

Debrecen Megyei Jogú Város Önkormányzat Egészségügyi Szolgálat Bőr- és Nemibeteg gondozó Intézet¹ (intézetvezető főorvos: Halmy Klára dr.), Állatvéltani Tanszék Kossuth Lajos Tudományegyetem² (intézetvezető: Varga Vince dr.), Izotóp Laboratórium³ KLTE Debrecen (igazgató: Kónya József dr.) közleménye

Immunológiai vizsgálatok onychomycosisos betegeknél Immunological investigations of onychomycotic patients

HALMY KLÁRA DR.¹, SERFŐZŐ JÓZSEF DR.², KÓNYA JÓZSEF DR.³, NAGY NOÉMI DR.³

ÖSSZEFOGLALÁS

20 kiterjedt, *Trichophyton rubrum* okozta distolaterális (DSO) és totál dystrophiás (TDO) onychomycosisos betegeknél celluláris és humorális immunológiai vizsgálatokat végeztünk. Az onychomycosisos betegeknél kapott vizsgálati eredményeket azonos számú mycosis superficialis és onychomycosisos szövődményes mycosis superficialisos betegek értékeihez hasonlítottuk össze. Megállapítottuk, hogy az onychomycosisos betegeknél – hasonlóan a másik két vizsgálati csoporthoz – a celluláris immunválasz csökkenése a bőrpróbákban és a fagocita tevékenységben mutatkozott meg elsősorban. Az antitest képzés az onychomycosisban szenvedő betegeknél kisebb intenzitású, mint amikor a kórkép mycosis superficialissal is szövődményes.

Az immunológiai vizsgálatok alapján arra következtethetünk, hogy a hosszabb ideje fennálló és kiterjedt onychomycosisos megbetegedéseket a krónikus mikózisok körébe lehet sorolni.

Kulcsszavak:

Onychomycosis - krónikus mikózisok - celluláris immunitás - humorális immunitás

SUMMARY

Cellular and humoral immunological examinations have been carried out in 20 patients with spreaded distal subungual (DSO) and total dystrophic onychomycosis (TDO), which were caused by *Trichophyton rubrum*.

The results of investigations of onychomycotic patients were compared with results of patients with both mycosis superficialis and mycosis superficialis combined with onychomycosis. It was found that, similarly to the other therapeutic groups, the cellular immune reactions in the onychomycotic patients decreased first of all in intracutaneous probes and in the phagocytic activity.

The intensity of antibodies formation in onychomycotic patients was less than it was in patients with onychomycosis combined with mycosis superficialis. On the basis of our immunological observations it may be concluded that prolonged and extensive onychomycosis can be classified as a form of chronic mycosis.

Key words:

onychomycosis - chronic mycoses - cellular immunity - humoral immunity

Az onychomycosis az utóbbi évtizedekben a mikológiai szakirodalom egyik kiemelkedő témájává vált és az érdeklődés homlokterébe került. Ennek oka a kórforma növekvő gyakorisága és elterjedtsége. A humán populáció 1,2–5%-a onychomycosisban szenved (3, 10, 15, 31, 32). A másik okként az újonnan bevezetett és sikeresen alkalmazott terápiák említendők, melyek segítségével az eddig szinte gyógyíthatatlan betegség csaknem teljes mértékben gyógyíthatóvá vált. A tartósan fennálló, a kéz és a láb körmeire kiterjedő onychomycosisok számos bőrgyógyászati kórkép pl. erysipelas, cellulitis, thrombophlebitis kiindulási forrásai lehetnek. Bizonyos más kórképek, így ekzéma, ulcus cruris persistálásában is szerepet játszhatnak. Onychomycosis mellett gyakoriak a mikid szóródások (30) és recidíváló felszínes mikózisok. Mindezen kórképek leggyakoribb kórokozója a *T. rubrum* (1, 6, 15, 27, 36).

Korábban a krónikus, recidíváló mikotikus kórképekben, ill. az ehhez társuló onychomycosisban a betegek

celluláris immunválaszának csökkenését mutattuk ki (12, 13, 14). Jelenlegi vizsgálatainkkal arra kerestünk választ, hogy olyan esetekben, amikor az onychomycosis nem szövődményes recidíváló mikózisokkal, a celluláris immunrendszer károsodik-e.

