Σύγχρονες διαγνωστικές τεχνικές

Α. Βελεγράκη

Αφ. Καθηγήτρια

Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Εργαστήριο Μυκητολογίας

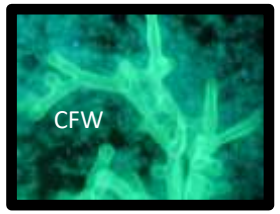
ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ Α.Ε

Disclaimer

- L'ORÉAL, Paris & USA
- Johnson & Johnson, Global
- MSD
- EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, 23560 Luebeck, Germany

Σύγχρονη μεθοδολογία διάγνωσης δερματοφύτων και μη δερματοφυτικών παθογόνων δέρματος και εξαρτημάτων Ι

- Φαινοτυπική ανάλυση (μορφολογία, μεταβολικά χαρακτηριστικά), & καλλιέργειες (επώαση επί 4 εβδομάδες).



- MALDI-TOF MS *(επί θετικής καλλιέργειας)*

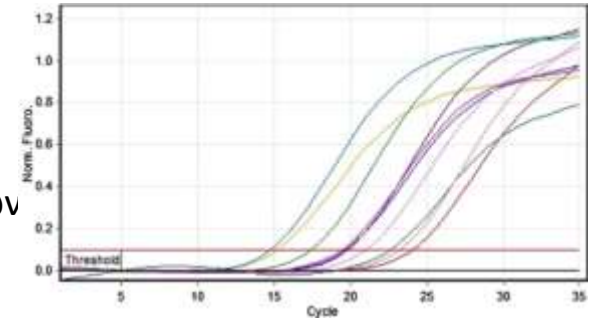
- Next-generation sequencing (NGS). *Μετάφραση στην κλινική πράξη;;*

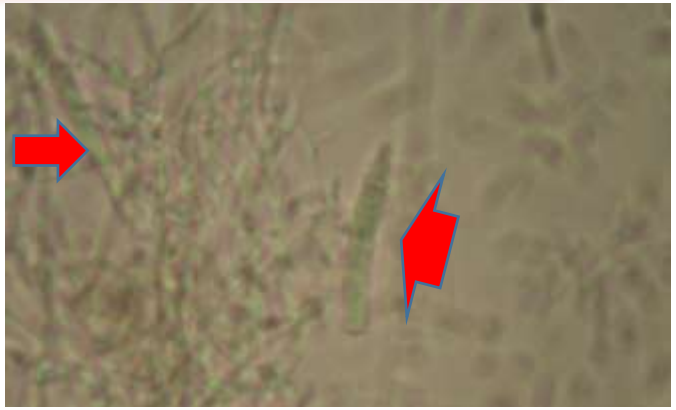
- Μέθοδος νανοσωματιδίων χρυσού ή αργύρου

Βιοιατρική ΟΜΙΛΟΣ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

Σύγχρονη μεθοδολογία διάγνωσης δερματοφύτων και μη δερματοφυτικών παθογόνων δέρματος και εξαρτημάτων ΙΙ

- PCR πραγματικού χρόνου (PathoNostics®) σε νωπά κλινικά δείγματα & από **κύβο παραφίνης (FFPE)**.





- Ανίχνευση 12 δερματοφυτικών και 3 μη δερματοφυτικών παθογόνων

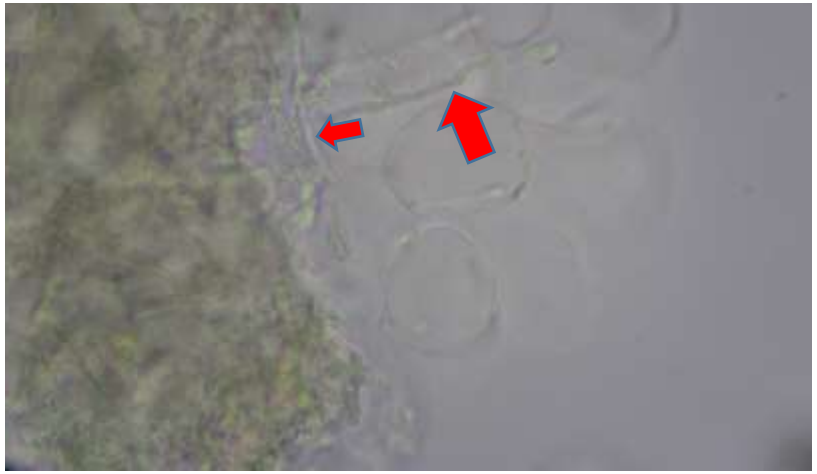
- Προσδιορισμός **αντοχής** στην **τερμπιναφίνη**. Μεταλλάξεις: Phe397Leu & Leu393Phe

