



DERMATOFÜÜTIA DIAGNOSTIKA LABORIS

Helle Järv

SYNLAB Eesti

TÄNASES LOENGUS

- 1. Dermatofüütidest põhjustatud infektsioonid**
- 2. Muud seened naha ja küünte haigustekitajatena**
- 3. Laboratoorne diagnostika**
- 4. Diagnostika algoritm**
- 5. Resistentsus ravimitele**

Dermatofüüdid ehk nahaseened

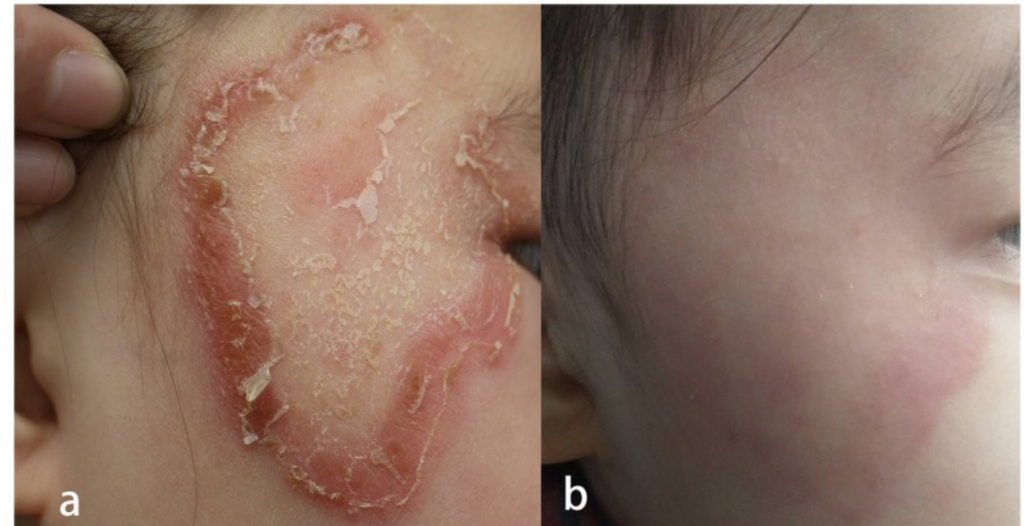
Seeneperekonnad *Epidermophyton*, *Lophophyton*, *Microsporum*, *Nannizzia*, *Paraphyton*, *Trichophyton* - võimelised lagundama keratiini toitainete saamiseks

- **Geofiilsed dermatofüüdid** (*Nannizzia gypsea*)
- **Zoofiilsed dermatofüüdid** –
 - *Microsporum canis* – kassid, koerad (nn. kassihaigus),
 - *Trichophyton mentagrophytes* – väikesed närilised, küülikud;
 - **UUS PATOGEEN!** *Trichophyton benhamiae* - merisead;
 - *Trichophyton erinacei* - siilid;
 - *Trichophyton verrucosum* – veised ja hobused
- **Antropofiilsed dermatofüüdid** – *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton violaceum*

Silenaha dermatofüütia

- Zoofiilsed dermatofüüdid tekitavad ägeda põletiku
- Antropofiilsed dermatofüüdid pigem kroonilise protsessi, mida iseloomustab ala-äge kulg
- NB! Patsient võib olla varem ravitud, enne kui Teie temaga kohtute (hormoonravi on sageli esmane lähenemine st. põletikunähud on minimaalsed ja tüüpilist haiguspilti pole)
- Räägitakse nn. vasaku kehapoole dermatofüütiast - väikeste lemmikloomade poolt tekitatud seeninfektsioon

Oluline on võtta patsiendilt anamnees: sümptomite kestus, harjumused (spordiga tegelemine, reisid), kontaktid loomadega



Kliiniline pilt *T. benhamiae* haigusjuhu korral
a Haiguskolle põletikulise servaga, keskosas kuiv ketendus (3 cm × 5 cm)
b Ravijärgne pilt haiguskoldest - 4 nädalat terbinafiini p/o (125 mg/d)

Allikas BMJ Infect Dis 2020; 20:171

Silenaha dermatofüütia epidemioloogiast

- **Lapsed – prevaleerivad zoofiilsed patogeenid** - *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. benhamiae*

