinkle]
79. *Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance*. Silva, S., et al. 2012 m., FEMS Microbiology Reviews, p. 288-305.
80. Candida tropicalis kolonijos (paveikslēlis). [http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/fungi/c/Candida\\_tropicalis\\_colony.htm](http://www.pf.chiba-u.ac.jp/gallery/fungi/c/Candida_tropicalis_colony.htm). [Tinkle]
81. Candida tropicalis mikroskopinis vaizdas (paveikslēlis). <https://alchetron.com/Candida-tropicalis>. [Tinkle]
82. C. tropicalis mikroskopinis vaizdas (paveikslēlis). [http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/subpages/candidatropicalis1sp.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/subpages/candidatropicalis1sp.html). [Tinkle]
83. C. krusei augimas (paveikslēlis iš RIKEN-BRC Microbe Division). <https://www.jcm.riken.jp/JCM/img/JCM1442A.jpg>. [Tinkle]
84. Candida krusei mikroskopinis vaizdas (paveikslēlis). <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/yeast-mold/candida-krusei>. [Tinkle]
85. C. lusitaniae augimas (paveikslēlis). <http://retina.usal.es/index.php?album=biologia/levaduras/clavispora-lusitaniae&image=clavispora-lusitaniae2.jpg>. [Tinkle]
86. C. lusitaniae mikroskopinis vaizdas (paveikslēlis). [https://redsearch.org/images/p/clavispora\\_lusitaniae#images-4](https://redsearch.org/images/p/clavispora_lusitaniae#images-4). [Tinkle]
87. C. guilliermondii augimas (paveikslēlis). [https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Candida&BN=guilliermondii&CN=&DN=](https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Candida&BN=guilliermondii&CN=&DN=). [Tinkle]
88. Wahengbam, Romi, et al. *Reliable differentiation of Meyerozyma guilliermondii from Meyerozyma caribbica by internal transcribed spacer restriction fingerprinting*. BMC Microbiology. 2019.
89. Paveikslēlis iš Wikipedia The Free Encyclopedia. [https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodotorula#/media/File:Rhodotorula\\_mucilaginosa\\_colonies\\_45.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodotorula#/media/File:Rhodotorula_mucilaginosa_colonies_45.jpg). [Tinkle]
90. Lee, Jaehyeon. Paveikslēlis iš ResearchGate. [https://www.researchgate.net/figure/Gram-stain-of-Rhodotorula-mucilaginosa-magnification-1-000\\_fig2\\_299480532](https://www.researchgate.net/figure/Gram-stain-of-Rhodotorula-mucilaginosa-magnification-1-000_fig2_299480532). [Tinkle]
91. Yuri. S. brevicaulis augimas ir mikroskopinis vaizdas (paveikslēlis). <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2012/03/scopulariopsis-brevicaulis.html>. [Tinkle]


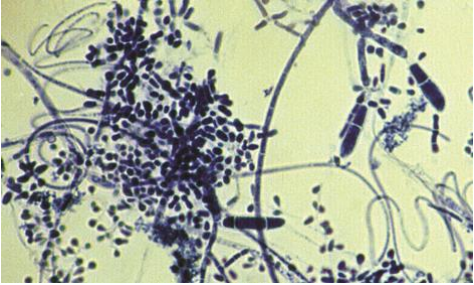
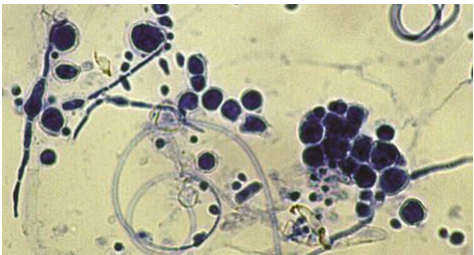
## 1 PRIEDAS

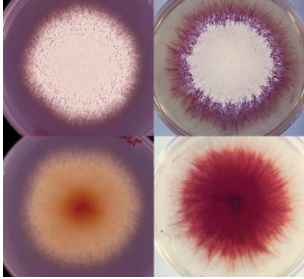
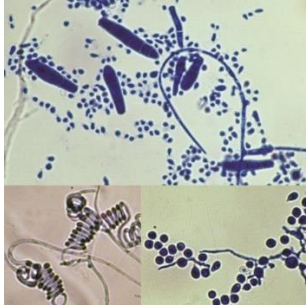

Labiausiai paplitę dermatofitijų tipai skirtinguose pasaulio regionuose [2, 4, 11-12, 48-53, 68-70].