- ❑ Έλληνας ασθενής 58 ετών με ταξιδιωτικό ιστορικό στην Ινδία. Εκτεταμένες βλάβες (tinea) & υπό εμπειρική αγωγή με τερμπιναφίνη, χωρίς βελτίωση

- ❑ Θετική μικροσκοπική, θετική PCR, έκδοση αποτελέσματος αυθημερόν

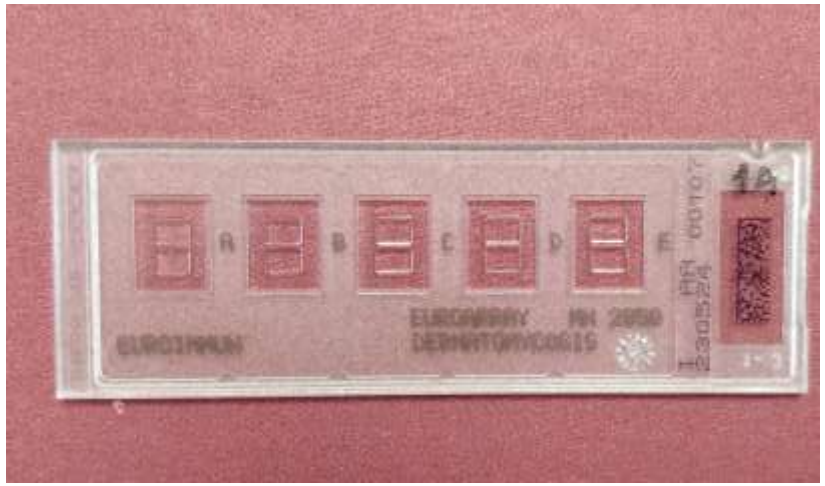
- ❑ Θετικοποίηση καλλιεργειών **σε 15 ημέρες**

Η συνδυαστική χρήση συμβατικής και μοριακής μεθοδολογίας επιλύει γρήγορα και αξιόπιστα διαγνωστικά προβλήματα



- Ασθενής 24 ετών, φοιτήτρια ιατρικής, με χρόνια βλάβη, υπό εμπειρική αντιμυκητιασική αγωγή με τερμπιναφίνη, χωρίς βελτίωση.
- Θετική μικροκοπική, αρνητική PCR πραγματικού χρόνου για δερματόφυτα & *S. brevicaulis*.
- Θετικές καλλιέργειες σε 6 ημέρες.

Μικροσυστοιχίες (EUROArray®). *Η τελευταία λέξη της τεχνολογίας*



- Ανίχνευση σε κλινικά δείγματα συνολικά 56 παθογόνων μυκήτων, εκ των οποίων 23 δερματόφυτα, 3 ζυμομύκητες και 3 μυκηλιακούς μύκητες **δερματολογικού** ενδιαφέροντος
- Δεν ανιχνεύει το *T. indotineae*
- Ανιχνεύει 2 είδη *Fusarium*

- Προϋποθέτει γνώσεις ταξινομικής και μοριακής μυκητολογίας προκειμένου να ερμηνευθούν τα αποτελέσματα

ΟΔΗΓΙΑ: Συνοπτικός εργαστηριακός διαγνωστικός αλγόριθμος

ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Δερματοφύτων & *Malassezia* spp.