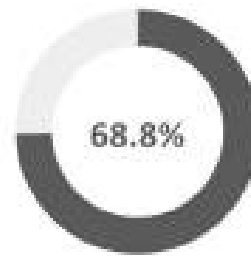
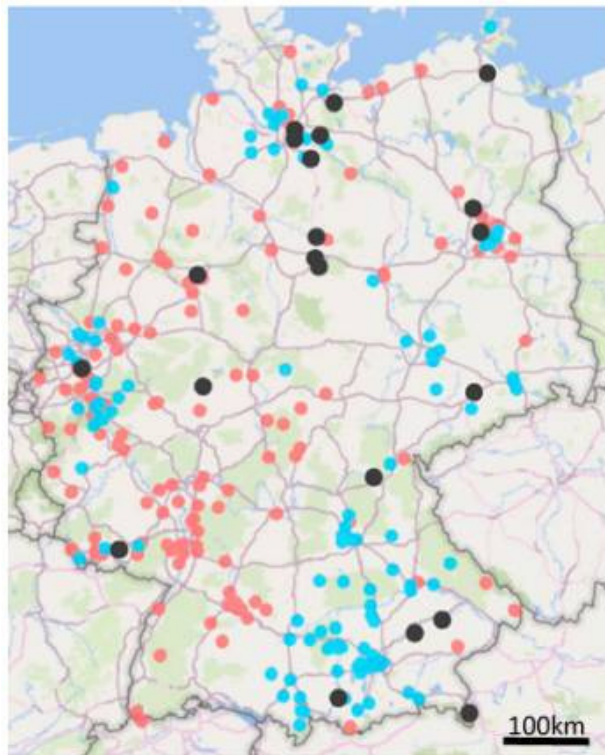
- **Täiskasvanud – prevaleerivad antropofiilsed tekitajad**

Grupp I - täiendavatele riskifaktoritega täiskasvanud - spordiga tegelejad, teatud elukutsete esindajad; *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Epidermophyton floccosum*

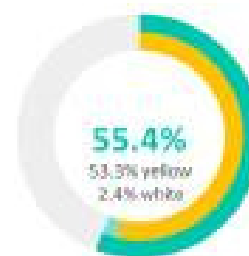
Grupp II – ravimata jalgade ja varbaküünte seenhaigusega patsiendid, kellel varem või hiljem nakkus kandub silenahale; valdavalt *T. rubrum* infektsioon

Grupp III - eksootilised tekitajad, reisilt saadud infektsioonid; *T. indotineae*, *T. violaceum*, *T. soudanense*

Silenaha dermatofüütia epidemioloogiast – patsiendil on uus lemmikloom? *Trichophyton benhamiae* levik merisigadel (381 looma) Saksamaal, 2019



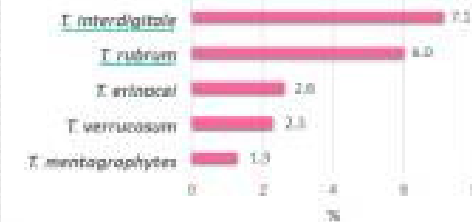
Detection of dermatophytes



Detection of *T. benhamiae*



other dermatophytes



Silenaha dermatofüütia e. *tinea corporis*
Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 1 Typical annular dermatophytosis of the glabrous skin



Fig. 7 Erythema migrans of the thigh. Histology of the border reveals the absence of dermatophytes

Peanaha dermatofüütia e. *tinea capitis* Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 3 Alopecic tinea capitis lesion due to *M. canis*



Fig. 19 Alopecia areata. The presence of exclamation marks, as well as the absence of superficial desquamation and erythema is not in favor of a dermatomycosis by *M. canis*

Peanaha dermatofüütia epidemioloogiast

- **Lapsed** – enne puberteeti prevaleerivad zoofiilsed tekitajad, Eestis kõige sagedasem *Microsporum canis*
- **Täiskasvanud** - zoofiilseid tekitajaid esineb harva. Kõige sagedasemad on *T. tonsurans* infektsioonid sportlastel (nii peanahal kui kogu kehal).

T. tonsurans on peamine peanaha seenhaiguse tekitaja Ameerika Ühendriikides ja Jaapanis

Mujal Euroopa maades tekitavad peanaha seenhaigust peamiselt immigratsiooniga Aafrikast seotud antropofiilsed seeneliigid

Jalgade dermatofüütia Kliinilised sümptomid on mitte-spetsiifilised



Fig. 2 Athlete's foot intertrigo of the fourth interdigital space



Fig. 17 Pseudomonas intertrigo of the foot. A bacteriological culture will reveal *Pseudomonas* without growth of dermatophytes

Varbaküunte ja sõrmeküunte dermatofüütia e. onühhomükoos Kliinilised sümptomid



Jalgade ja varbaküünte dermatofüütia epidemioloogiast

- Tekitajad on peamiselt antropofiilsed dermatofüüdid
- Peamine tekitaja *Trichophyton rubrum* pärineb Aasiast
- Praeguseks on see liik levinud globaalselt – arvatavasti kiirendas levikut pärast II Maailmasõda mandrite vaheliste suurte sõjaväeüksuste ümberpaiknemine
- Sama seen tekitab haiguste jada: jalgade seenhaigus-varbaküünte seenhaigus-sõrmeküünte seenhaigus – silenaha seenhaigus

Eestis teemat uuritud 2000ndate algul:

- Silm, H., Karelson, M., Kingo, K., Järv, H., & Naaber, P. Kүүneseenhaigusesse haigestumise sagedus Eestis. Eesti Arst 2003; 82 (5): 375–378.
- Järv, H.; Naaber, P.; Kaur, S.; Eisen, M.; Silm, H. (2002). Varbaküünte seenhaigus Eestis - võrdlus Euroopa maadega. Eesti Arst, 81 (6), 338–342.