Betegek és módszerek

1987 és 1996 között a vizsgálatokra megjelent betegek körében az onychomycosis incidenciájára vonatkozó felméréseket végeztünk, valamint tanulmányoztuk a dermatophytonok által okozott onychomycosisok előfordulási arányát.

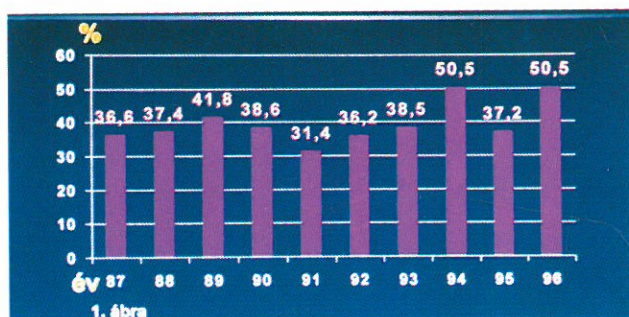
Az immunológiai vizsgálatokba bevont 20 onychomycosisos beteg klinikai adatait az 1. táblázatban összegeztük. A vizsgálatok eredményeit 20 mycosis superficialis és 20 onychomycosis és mycosis superficialis diagnózisú beteg eredményeihez hasonlítottuk. Ebben a két betegcsoportban 20 férfi és 20 nőbeteg szerepelt, átlag életkoruk 51,3 év, a betegségük fennállási ideje 7 év volt. A mikroszkopos gombavizsgálatokat 20% KOH, DMSO és Parker tinta tartalmú preparátumokban, a tenyésztéseket 4% Sabouraud glucose és Mycosel táptalajokon végeztük. A Prick testre az Epifarm gyártó cégtől származó Pangramin *T. rubrum* antigént alkalmaztuk. A leol-

vasások 20 perc, 24 és 48 óra múlva történtek. A 0,80 mm feletti reakciókat értékeltük pozitívnak. A limfocita stimulációs tesztre (LST) Schütt (33) izotópos eljárását használtuk fel. Mitogén: Phytohemagglutinin (PHA) Difco Lab. Michigan USA, antigén: *T. rubrum* mannán antigén (11) volt. Az eredményeket indexben fejeztük ki (LSI) a próbák háromszori ismétlésével. A fagocitózis és *Candida albicans* killing vizsgálatok Lehrer és Cline (24) Csató és munkatársai (7) által módosított eljárása szerint történtek. Az eredményeket hasonló korcsoportú egészséges kontrollokéhoz hasonlítottuk. A fagocitózist százalékban, a killing effektust a tesztrendszer és a kontroll viszonyában indexben fejeztük ki. Antitest kimutatásra Ouchterlony (28) féle immunprecipitációt, Staib (35) módosításában és counter immunelfot alkalmaztunk (23). A *T. rubrum* IgG antitestet indirekt micro Elisa módszerrel határoztuk meg (19). A conjugátum peroxidázzal jelölt kecske antihumán IgG globulin volt. A leolvasások Dynatech Elisa Readerrel történtek 429 nm hullámhosszon. A reakcióhoz *T. rubrum* mannán antigént alkalmaztunk.

A statisztikai analízist Student féle 2 mintás „t” próbával végeztük.

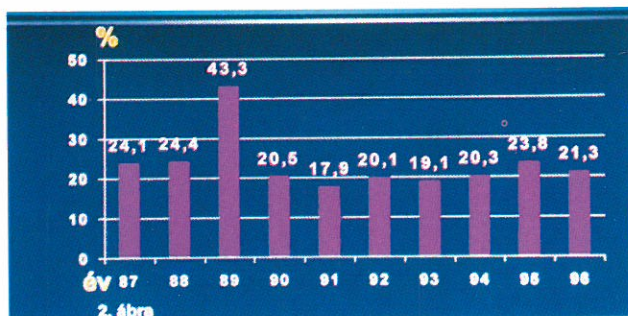
Eredmények

Az utóbbi 10 év statisztikai értékelése alapján a dermatomikológiai kórképeken belül az onychomycosis incidenciája 30–40% volt, átlagban 39,8%-ban fordult elő. Egy-egy évben azonban elérte az 50,5%-os gyakoriságot is (1. ábra).



