

Bolesław Pawlik

Zakład Mykologii,
Instytut Mikrobiologii
Akademia Medyczna
Kraków

Ocena wrażliwości grzybów na leki – antymykogram

Leki przeciwgrzybicze można podzielić na dwie grupy: antybiotyki, będące produktami biosyntezy promieniowców i grzybów oraz syntetyczne leki przeciwgrzybicze. W obrębie antybiotyków zasadniczą podgrupę stanowią antybiotyki polienowe charakteryzujące się wieloczłonowym pierścieniem makrocyclicznym oraz podwójnymi wiązaniami w łańcuchach węglowych. Jest to liczna grupa leków, przy czym najszerze zastosowanie znalazły: nystatyna, pimarycyna oraz amfoterycyna B. Przeciwstawną podgrupę stanowią antybiotyki niepolienowe, z których szersze zastosowanie posiada jedynie gryzeofulwina (1,3,4,5,7,14).

Drugą liczną grupę stanowią leki syntetyczne, będące pochodnymi fluoropirymidyny, jak 5-fluorocytozyna, pochodnymi imidazolu oraz allylaminy (2,4,5,6,7,13,14). Lekom imidazolowym należy przypisać główną, perspektywiczną rolę w zwalczaniu dominującej liczby zakażeń grzybiczych w nadchodzących latach (2,13). Z pochodnych imidazolowych ważniejsze kliniczne zastosowanie w terapii grzybic znalazły: klotrimazol, mikonazol, ketokonazol, ekonazol, tiokonazol, isokonazol, oxykonazol, terkonazol i itrakonazol (2,4,5,7,13,14). Najnowszą grupę syntetycznych leków przeciwgrzybiczych stanowią allylaminy, z których naftifin oraz terbinaftin znalazły szczególne zastosowanie w leczeniu dermatomykoz (7). W zestawieniu przedstawiono poszczególne grupy leków przeciwgrzybiczych.

Zestawienie

Leki przeciwgrzybiczne

| | |
|------------------------------|---|
| I. Antybiotyki | |
| 1. Polienowe | nystatyna pimarycyna amfoterycyna B gryzeofulwina |
| 2. Niepolienowe | |
| II. Leki syntetyczne | |
| 3. Pochodne fluoropirymidyny | 5-fluorocytozyna |
| 4. Pochodne imidazolu | |
| a) azole | klotrimazol mikonazol ekonazol isokonazol ketokonazol bifonazol tiokonazol oxykonazol fentikonazol sulkonazol terkonazol itrakonazol |
| b) triazole | naftifin terbinaftin |
| 5. Allylaminy | |

Notowany wzrost częstości zakażeń grzybiczych powoduje równocześnie zwiększenie stosowania leków przeciwgrzybiczych, a w konsekwencji większą możliwość adaptacji do bytowania grzybów w zmienionych warunkach środowiskowych, co z kolei prowadzi do pojawienia się szczepów opornych lub o zmniejszonej wrażliwości na leki. Dlatego celowe wydaje się określanie stopnia wrażliwości izolowanych z materiałów klinicznych grzybów na antymykotyki, co stanowi istotny element skutecznej terapii. Wprowadzenie tego typu badania do rutynowej diagnostyki mykologicznej wskazane jest ze względu na występowanie szczepów grzybów pierwotnie opornych na leki przeciwgrzybicze oraz nabywających oporność w trakcie prowadzonej terapii.

W literaturze medycznej w ostatnich latach istnieje wiele doniesień dotyczących oporności grzybów na leki (4,5,10,12,14). Najwięcej uwagi poświęca się zwłaszcza oporności grzybów na 5-fluorocytozynę (14). W odniesieniu do innych leków przeciwgrzybiczych brak jest doniesień, które jednoznacznie wskazywałyby na występowanie szczepów opornych. W przypadku antybiotyków polienowych, czy też leków imidazolowych zwraca się uwagę na występowanie szczepów o zmniejszonej wrażliwości. W obrębie tego samego gatunku stwierdza się występowanie szczepów o bardzo zróżnicowanej wrażliwości na dany lek (3,4,5,10,13).

Notowane niepowodzenia w leczeniu grzybic, w szeregu przypadkach, powodowane są właśnie opornością lub zmniejszoną wrażliwością szczepu na stosowany chemioterapeutyk. Dysponowanie większą liczbą leków przeciwgrzybiczych w ostatnich latach pozwala przy zastosowaniu oznaczeń lekooporności na wybór odpowiednio skutecznego chemioterapeutyku.

Do oznaczania wrażliwości grzybów na leki stosuje się metody: rozcienczeniową lub dyfuzyjną. Metoda rozcienczeniowa polegająca na oznaczaniu najniższego stężenia hamującego wzrost (MIC), jest metodą dokładną, ale czasochłonną wymagającą znacznych nakładów materiałowych, przez co mało przydatną w rutynowej diagnostyce.