Linnakeskkond kui riskifaktor

- Paljajalu käimine – hotellide vaipkatted jm. üldkasutatavad ruumid
- Istmekatted pehmel mööblil teatris, bussis, rongis, lennukis jne.
- Ujulad, spa'd, veepargid –
uurimusi kõikjalt maailmast (Euroopa, Araabiamaad, Põhja- ja Lõuna-Ameerika, Jaapan)

- Detandt & Nolard. Fungal contamination of the floors of swimming pools, particularly subtropical swimming paradises. *Mycoses*1995.
- Kamihama et al. Tinea pedis outbreak in swimming pools in Japan. *Public Health* 1997;111:249e53.
- Hilmarsdottir et al. Dermatophytes in a swimming pool facility: difference in dermatophyte load in men's and women's dressing rooms. *Acta Derm-Venereol* 2005;85:267e8.

Elukutse kui riskifaktor

- Töötajad, kes töökohal kannavad 8-10 h umbseid kummeeritud jalatseid, turvajalatseid
Näiteks toiduainetööstuses, mäetööstuses, põllumajanduses, ehituses
- Sõjaväeteenistus on riskifaktor

Sõduritel on levimus 19% (versus 8-11% üldelanikkond)

lisrealis on sõduritel dermatofüütia levimus isegi kuni 60% uuritavatest!

Cohen et al. Prevalence and risk factors for tinea pedis in Israeli soldiers. Int J Dermatol 2005;44:1002e5

Rannaliiv kui riskifaktor

- Portugali rannaliivas oli uuritud proovides 14 % *Trichophyton* sp. või *Microsporum* sp.
- Liike uuringutes ei määratud, seega pole teada, kas antropofiilsed või zoofiilsed liigid.
- Enamik seniseid uuringuid kasutab külvimeetodit, jääme ootama NGS (*next generation sequencing*) meetodite tulemusi.

- Pereira et al. Microbiological and mycological beach sand quality in a volcanic environment: **Madeira** archipelago, Portugal. *Sci Total Environ* **2013**.
- Sabino et al. Routine screening of harmful microorganisms in beach sands: implications to public health. *Sci Total Environ* **2014**.
- Sabino et al. Pathogenic fungi: an unacknowledged risk at coastal resorts? New insights on microbiological sand quality in **Portugal**. *Mar Pollut Bull* **2011**.

Laboratoorne diagnostika

Proovivõtu vahendid

- Ühekordne põetuslina või paber
- Desinfitseerimisvahend (70% etanool vm.)
- Nüri skalpell
- Pintsetid
- Maniküürikäärid ja/või küünetangid
- Küünelaki eemaldaja
- Ühekordsed küüneviilid
- Pakendis uus hambahari
- Prooviümbrik



Trükised: Arsti meelespea. Proovivõtu juhend.



Dermatofüütide laboratoorne diagnostika

Arsti meelespea



Dermatofüütide diagnostika - mikroskoopia, külv, DNA-analüüs - proovimaterjali kogumine ja säilitamine

NB! Vahetult enne proovimaterjali võtmist tuleks vältida kreemide, ravilaki ja ravimite kasutamist kahjustuskohal. Soovitatav on proovivõtukohta puhastada 70% etanoolis niisutatud vatipadjaga pühkides.

A Kraapida skalpelliga kahjustunud naha sarvkihti, eelkõige haiguskolde servast terve ja kahjustunud naha piirilt.



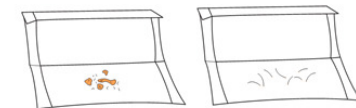
B Proovimaterjal kraabitakse nähtavast kahjustuskohast küünevalli piirkonnas, küüneplaadi pealspinnalt või küüneplaadi alt. Prooviks võetakse nii küünest lihvitud materjal kui mõned suuremad 2-5 mm tükid. Proovi ei võeta küüne sõrmeotsast või varbaotsast üle ulatuvast vabast servast. See eemaldatakse enne proovi võtmist skalpelli, küünetangide, käärde või ühekordselt kasutatava viiliga.



C Peanahal lõigatakse juuksed kahjustuskoldest 1-2 cm pikkuseks. Seejärel kraabitakse kahjustuskoldest **ketendavat nahka**, pintsettidega kitkutakse vähemalt 10 juuksekarva koos juuksejuurega. Kahjustunud juukseid on lihtsam koguda **Woodi lambi** valguses.