1. ábra

Onychomycosis előfordulása a mikológiai kórképekben 1987–1996



2. ábra

Dermatophyton onychomycosis előfordulásának gyakorisága 1987–1996

ra). A dermatophytonok okozta onychomycosis 17–24%-ban, átlagban 23,7%-ban fordult elő (2. ábra). Az onychomycosisok kórokozója csaknem valamennyi esetben *T. rubrum* volt. Az immunológiai vizsgálatokba bevont betegek gombatenyészetéből minden esetben *T. rubrum* nőtt ki. A Prick tesztben kapott eredmények szerint az onychomycosisos betegeknél is az azonnali reakció, ill. a negatív bőrpróba volt a gyakoribb (2. táblázat).

1. táblázat

Az onychomycosisos betegek klinikai adatai. n = 20

Esetszám	20
Nem szerinti megoszlás:	
nő	10
férfi	10
Átlagos életkor:	48,5 év
Betegség átlagos fennállási idő:	6,5 év
Onychomycosis típusa:	DSO, TDO
Lokalizáció:	
lábkörm	21
kézkörm	12
Kórokozó:	<i>T. rubrum</i>

2. táblázat

Prick teszt *T. rubrum* antigénnel krónikus mycosisokban. n = 20

Kórképek	Reakciók			
	azonnali	késői	azonnali + késői	negatív
onychomycosis	7	4	2	7
mycosis superf. recid.	11	2	1	6
Mycosis superf. recid + onychomycosis	8	1	2	9

3. táblázat

Immundiffúzió krónikus mycosisokban. n = 20

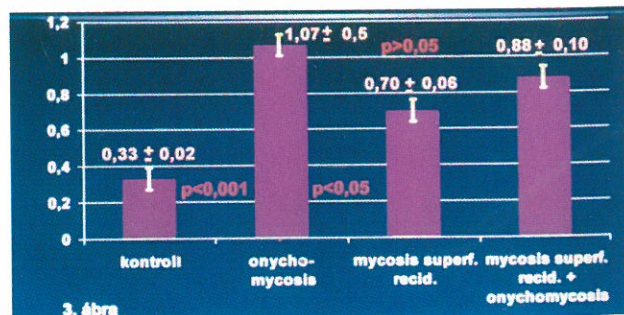
Kórképek	Pozitív	Negatív
onychomycosis	9	11
mycosis superf. recid.	12	8
mycosis superf. recid + onychomycosis	14	6

4. táblázat

Counter immunelfo krónikus mycosisokban. n = 20

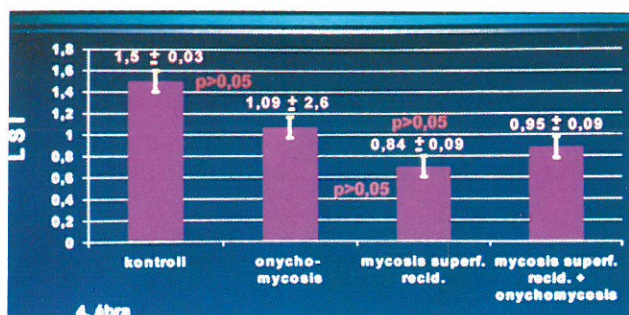
Kórképek	Pozitív	Negatív
onychomycosis	7	13
mycosis superf. recid.	9	11
mycosis superf. recid + onychomycosis	11	9

A *T. rubrum* mannán antingénnel végzett limfocita transzformációs vizsgálatban a stimulációs index az egészségesekéhez képest szignifikánsan magasabb ($p < 0,001$). A mycosis superficialisban kapott eredmé-



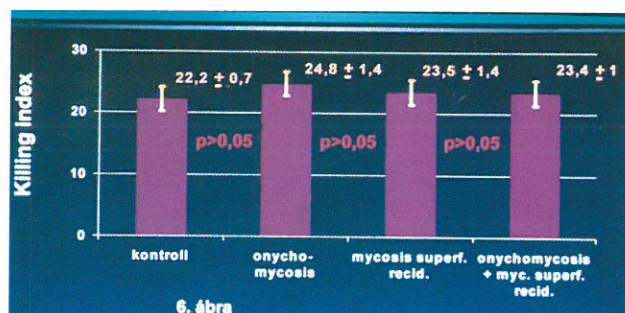
3. ábra

Lymphoblasztos transzformáció vizsgálata krónikus mycosisokban *T. rubrum* antigénnel. n = 20