Regionas	Dažniausios infekcijos formos	Dažniausi infekcijos sukėlėjai	Dažniausia infekcijos lokalizacija
Vakarų Azija	<i>Onichomikozė;</i> <i>Tinea capitis;</i> <i>Tinea cruris;</i> <i>Tinea manuum;</i> <i>Tinea pedis;</i>	<i>T. verrucosum;</i> <i>T. rubrum;</i> <i>T. tonsurans;</i> <i>T. mentagrophytes;</i> <i>C. Albicans;</i> <i>M. canis;</i> <i>E. floccosum.</i>	Galvos plaukuotos dalies; Rankų, delnų, padų, kirkšnių, kitų kūno vietų oda; Kojų nagai; Padų ir tarpupirščių oda.
Pietų Azija	<i>Tinea corporis;</i> <i>Tinea capitis;</i> <i>Tinea cruris.</i>	<i>T. mentagrophytes;</i> <i>T. tonsurans;</i> <i>T. rubrum;</i> <i>M. gypseum;</i> <i>M. canis.</i>	Įvairių kūno vietų oda; Galvos plaukuota dalis; Kirkšnių sritis.
Rytų Azija	<i>Tinea pedis;</i> <i>Tinea unguium</i> ( <i>onichomikozė</i> ).	<i>T. rubrum;</i> <i>T. tonsurans.</i>	Pėdų oda; Kojų nagai.
Vakarų Afrika	<i>Tinea capitis;</i> <i>Tinea unguium.</i>	<i>T. soudanense;</i> <i>T. rubrum;</i> <i>M. canis;</i> <i>C. Albicans.</i>	Galvos plaukuotos dalies oda; Kojų nagai.
Rytų ir Pietų Afrika	<i>Tinea capitis;</i>	<i>T. violaceum</i>	Galvos plaukuotos dalies oda.
Šiaurės Afrika	<i>Onichomikozė;</i>	<i>T. rubrum;</i> <i>C. Albicans.</i>	Kojų ir rankų nagai.
Vakarų Europa	<i>Tinea pedis;</i> <i>Onichomikozė</i>	<i>T. rubrum;</i> <i>T. tonsurans.</i>	Pėdų oda, tarpupirščiai; Kojų ir rankų nagai.
Pietvakarių Europa	<i>Tinea capitis;</i> <i>Tinea corporis.</i>	<i>T. mentagrophytes;</i> <i>T. violaceum;</i> <i>M. canis.</i>	Galvos plaukuota dalis; Įvairių kūno vietų oda.
Šiaurės ir Rytų Europa	<i>Onichomikozė;</i>	<i>T. rubrum;</i> <i>T. mentagrophytes.</i>	Kojų nagai;
Šiaurės ir Pietų Amerika	<i>Tinea pedis;</i> <i>Onichomikozė.</i>	<i>T. rubrum</i>	Kojų nagai; Kojų tarpupirščių ir padų oda.
Australija	<i>Tinea pedis;</i> <i>Onichomikozė.</i>	<i>T. rubrum;</i> <i>T. mentagrophytes</i>	Kojų nagai;

## 2 PRIEDAS

Grybų rūšių identifikavimas remiantis makroskopinėmis ir mikroskopinėmis jų savybėmis.