Kahjustunud materjal koguda **mustale ümbrikule**. Ümbrik tuleb sulgeda seda kokku voltides ning paigutada saatekirjaga varustatud suuremasse ümbrikusse. Ümbriku sulgemiseks palume mitte kasutada klambreid, kontoriteipe jms. Korrekse uuringu teostamiseks saata laborisse materjali **vähemalt hermeterasuuruses koguses**.



Proovimaterjali säilitamine:

Kogutud proovimaterjali võib säilitada kuivas toatemperatuuril kuni 1 nädal, transport toimub toatemperatuuril või jahedas. Prooviümbrikul olevale saatekirjale tuleb ristiga märkida soovitud analüüs ja patsiendi ning analüüsi tellija andmed.

Proovivõtt

- Minimaalne proovi suurus – võrdlevad uuringud puuduvad
- Saksamaa referent-labor (*Consiliary Laboratory for Dermatophytes, Charité – Universitätsmedizin Berlin*) nõuab, et minimaalne proovi hulk oleks 3 mg
- Fotol on minimaalne soovituslik proovimaterjali kogus kui soovitakse nii külvi kui mikroskoopiat või molekulaarset diagnostikat

(Foto H Järv SYNLAB Eesti)



Molekulaarse diagnostika plussid ja miinused

- Kõrge tundlikkus ja spetsiifilisus
- Lühike analüüsi aeg

Eestis on kasutusel mitmeid tehnikaid

SYNLAB Eestis on kasutusel *in-house* meetod Luminex platformile

PERH, TÜ Kliinikum kasutavad reaalaaja PCR, mis nende masinapargiga paremini sobib
(Pathonostics DermaGenius™, Holland)

- Ei sobi ravi efektiivsuse hindamiseks (näit. lastel peanaha seenhaiguse korral v onühhomükoosi ravikuuri pikkuse korrigeerimiseks)

Vali molekulaarne diagnostika nendel tingimustel:

- Kui on tüüpiline haiguspilt (näiteks küünes algab nakkus küüne vabaservast või külgedelt) ja eelkõige onühhomükoosi korral (silenaha patogeenide spekter on oluliselt laiem)
- Esmane diagnostika või dermatofüüdi välistamine
- Proovimaterjali on võimalik võtta väga vähe

Fotol tüüpiliselt väljendunud distaalne lateraalne onühhomükoos



Külv ja mikroskoopia

Plussid:

- Mikroskoopial näeb seda, mida me ei otsi (näit. *Malassezia*, *Demodex*, *Sarcoptes* jm.)
- Külvimeetod võimaldab täpsustada ka ebatüüpilise või harvaesineva patogeeni – nii dermatofüüdi kui muud hallitusseente liigid

Miinused:

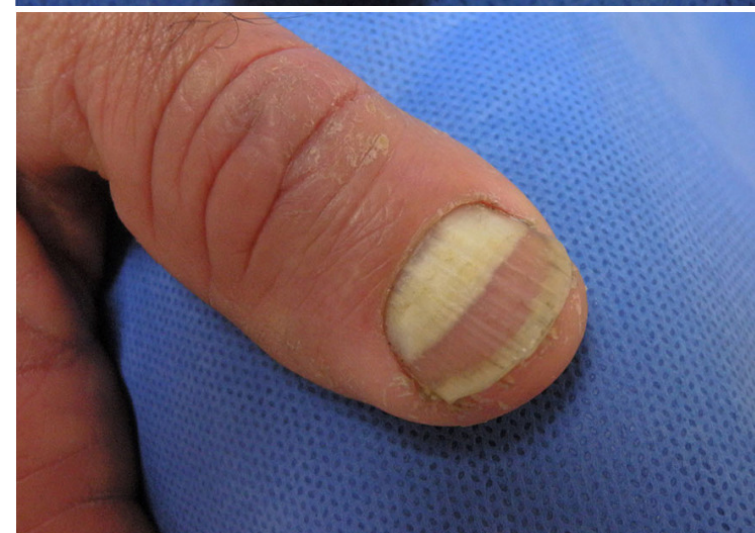
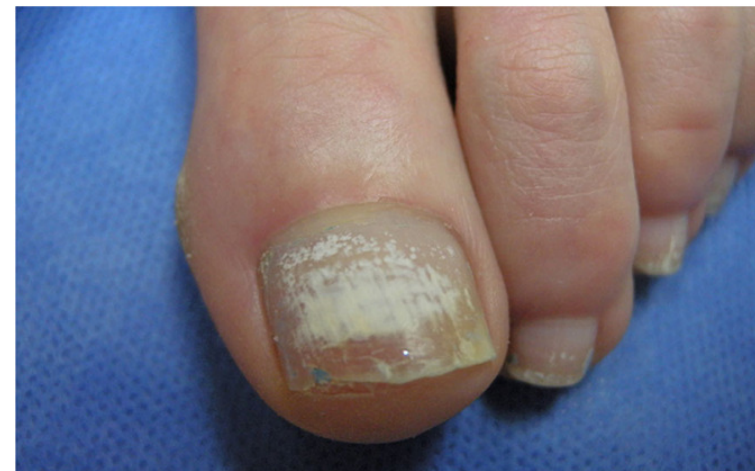
- Madal tundlikkus
- Külv võtab aega – positiivne vastus minimaalselt 5 päeva, negatiivne vastus 21. päeval
- Saprofüütse floora ülekasv (kroonilised infektsioonid, superinfektsioon)