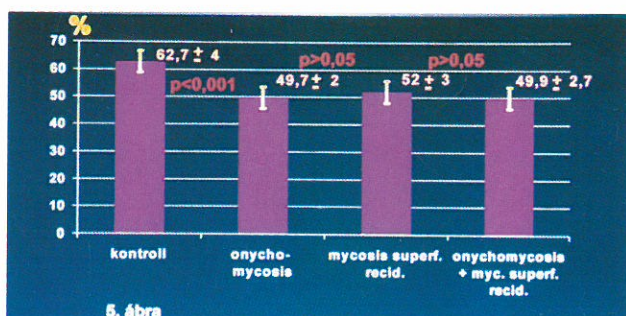
4. ábra

Lymphoblasztos transzformáció vizsgálata PHA-val krónikus mycosisokban. n = 20



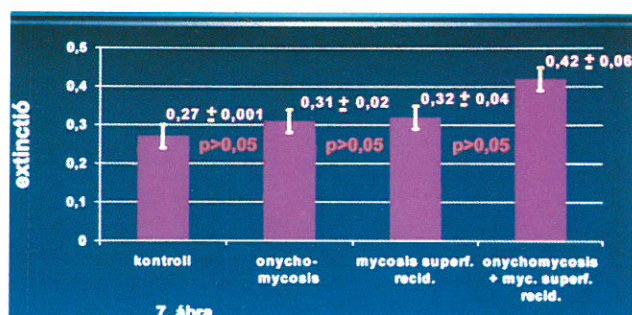
6. ábra

Candida albicans killing vizsgálatok krónikus mycosisokban n = 20



5. ábra

Fagocitózis vizsgálat krónikus mycosisokban n = 20



7. ábra

T. rubrum IgG antitest krónikus mycosisokban Elisa-módszerrel n = 20

nyekhez képest is emelkedett ($p < 0,05$), 3. ábra. Az általános mitogén hatására a kontrollhoz képest valamennyi vizsgálati csoport stimulációs index értékei mérsékeltebbek ($p > 0,05$), 4. ábra. A fagocita tevékenység valamennyi csoportban alacsonyabb, mint a kontroll. A vizsgált csoportok között nem volt szignifikáns eltérés (5. ábra). A killing effektus az egészségesekéhez hasonló volt (6. ábra). A kétféle módszerrel végzett precipitációs vizsgálatban a precipitin képződés az onychomycosisos betegeknél mérsékeltebb volt (3–4. táblázat). A *T. rubrum* IgG antitest a mycosis superficialis és onychomycosis együttes előfordulásakor magasabb mind a kontrollhoz mind a másik két vizsgált csoporthoz képest, de nem szignifikáns eltéréssel (7. ábra).

Megbeszélés

Felmérésünk szerint az onychomycosis mikológiai kórkepeken belüli 30–40%-os előfordulási aránya az erre vonatkozó irodalmi adatokkal (15, 32) megegyezik. A dermatophytonok okozta onychomycosis incidenciája, mely az irodalmi hivatkozások szerint 34–80% (1, 15, 29), adatainkhoz képest (23,7%) magasabb. Az onychomycosis kórokozóinak megoszlása azonban geográfiai eltéréseket is mutathat. A dermatophytonokon belül a kórkép kiváltásában a *T. rubrum* az elsődleges kórokozó (6, 34, 40). A *T. rubrum* által okozott fertőzésekben genetikai öröklésmentet is feltételeznek. (25). Egyes esetekben az onychomycosis autoszomális domináns öröklődését is leírták (40, 41). A körömgombás

fertőzésekben a bőrpróbák gyakoribb azonnali típusú reakciói, ill. a reakció válasz elmaradása a krónikus mikózisokra jellemző (2, 16, 20, 22, 27, 37). A *T. rubrum* sejtfal mannánt teszik felelőssé a reakció blokkolásáért (8, 34).