Gentis	Rūšis	Makroskopinė morfologija	Mikroskopinė morfologija
<i>Trichophyton</i>	<i>T. Interdigitale</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos plokščios, kreminės - baltos spalvos, miltelių pavidalo, ar į zomšą panašus paviršius (1 pav.);</li> <li>• Būdinga gelsvos - rausvai rudos spalvos pigmentacija;</li> <li>• Ilgėjant kultūros amžiui ji įgauna tamsesnę rausvai rudą atspalvį.</li> </ul> <div style="text-align: center;">  <p><i>1 pav. Geltonai balta T. interdigitale kolonija Sabouraud agare, po savitės inkubacijos [71].</i></p> </div>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pusapvalės, kriaušės formos mikrokonidijos (2-3 pav.);</li> <li>• Kartais - spiraliniai hifai ir sferiškos chlamidosporos, kurių didėjant kultūros amžiui daugėja;</li> <li>• Matomos plonos, kuokos formos, plonasienės, multiseptuotos makrokonidijos.</li> </ul> <div style="text-align: center;">  <p><i>2 pav. T. interdigitale mikrokonidijos, makrokonidijos ir spiraliniai hifai [15].</i></p>  <p><i>3 pav. T. interdigitale chlamidokonidijos [15].</i></p> </div>

<i>T. mentagrophytes</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos dažniausiai plokščios, baltos - kreminės spalvos, miltelių ar granuliuoto pavidalo paviršiumi (4 pav.);</li> <li>• Kai kultūroms būdingas įdubimas ar iškilimas kolonijos centre, pleomorfinės, primenančios zomšą, tarsi „pūkuotos“ zonos;</li> <li>• Dažniausiai būdinga geltonai ruda – rausvai ruda pigmentacija.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>4 pav.</b> <i>T. mentagrophytes</i> kultūros [15].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suformuoja daug vienlaščių mikrokonidijų, ypač tankesnėse dalyse (5 pav.);</li> <li>• Mikrokonidijos hialininės, plonasienės, dažniausiai sferiškos ar pusiau sferiškos formos;</li> <li>• Gali pasitaikyti ir kuokos ar kriaušės formos mikrokonidijų;</li> <li>• Gali būti aptinkami įvairūs kiekiai sferiškų chlamidosporų, spiralinių hifų ar lygių, plonasienių, kuokos formos daugialąstelių makrokonidijų.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>5 pav.</b> <i>T. mentagrophytes</i> mikrokonidijos, makrokonidijos, chlamidokonidijos ir spiraliniai hifai [15].</p>
<i>T. rubrum</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kultūros paviršiaus struktūra gali varijuoti nuo pūkuotos iki panašios į zomšą;</li> <li>• Pigmentacija nuo baltos ar kreminės iki intensyviai raudonos;</li> <li>• Galimi spalvos skirtumai nuo bespalvės iki gelsvos ar geltonai rudos iki raudonojo vyno raudonumo spalvos (6 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>6 pav.</b> Galimos <i>T. rubrum</i> pigmentų spalvos [15].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mikroskopiškai mikrokonidijos dažniausiai neaptinkamos, o jei jų aptinkama – jų kiekis būna vidutinis – gausus, forma varijuoja nuo kuokos, kriaušės formos iki plonų, cilindrinų ar cigaro formos konidijų, kurioms būdinga plona sienelė bei gausus septų skaičius (7-10 pav.).</li> <li>• Senesnėse kultūrose galima aptikti nemažą kiekį chlamidosporų su keliomis kuokos ar kriaušės formos mikrokonidijomis;</li> <li>• Makrokonidijų skaičius varijuoja nuo jų nebuvimo iki menkų konidijų ar gausaus jų kiekio, jos gali turėti arba neturėti terminalinių išsikišimų;</li> </ul>



**7 pav.** Tipiškos *T. rubrum* mikrokonidijos [15].



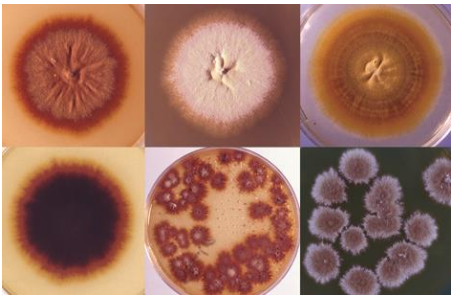
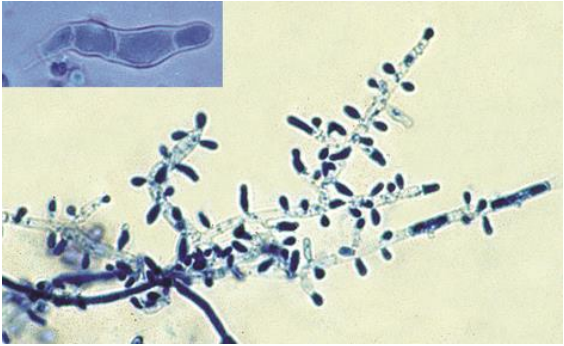