Vali külv ja mikroskoopia nendel juhtudel:

- Kui on ebatüüpiline kliinik, mis sobib pigem hallitusseene või pärmseene poolt põhjustatud infektsioonile -

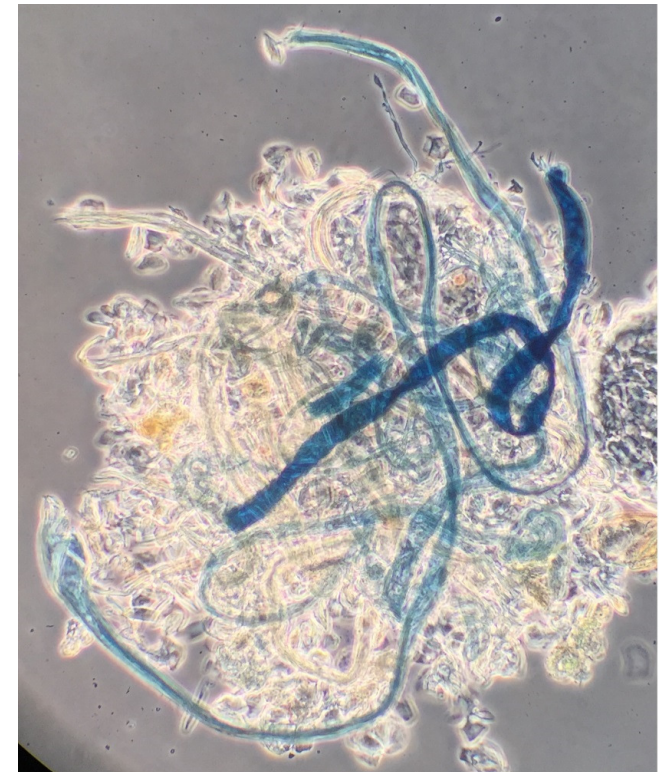
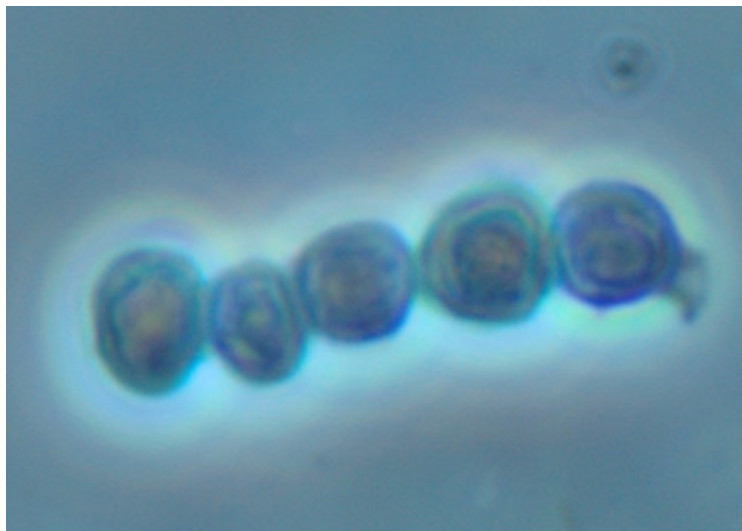
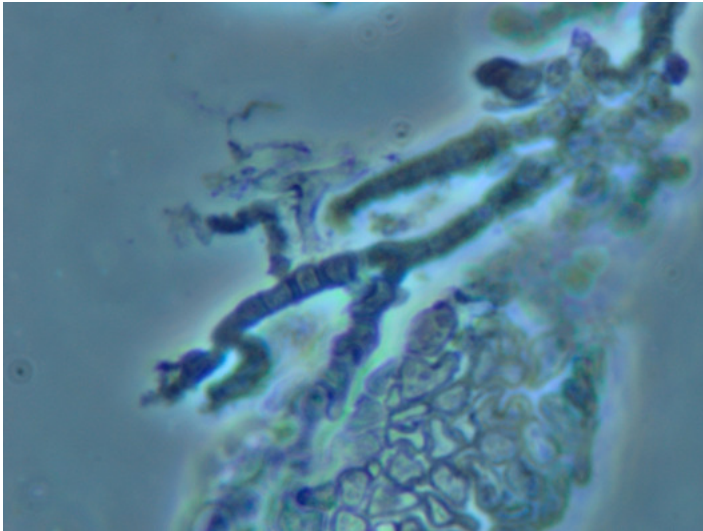
kliiniliselt pindmine valge onühhomükoos (ing. k. *superficial white onychomycosis*) või infektsioon küünevalli piirkonnas