Ez a gátló hatás a *T. rubrum* esetében kifejezettebb, mint egyéb dermatophytonoknál (8). A *T. rubrum* antigén fokozott limfoproliferatív választ indukálhat (26). Ez a jelenség vizsgálatainkban mind az onychomycosisos, mind a mycosis superficialissal szövődött esetekben kimutatható. Az általános mitogénre adott válasz mérsékeltebb volt, mely a krónikus gombás fertőzésekre jellemző (17, 18). A fagocita tevékenységet a recidíváló mikrobás fertőzésekhez hasonlóan (5, 9, 38, 39) a *T. rubrum* okozta recidíváló mikrózisosokban (12, 13, 14) és az onychomycosisos esetekben is csökkentebbnek találtuk. A *Candida albicans* killing aktivitás ezzel szemben nem károsodott (12, 13, 14). A krónikus mikotikus fertőzésekben a humorális immunológiai vizsgálatok eltéréseket általában nem mutatnak, az antitest képzés a felszínes mikózisokhoz hasonlóan mérsékelt (4). Ezt megfigyelhettük az onychomycosisokban végzett precipitációs vizsgálatokkal is. Az érzékenyebb Elisa módszerrel detektált *T. rubrum* IgG antitest szint a mycosis superficialissal szövődött esetekben magasabb, mely a fokozott mikotikus szenzibilizációra utal. Eddigi vizsgálatainkból az tűnik ki, hogy hosszabb ideig fennálló és kiterjedt DSO-ban és TDO-ban szenvedő betegek folyamata, hasonlóan a recidíváló felszínes mikózisokhoz, a krónikus mikózisok körébe sorolható.