**8 pav.** Tipiškos *T. rubrum* mikrokonidijos [15].



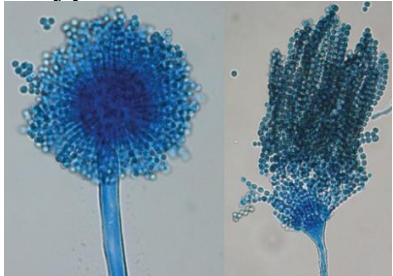


**9 pav.** *T. rubrum* mikrokonidijos ir cigaro formos makrokonidijos [15].



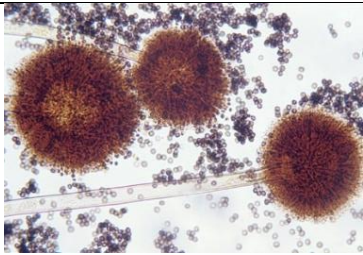


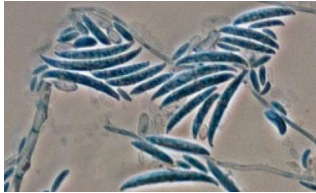
**10 pav.** *T. rubrum* mikrokonidijos ir makrokonidijos [15].



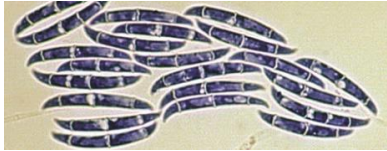
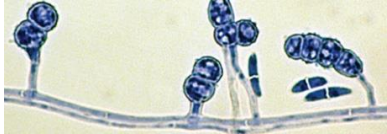
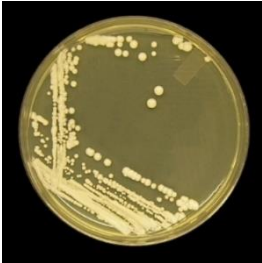
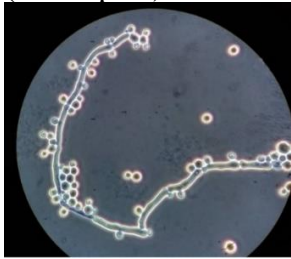
	<p style="text-align: center;"><i>T. tonsurans</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos varijuoja savo paviršiaus ir spalvinėmis savybėmis (11 pav.).</li> <li>• Jos gali būti tarsi zomšinės ar miltelių išvaizdos, plokščios su iškilusiu centru ar įdubusios, dažniausiai su radialialiniais grioveliais.</li> <li>• Spalva - nuo blyškios iki geltonos ar tamsiai rudos. Apatinio kolonijos paviršiaus spalva - nuo geltonai rudos iki rausvai rudos ar raudonmedžio</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><i>11 pav. T. tonsurans kultūrų morfologija [15].</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hifai santykinai platus, nevienodi, stipriai besišakojantys su daug septų (12 pav.);</li> <li>• Mikrokonidijos varijuoja dydžiu ir forma nuo ilgų kuokos pavidalo iki plačių kriaušės formos, yra prisitvirtinusios prie hifų;</li> <li>• Kai kuriose kultūrose gali būti matomos atsitiktinės lygios, plonasienės, nevienodos, kuokos formos makrokonidijos;</li> <li>• Senesnėse kultūrose gali būti matomos gigantinės mikrokonidijų formos ir chlamidosporos.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><i>12 pav. T. tonsurans hifai, mikrokonidijos ir makrokonidijos [15].</i></p>
<p style="text-align: center;"><i>Microsporium</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>M. canis</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos yra plokščios, plintančios, baltos – kreminės spalvos su tankiu į medvilnę panašiu paviršiumi, kuriame gali matytis keli radialiniai grioveliai (13 pav.);</li> <li>• Dažniausiai turi ryškią, auksinę geltoną – rudai geltoną pigmentaciją po kolonijomis, tačiau gali būti padermių, kurios neprodukuoja pigmento.</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><i>13 pav. M. canis kultūrų morfologija [16].</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Makrokonidijos - tipinės verpstės formos, su 5-15 celių (kamerų), storasienės su terminaliniais sustorėjimais, 35-110 x 12-25 mikrometrų dydžio (14 pav.);</li> <li>• Gali būti matomos kelios kuokos – kriaušės formos mikrokonidijos;</li> <li>• Makrokonidijos ir/arba makrokonidijos beveik niekad neaptinkamos pirminiuose pasėliuose (rekomenduojami pakartotiniai persėjimai sporuliacijai padidinti).</li> </ul>