- Kui on zoofiilse patogeeni kahtlus – mõned liigid puuduvad Eestis kasutusel olevates DNA paneelides ja zoofiilsed seened üldjuhul kasvavad külvis kiiresti (u. 5 päeva)

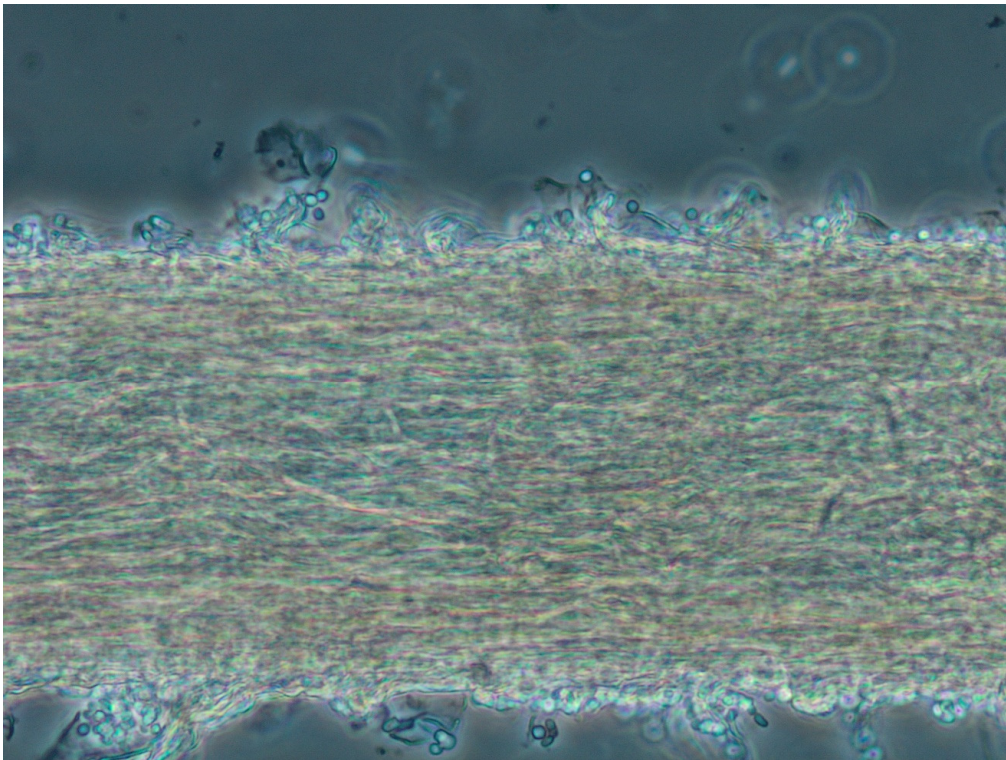


Mis me laboris näeme?

Mikroskoopia leid – seenehüüfid, dermatofüüdi hüüfid ja artrokoniidid



Mis me laboris näeme? Mikroskoopia



- Seenehüüfid/dermatofüüdi hüüfid – leid kinnitab, et tegu on seeninfektsiooniga; enamasti patogeeni liiki määrata ei saa
- Juustel ektothrix-tüüpi kahjustus (fotol) või endothrix-tüüpi kahjustus; piiritleb patogeenide rühma, mis on ravi seisukohalt oluline – peanaha seeninfektsiooni ravijuhise järgi *Microsporum*-infektsiooni esmavaliku preparaat on griseofulviin; *Trichophyton* infektsioonide puhul terbinafiin
- Mikroskoopia leid võimaldab arstil alustada lokaalset ravi (Foto H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)

Mis me laboris näeme? Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris



Kui proov on võetud korrektselt, kasvab ainult dermatofüüt

- Foto 1 Külv silenahast – *Trichophyton benhamiae*
- Foto 2 Külv silenahast – *Trichophyton mentagrophytes*

(Fotod H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)

Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris



- Kui proov ei ole võetud korrektselt e küüneplaati pole enne proovi võtmist desinfitseeritud - vaata fotot!