Μικροσκόπηση/Καλλιέργεια για σπάνια δερματόφυτα, ζυμομύκητες & νηματοειδείς μύκητες

ΑΡΝΗΤΙΚΟ → ΤΕΛΙΚΟ αποτέλεσμα 2-4 εβδομάδες

ΘΕΤΙΚΟ → ΤΕΛΙΚΟ αποτέλεσμα 2-4 εβδομάδες

ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Νύχια | Τρίχες | Δέρμα

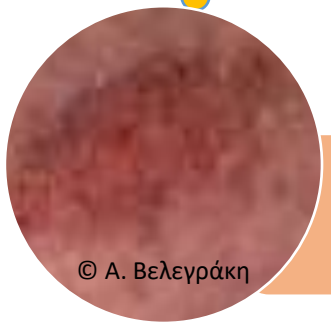
ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ

- PCR Δερματόφυτα και μη δερματοφυτικά παθογόνα
- PCR Δερματόφυτα
- PCR Δερματόφυτα και μη δερματοφυτικά παθογόνα (εκτός από *Malassezia* spp.)

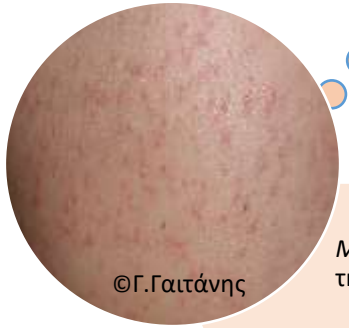
→ ΘΕΤΙΚΗ / ΑΡΝΗΤΙΚΗ PCR → ΤΕΛΙΚΟ αποτέλεσμα 2-3 εργάσιμες ημέρες

Τροποποίηση από Gräser et al., 2012, JDDG, 721-725

PCR δερματοφύτων για ανίχνευση *T. indotineae* & συμβατική μεθοδολογία για τον προσδιορισμό είδους *Malassezia*



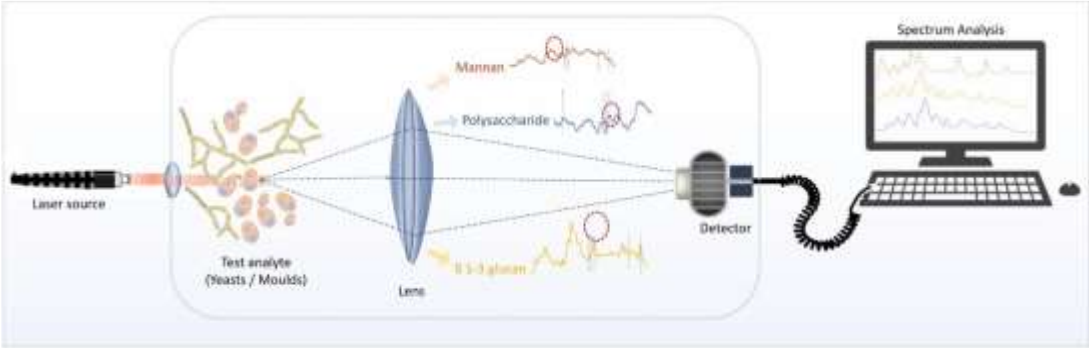
T. Indotineae & *Malassezia* spp. (Δεν ανιχνεύονται από τις μικροσυστοιχίες δερματομυκητιάσεων)



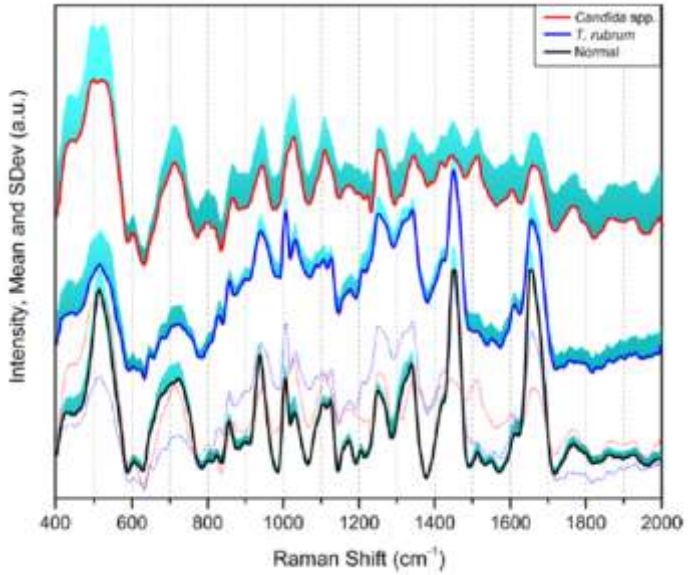
Malassezia spp. (Δεν ανιχνεύονται από την PCR δερματοφύτων)