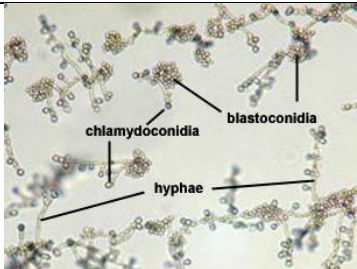

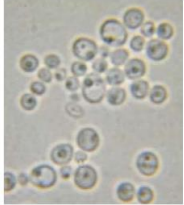



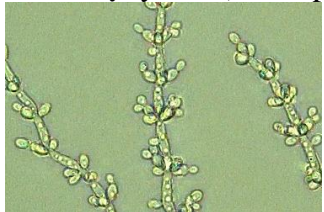
			 <p><i>14 pav. M. canis makrokonidijos ir mikrokonidijos [16].</i></p>
<p style="text-align: center;"><i>Aspergillus</i></p>	<p style="text-align: center;"><i>A. flavus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos dažniausiai granulių struktūros, plokščios, su radialiniais grioveliais, pirmiausia geltonos, o vėliau tampa ryškiai ar tamsiai geltonai žalios, priklausomai nuo kultūros amžiaus (15 pav.).</li> </ul>  <p><i>15 pav. A. flavus kultūra ir konidijos galvutė [17].</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konidijų galvutės dažniausiai spinduliškos, vėliau atsiskiriančios ir formuojančios atskirus stulpelius (300-400 mikrometrų diametro), besigrupuojančius į dvi eiles, bet turinčios kelias galvutes su fialidėmis (koteliais ar gijomis jungiančiomis su konidijomis ar spermatozine dalimi) gulinčiomis tiesiogiai ant pūslelės (16 pav.);</li> <li>• Konidijos rutuliškos ar pusrutulio formos (3-6 mikrometrų diametro), šviesiai žalios ir pastebimai echinuliotos (tarsi padengtos smulkiais spygliukais);</li> <li>• Kai kurios padermės turi rusvą sklerotiją.</li> </ul>  <p><i>16 pav. A. flavus konidijų galvutės [17].</i></p>