Kiiresti kasvavad kontaminandid, saprotroofsed hallitusseened, mis sattuvad proovi pinnasest või õhust on laborianalüüsides probleem – võivad põhjustada vale-negatiivse (aga ka vale-positiivse) tulemuse

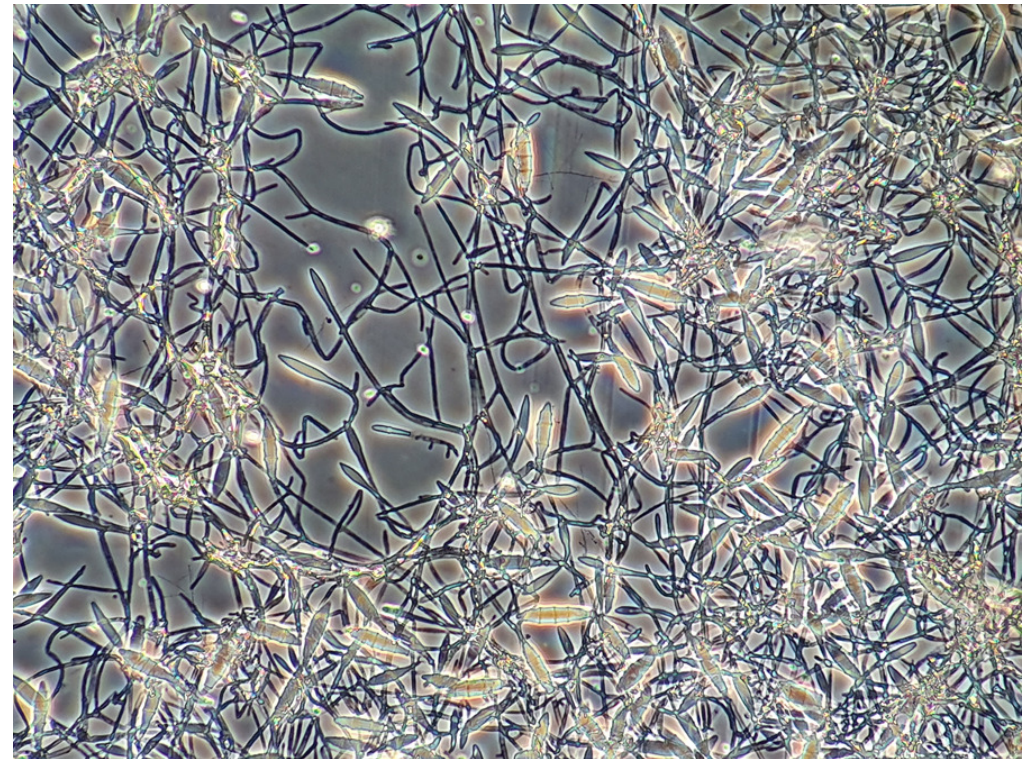
Desinfitseeri proovivõtu koht alati kui see on võimalik!

Esmaskülv mikrobioloogia/mükoloogia laboris Patogeense seeneliigi määramine

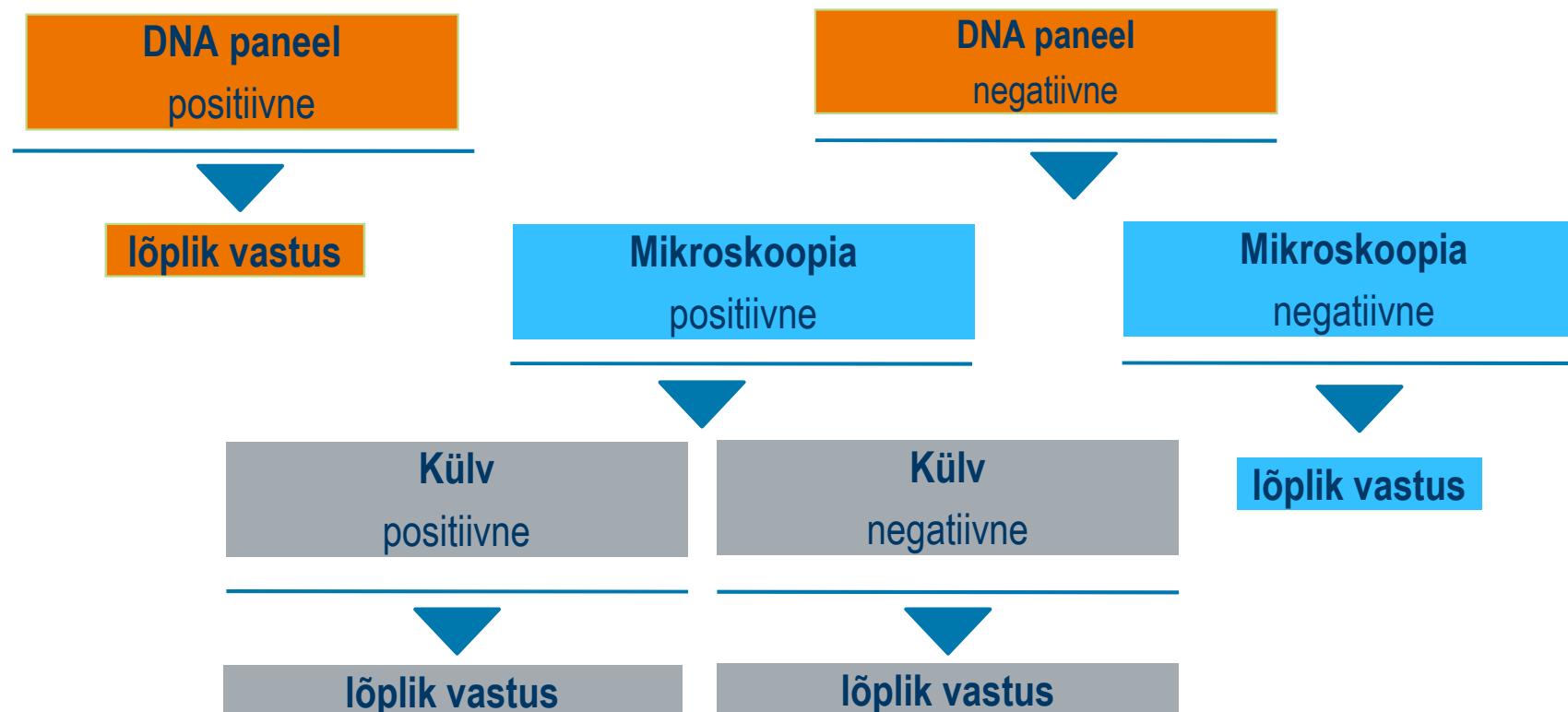
- Hindame mikroskoobis seeneliigi mikromorfoloogilisi tunnuseid:
 - makroeoste esinemine
 - mikroeoste esinemine
 - spiraalhüüfide esinemine/puudumine jne.
- Vajadusel kasutame massispektrite määramist (MALDI TOF instrument) või DNA sekveneerimist