1. Abramson C.: Changing patterns of opportunistic fungi. Clin. Courier (1993) 10, 1-2.
2. Ahmed A. R.: Immunology of human dermatophyte infections. Arch. Dermatol. (1982) 118, 521-525.
3. Andre J., Achten G.: Onychomycosis. Int. J. Dermatol. (1987) 26, 481-490.
4. Attapattu M. C., Clayton Y. M.: Humoral antibodies in dermatophytosis factors affecting the antibody response in *T. rubrum* infections. Sabouraudia (1982) 20, 273-279.
5. Bork K., Denk R.: Granulozytenfunktionsdefekte bei granulomatoser muco-cutaner Candidiasis. Arch. Dermatol. Res. (1975) 254, 233-238.
6. Clayton Y. M.: Clinical and mycological diagnostic aspects of onychomycoses and dermatomycoses. Clin. Exp. Dermatol. (1992) 17, (Suppl. 1) 37-40.
7. Csató M. és mtsai.: Polymorphonuclear Leukocyte Funktion in Psoriasis vulgaris. Dermatol. Mon. schr. (1983) 169, 238-242.
8. Dahl M. V., Grando S. A.: Chronic dermatophytosis: what is special about *Trichophyton rubrum*? Adv. Dermatol. (1994) 9, 97-111.
9. Djawari D., Hornstein O. P., Gross J.: Störungen der phagozytären und fungiciden Granulozyten-funktion bei chronischer muco-cutaner Candidose. Z. Hautkr. (1978) 53, 422-434.
10. Evans E. G. V.: Nail dermatophytosis: the nature and scale of the problem. J. Dermatol. Treat. (1990) 1, (Suppl. 2) 47-48.
11. Grando S. A. et al.: Binding and uptake of *Trichophyton rubrum* mannann by human epidermal keratinocytes: a time-course study. Acta Derm. Venereol. (Stockh.) (1992) 72, 273-276.
12. Halmy K., Serfőző J.: Untersuchungen der Funktionen von polymorphkernigen Granulozyten bei rezidivierenden Dermatomykosen. Dermatol. Mon. schr. (1987) 173, 405-410.
13. Halmy K., Serfőző J., Halmy M.: Fagocitózis és *Candida albicans* killing vizsgálatok különböző gombás körképekben. Bőrgyógy. Ven. Szle. (1989) 65, 97-102.
14. Halmy K.: Krónikus dermatophyton fertőzésben végzett vizsgálatok és kezelési eredményeink. Bőrgyógy. Ven. Szle. (1996) 72, 109-114.
15. Haneke E.: Therapie der Nagelmykosen. Weiterbildung. Hautarzt. (1993) 44, 335.
16. Hanifin J. M., Ray L. F., Lobitz W. C.: Immunological reactivity in dermatophytosis. Br. J. Dermatol. (1974) 90, 1-8.
17. Hay R. J.: Chronic dermatophyte infections. Clinical and mycological features. Br. J. Dermatol. (1982) 106, 1-7.
18. Helander L.: The lymphocyte transformation test in dermatophytosis. Mykosen (1978) 21, 71-80.
19. Honbo S., Jones H. E., Artis W. M.: Chronic dermatophyte infection: evaluation of the Ig class-specific antibody response reactive with polysaccharide and peptide antigens derived from *Trichophyton mentagrophytes*. J. Invest. Dermatol. (1984) 82, 287-290.
20. Hunziker N., Brun R.: Lack of delayed reaction in presence of cellmediated immunity in trichophytin hypersensitivity. Arch. Dermatol. (1980) 116, 1266-1268.
21. Jones J. E., Reinhardt J. H., Rinaldi M. G.: Immunologic susceptibility to chronic dermatophytosis. Arch. Dermatol. (1974) 110, 213-220.
22. Kaaman T., Petrini B., Wasserman J.: In vivo and in vitro immune response to trichophytin in dermatophytosis. Acta Dermatovener. (Stockh.) (1979) 59, 229-233.
23. Laurell C. B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis. Anal. Biochem. (1965) 10, 358-361.
24. Lehrer R. I., Cline M. J.: Interaction of *Candida albicans* with human leukocytes and serum. J. Bacteriol. (1969) 98, 996-1004.
25. Many H., Derbes V. J., Friedman L.: *Trichophyton rubrum* exposure and infection within household groups. Arch. Dermatol. (1960) 82, 6-9.
26. Mc Carthy K. G. et al.: Human dermatophyte responsive T cell lines recognize cross-reactive antigens associated with mannose-rich glycoproteins. Exp. Dermatol. (1994) 3, 66-71.
27. Meinhof W.: Dermatomykosen. Indikation für eine orale Therapie. Deutsches Ärzteblatt. Aktuelle Verlagbeilage. (1992) 2, 5-6.
28. Ouchterlony O.: Antigen-antibody reactions in gels. Acta Path. Microbiol. Scand. (1949) 26, 507-515.
29. Parent D., Decroix J., Heenen M.: Clinical experience with short schedules of itraconazole in the treatment of tinea corporis and/or tinea cruris. Dermatology (1994) 189, 378-381.
30. Ramesh V., Reddy B. S. N., Singh R.: Onychomycosis. Int. J. Dermatol. (1983) 22, 148-152.
31. Roberts D. T.: Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: results of an omnibus survey. Br. J. Dermatol. (1992) 126, (Suppl. 39) 23-27.
32. Scher R. K.: Nagelmykosen und eine Folgen für den Patienten. Beilage in der Hautarzt (1945) 46, 4-5.
33. Schütt C. et al.: Die H^3 -Thymidin-Plättchen-Modifikation des Lymphozytentransformationstestes. Acta Biol. Med. Germ. (1978) 37, 1091-1097.
34. Soerensen G. W., Jones H. E.: Immediate and delayed hypersensitivity in chronic dermatophytosis. Arch. Dermatol. (1976) 112, 40-42.
35. Staib F. et al.: *Candida albicans*-Serumpräzipitine bei Blutspendern: Auffällige serologische und kulturelle *Candida albicans* Befunde bei Alkoholikern. Mykosen (1977) 20, 423-430.
36. Summerbell R. C., Kane J., Krajden S.: Onychomycosis, tinea pedis, and tinea manuum caused by non-dermatophytic fungi. Mycoses (1989) 32, 609-619.
37. Svejgaard E. et al.: Clinical and immunological studies in chronic dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum*. Acta Derm. Venerol (Stockh.) (1984) 64, 493-500.
38. Volkmer M., Hausteil U. F.: Der NBT-Test bei bakteriellen und Pilzkrankungen der Haut. Dermatol. Mon. schr. (1981) 167, 6-11.
39. Volkmer M., Hausteil U. F.: Der stimulierte NBT-Test bei Dermatosen mit gestörter Infektabwehr. Dermatol. Mon. schr. (1981) 167, 506-512.
40. Zaias N., Rebell G.: Chronic dermatophytosis syndrome due to *Trichophyton rubrum*. Int. J. Dermatol. (1996) 35, 614-617.
41. Zaias N. et al.: Autosomal dominant pattern of distal subungual onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*. J. Am. Acad. Dermatol. (1996) 34, 302-304.