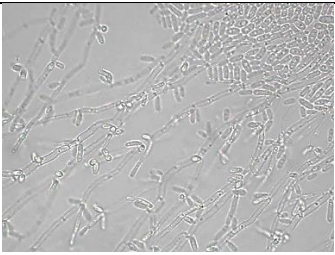

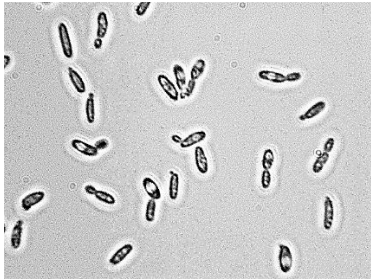

<i>A. fumigatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos yra žalsvai mėlynos, zomšiniu paviršiumi, kuris yra tankus ir primena veltinį, sudarytą iš konidioforų (32 pav.).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konidijų galvutės yra stulpelinės struktūros, iki 400 x 50 mikrometrų dydžio (dažnai mažesnės), vienacilės;</li> <li>• Konidioforų stiebeliai trumpi, plonasieniai, turi kūgio formos terminalines pūsleles, ant kurių prisitvirtina vienas sluoksnis fialidžių viršutiniuose dviejuose pūslelės trečdaliuose;</li> <li>• Konidijos produkuojamos bazinėje eilėje formuodamos ilgas grandinėles, yra rutulio ar pusrutulio formos, 2,5 – 3,0 mikrometrų diametro, žalios, smulkiai grūdėtos (17 pav.).</li> </ul> <div data-bbox="1008 709 1479 974" style="text-align: center;"> </div> <p><i>17 pav. Keturių A. fumigatus komplekso rūšių morfologiniai požymiai (iš kairės į dešinę): A. fumigatus, A. lentulus, Neosartorya fischeri, A. felis [17].</i></p>
<i>A. niger</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos susideda iš kompaktiško balto ar geltono bazinio sluoksnio, kurį dengia tankus juodai rudų ar visiškai juodų konidijų galvučių sluoksnis (18 pav.).</li> </ul> <div data-bbox="548 1346 813 1591" style="text-align: center;"> </div> <p><i>18 pav. A. niger kultūra [17].</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konidijų galvutės yra didelės, iki 3 milimetrų dydžio, 15 – 20 mikrometrų diametro, rutulio formos, tamsiai rudos, su amžiumi tampa spinduliškomis ir pradeda atsiskirti į atskirus laisvus stulpelius (19 pav.);</li> <li>• Konidioforų stiebeliai yra lygiasieniai, permatomi tarsi stikliniai ar su patamsėjimu netoli pūslelės;</li> <li>• Konidijų galvutės yra dvieilės, su fialidėmis, padengtomis rudomis, dažniausiai septuotomis metulėmis (lot. metula). Konidijos yra rutulio ar pusrutulio formos, 3,5 – 5 mikrometrų diametro, tamsiai rudos – juodos, šiurkščiomis sienelėmis</li> </ul>


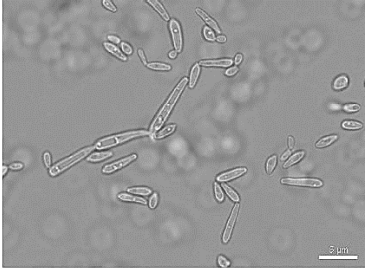

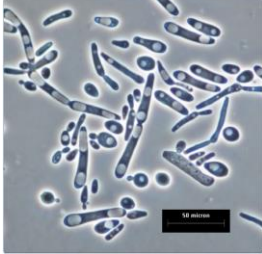
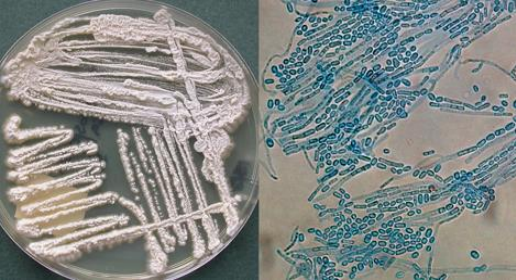