Pildil silenahalt isoleeritud geofiilse dermatofüüdi *Nannizia gypsea* iseloomulikud makroeosed

(Foto H. Järv/T. Simkin SYNLAB Eesti)



Dermatofüütia laboratoorse diagnostika algoritm



Konservatiivne lähenemine molekulaarsele diagnostikale

PCR+/mikroskoopia +	PCR-/mikroskoopia -	PCR- /mikroskoopia +
Tüüpiline“ dermatofüüdist põhjustatud onühhomükoos, klassikaline infektsioonipilt, tunnustatud raviskeem	Kliinilise pildi alusel alternatiivne diagnoos	Vajalik täiendavad uuringud, uus proov, mikroskoopia + külv, tundlikum molekulaarne meetod
Onühhomükoos v <i>tinea</i> diagnoos kinnitatud	Seeninfektsioon on välistatud	Ebatüüpiline seeninfektsiooni tekitaja

- Verrier et al. 2017. Mycopathologia 182: 193-202

Koodid ja hinnad 2021

Erakliendile:

- Dermatofüütide DNA paneel Derma DNA
37,80 (5 tööpäeva)
- *Candida albicans* DNA *C.albicans* DNA
18,90 (2 tööpäeva)
- Kandidiaasi diagnostiline paneel (*Candida albicans* ja *Candida spp*) 38,70 (2 tööpäeva)
- Seente külv, kompleksanalüüs (külv söötmele, seente samastamine 32 EUR (5 tööpäeva)
- Mikrobioloogilise proovi võtmine 5 EUR

Ärikliendile:

- Derma DNA 66608 x 2 34,60 (5 tööpäeva)
- *Candida* DNA panel 66608 x 2 34,60
(2 tööpäeva)
- Algmaterjali mikroskoopia 66500 6,09
(3 tööpäeva)
- Dermatofüütide külv 66510, 66511 21,01
(21 tööpäeva)
- võivad lisanduda samastamise koodid
- Patogeeni samastamine 66521 13,48

Ravimresistentsus on probleem

- Küüne infektsiooni puhul on probleemiks hüperkeratoos ja küüne patoloogiad, kus ravim ei jõua küüneplaati
- Dermatofüüdid on muutunud resistentseks kasutatavatele ravimitele – resistentsust terbinafiinile on viimasel 3 aastal registreeritud paljudes Euroopa riikides
- Euroopas on olemas dermatofüütide ravimtundlikkuse määramise standardmetoodika – EUCAST (alates 2020)
- Kommertsiaalsed meetodid hetkel puuduvad
- Molekulaarselt resistentsusgeenide (SQLE mutatsioonid) määramine on SYNLAB arendamisel (alates 2020)
- Kahjuks pole dermatofüütide ravimtundlikkuse uuringud Eestis rutiinselt hetkel veel võimalikud

Täna tähelepanu eest!

Püsime terved!