W Zakładzie Mykologii Instytutu Mikrobiologii opracowano metodę dyfuzyjno-krażkową oznaczania wrażliwości szczepów grzybów drożdżopodobnych na najczęściej stosowane w Polsce antymykotyki (8). Dotychczas opracowano metodykę oznaczeń dla następujących leków: nystatyna, pimarycyna, amfoterycyna B, 5-fluorocytozyna, klotrimazol, mikonazol, ketokonazol oraz tiokonazol. Podstawę przystosowania metody dyfuzyjno-krażkowej do oznaczania wrażliwości grzybów drożdżopodobnych na leki stanowiła porównawcza ocena wartości MIC z wielkościami stref zahamowania wzrostu. Wykazano pełną korelację, przy określonym stężeniu leku w krażku. Obserwowano proporcjonalne zmniejszanie się stref zahamowania wzrostu określone w metodzie dyfuzyjnej ze wzrostem wartości MIC w metodzie rozcienczeniowej dla poszczególnych szczepów. W oparciu o przeprowadzone badania dotyczące korelacji stref zahamowania wzrostu z wartościami MIC oraz rozkładu procentowego wrażliwości szczepów w populacji uzyskanej z bieżącego materiału diagnostycznego, przy równoczesnym uwzględnieniu terapeutycznych stężeń leków w płynach ustrojowych, ustalono dla leków trójstopniową skalę wrażliwości. Dane dotyczące stężeń leku w krażku oraz stopni wrażliwości przedstawiono w tabeli 1.

Przy wykonywaniu oznaczeń antymykogramu należy przestrzegać parametrów oznaczeń: odpowiednie podłoże, prawidłowa dawka inokulum, określone warunki hodowli itp., zgodnie z obowiązującą instrukcją wykonania antymykogramu.

Opracowana metoda antymykogramu została wprowadzona do rutynowej diagnostyki mykologicznej w kilku pracowniach mikrobiologicznych. Przeprowadzona ocena efektów leczenia grzybic prowadzona w oparciu o wyniki oznaczeń wrażliwości na leki przeciwgrzybicze wykazała przydatność oznaczeń antymykogramu dla racjonalnego stosowania leków przeciwgrzybiczych (9,10,11,12).

Nie przeceniając znaczenia antymykogramu, mając na uwadze fakt, że jest to oznaczenie prowadzone *in vitro*, należy jednak uznać, że może on przyczynić się do rozwiązania dwóch

bardzo istotnych problemów. Po pierwsze, może ułatwić wybór odpowiedniego leku przeciwgrzybiczego, co w konsekwencji może się przyczynić do szybkiego i skutecznego leczenia grzybic. Po drugie, antymykogram, ułatwiając racjonalne stosowanie leków przeciwgrzybiczych, może przyczynić się do zapobiegania rozprzestrzeniania się opornych szczepów grzybów w populacji ludzkiej.

Tabela 1

Stopnie wrażliwości grzybów drożdżopodobnych na leki oznaczone metodą dyfuzyjno-krażkową

| Lek | Dawka w krążku | Stopień wrażliwości | | |
|------------------|----------------|--|--------------|--------|
| | | średnica strefy zahamowania wzrostu w mm | | |
| | | wrażliwy | śl. wrażliwy | oporny |
| amfoterycyna B | 10 mcg | ≥ 16 | 12-16 | < 12 |
| 5-fluorocytozyna | 0.5 mcg | ≥ 20 | 16-20 | < 16 |
| nystatyna | 100 j | | | |
| pimarycyna | 10 mcg | | | |
| klotrimazol | 10 mcg | | | |
| mikonazol | 10 mcg | ≥ 18 | 14-18 | < 14 |
| ketokonazol | 10 mcg | | | |
| tiokonazol | 10 mcg | | | |

Literatura

1. Cartwright R. Y., (1975), J. Antimicrob. Chemother., 1, 141.
2. Cauwenbergh G., (1986), Acta Derm. Venerol., (Stockh) suppl., 121, 147.
3. Daneshmend T. K., Warnock D. W., (1983), Clin. Pharmacokin., 8, 17.
4. Drouhet E., Dupont B., Dikeacou T., (1985), Zbl. Bakt. Suppl., 13, 1.
5. Kowszyk-Gindifer Z., Sobiczewski W., (1986), Grzybice i sposoby ich zwalczania, PZWL, Warszawa.
6. Leshner J. L., Smith J. G., (1987), Amer. Acad. Dermatol., 17, 383.
7. McNabb P. C., (1988), Postg. Med., 83, 101.
8. Pawlik B., (1980), Diagn. Lab., 16, 273.
9. Pawlik B., Pięciorak G., Laskownicka Z., (1987), Med. Dośw. Mikrobiolog., 39, 56.
10. Prosiecki R., Bogaczewicz A., Pawlik B., (1984), Pol. Tyg. Lek., 39, 433.
11. Stożek K., Wójcik J., Pawlik B., (1982), Med. Dośw. Mikrobiol., 34, 177.
12. Stożek K., Pawlik B., (1986), Post. Dermatol., 3, 303.
13. Stamm A. M., Dismukes W. E., (1983), Chest, 83, 911.
14. Wegmann T., (1987), Medical Mycology - A Practical Guide, Roche, Basle.

Adres dla korespondencji:

Bolesław Pawlik, Zakład Mykologii, Instytut Mikrobiologii AM, ul. Czysła 18, 31-121 Kraków.