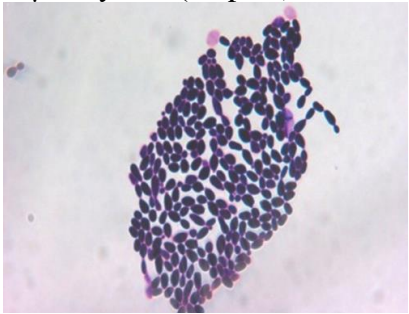

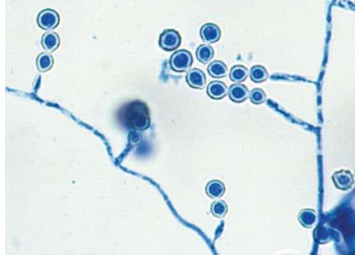
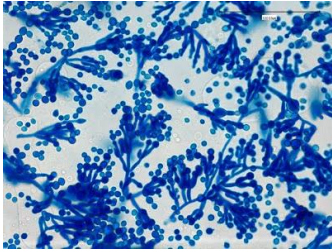
			 <p><b>19 pav. <i>A. niger</i> konidijų galvutės [17].</b></p>
<b><i>Fusarium</i></b>	<b><i>F. oxysporum</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos išauga greitai, pasiekia 4,5 cm per keturias dienas, orinis micelis yra baltas, tampa violetiniu su pavienėmis oranžinėmis sporodochijomis kai kuriose rūšyse (20 pav.).</li> <li>• Apatinis kolonijos paviršius yra stiklo skaidrumo – tamsiai mėlynas ar violetinis.</li> </ul>  <p><b>20 pav. <i>F. oxysporum</i> kultūra [72].</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konidioforai trumpi, pavieniai, būdingos lateralinės monofialidės oriniame micelyje, vėliau susigrupuojančios į tankiai šakotus telkinius (21-22 pav.).</li> <li>• Makrokonidijos yra verpstės formos, lengvai raukšlėtos, nukreiptos link viršūnės, dažniausiai su trimis septomis, bazinės ląstelės turi kotelius, yra 23 – 54 x 3,0 – 4,5 mikrometrų dydžio.</li> <li>• Mikrokonidijos gausios, niekad nesidėsto grandinėmis, dažniausiai neseptuotos, elipsoidinės – cilindrinės, tiesios ar dažnai lenktos, 5 – 12 x 2,3 – 3,5 mikrometrų dydžio.</li> <li>• Chlamidosporos yra terminalinės ar interkalarinės, stiklo skaidrumo, lygiomis ar šiurkščiomis sienelėmis, 5 – 13 mikrometrų dydžio.</li> </ul>  <p><b>21 pav. <i>F. oxysporum</i> mikrokonidijos ant trumpų fialidžių [19].</b></p>  <p><b>22 pav. <i>F. oxysporum</i> makrokonidijos [19].</b></p>

	<i>F. solani</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos yra greitai augančios, išauga iki 4,5 cm per keturias dienas, suformuoja baltą – kreminį orinį micelį, kuris tampa melsvai rudas atsiradus sporodichijoms (23 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>23 pav.</b> Makroskopinis <i>F. solani</i> vaizdas [73].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Makrokonidijos susiformuoja per 4-7 dienas iš smulkių šakotų konidioforų, kurie gali formuoti sporodichijas;</li> <li>• Jos yra 3-5 septų (dažniausiai 3), verpstės, cilindro formos, vidutiniškai išlenktos, turinčios pamatinę celę su plonu stiebėliu ir trumpą buką apikalinę celę, 28 – 42 x 2 – 4,5 mikrometrų dydžio chlamidosporos yra skaidrios, rutulio formos, šiurkščiomis ar lygiomis sienelėmis, išsidėstančios pavieniui ar po dvi ant trumpų lateraliųjų hifų šakų ar interkaliariai, 6 – 10 mikrometrų dydžio (24-26 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>24 pav.</b> <i>F. solani</i> mikrokonidijos ant ilgų fialidžių [19].</p>  <p style="text-align: center;"><b>25 pav.</b> <i>F. solani</i> chlamidosporos [19].</p>  <p style="text-align: center;"><b>26 pav.</b> <i>F. solani</i> chlamidosporos [19].</p>
<i>Candida</i>	<i>C. albicans</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Būdingos baltos – kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mėsą (27 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>27 pav.</b> <i>Candida albicans</i> augimas [74].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sferiškos ar pusiau sferiškos blastokonidijos, 2-7 x 3-8 mikrometrų dydžio (28-29 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;"><b>28 pav.</b> <i>Candida albicans</i> mikroskopinis vaizdas (autoraius nuotrauka).</p>

		 <p><b>29 pav. <i>C. albicans</i> konidijos ir hifai [75].</b></p>
<i>C. glabrata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (30 pav.).</li> </ul>  <p><b>30 pav. <i>C. glabrata</i> augimas [76].</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ovoidinės – elipsoidinės formos, pumpuruojančios blastokonidijos 3,4 x 2,0 mikrometrų dydžio. Neprodukuoja pseudohifų ir chlamidosporų (31 pav.).</li> </ul>  <p><b>31 pav. <i>C. glabrata</i> mikroskopinis vaizdas [77].</b></p>
<i>C. parapsilosis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (32 pav.);</li> </ul>  <p><b>32 pav. <i>C. parapsilosis</i> augimas [78].</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dažniausiai mažos, apvalios – ovoidinės, 3-4 x 5-8 mikrometrų dydžio blastokonidijos, kartais gali būti didesnės, išilgėjusios (33 pav.).</li> </ul>  <p><b>33 pav. <i>C. parapsilosis</i> mikroskopinis vaizdas [79].</b></p>
<i>C. Tropicalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (34 pav.).</li> </ul>  <p><b>34 pav. <i>C. tropicalis</i> augimas [80].</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sferiškos ar pusiau sferiškos, pumpuruojančios į mieles panašios ląstelės ar blastokonidijos, 3,5 – 7 x 5,5 x 10 mikrometrų dydžio (35-36 pav.).</li> </ul>  <p><b>35 pav. <i>C. tropicalis</i> mikroskopinis vaizdas [81].</b></p>

			 <p><b>36 pav.</b> <i>C. tropicalis</i> mikroskopinis vaizdas [82].</p>
<i>Pichia</i>	<i>P. kudriavzevii</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (37 pav.);</li> </ul>  <p><b>37 pav.</b> <i>P. kudriavzevii</i> augimas [83].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ovoidinės 2-5 x 4-5 mikrometrų dydžio blastokonidijos (38-39 pav.).</li> </ul>  <p><b>38 pav.</b> <i>P. kudriavzevii</i> mikroskopinis vaizdas [84]</p>  <p><b>39 pav.</b> <i>P. kudriavzevii</i> mikroskopinis vaizdas [84].</p>

<p><i>Clavispora</i></p>	<p><i>C. lusitaniae</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (40 pav.).</li> </ul>  <p>40 pav. <i>C. lusitaniae</i> augimas [85].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ovoidinės ar elipsoidinės pumpuruojančios blastokonidijos, 1.5-6.0 x 2.5-10 μm dydžio (41 pav.).</li> </ul>  <p>41 pav. <i>C. lusitaniae</i> mikroskopinis vaizdas [86].</p>
<p><i>Meyerozyma</i></p>	<p><i>M. guilliermondii</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos kolonijos, lygiu paviršiumi, panašios į mielių (42 pav.).</li> </ul>  <p>42 pav. <i>M. guilliermondii</i> augimas [87].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sferinės ar pusiau sferinės, pumpuruojančios, į mieles panašios ląstelės ar blastokonidijos, 2.0-4.0 x 3.0-6.5 μm dydžio (43 pav.).</li> </ul>  <p>43 pav. <i>M. guilliermondii</i> mikroskopinis vaizdas [88].</p>
<p><i>Trichosporon</i></p>	<p><i>T. asahii</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kreminės spalvos, miltingos, tarsi zomšinės – „apibarstytos miltais“, su radialinėmis vagomis ir netaisyklingomis raukšlėmis (45 pav.).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pumpuruojančios ląstelės ir lateralinės konidijos nebūdingos, artrokonidijos – statinės formos, apresorijos – nebūdingos (44 pav.).</li> </ul>  <p>44 pav. <i>T. asahii</i> augimas ir mikroskopinis vaizdas – hifai ir artrokonidijos [24].</p>

<i>Rhodotorula</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos rausvos spalvos, lygios, kartais tinkliškos su įlinkimais ar gofruotos, drėgnos – gleivėtos, panašios į mieles (45 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;">45 pav. <i>R. mucilaginosa</i> augimas [89].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sferiškos ar išilgėjusios, pumpuruojančios, į mieles panašios ląstelės ar blastokonidijos, 2.5-6.5 x 6.5-14.0 μm dydžio (46 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;">46 pav. <i>R. mucilaginosa</i> mikroskopinis vaizdas (dažytame tepinėlyje) [90].</p>
<i>Scopulariopsis</i>	<i>S. brevicaulis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonijos greitai augančios, baltos, kreminės, pilkos, tamsiai geltonos, rudos, juodos, tačiau dažniausiai būna šviesiai rudos (47 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;">47 pav. <i>S. brevicaulis</i> augimas [91].</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vienaląsčių konidijų grandinėlių, konidijos yra apvalios, ar kriaušės formos, sutrumpėjusios, tarsi nupjautos, su suapvalėjusia distaline dalimi, lygios arba šiurkščios, permatomos tarsi stiklas arba rudos spalvos (48-49 pav.).</li> </ul>  <p style="text-align: center;">48 pav. <i>S. brevicaulis</i> konidioforai ir konidijos [28].</p>  <p style="text-align: center;">49 pav. <i>S. brevicaulis</i> šepetėlio formos konidioforai su konidijomis [91].</p>