Βιοιατρική ΟΜΙΛΟΣ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

Φασματοσκοπία Raman σε φυσιολογικά και παθολογικά ρινίσματα ονύχων



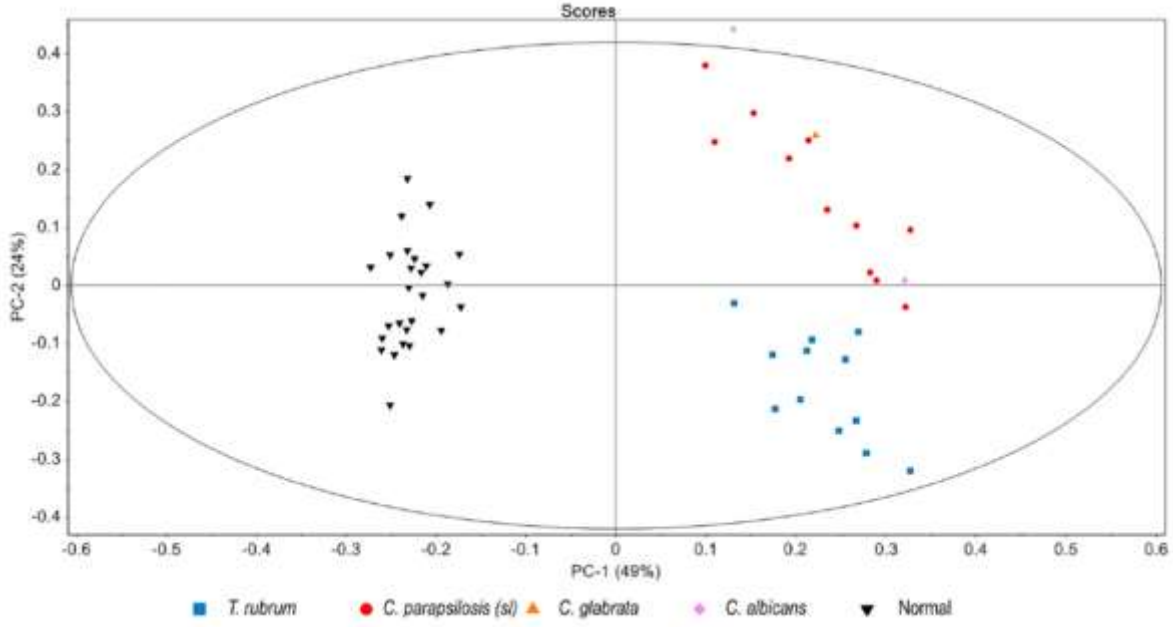
Udupa R, Peralam-Yegneswaran,Lukose, J Chidangil S. 2023, In Press, *British Mycological Society*



Μέσα φάσματα Raman *ex vivo* με τυπικές αποκλίσεις (κυανή περιοχή) ονυχομυκητιάσεων.

Kourkoumelis, Gaitanis, Velegraki, Bassoukas Med. Mycol. 2018: 56(5) , 551-558

Principal component analysis (Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών) των δεδομένων φασματοσκοπίας Raman



Kourkoumelis, Gaitanis, Velegraki, Bassoukas Med. Mycol. 2018: 56(5) , 551-558

Συμπεράσματα

- Οι σύγχρονες διαγνωστικές μέθοδοι στη δερματομυκητολογία είναι προϊόν μετάφρασης διεπιστημονικής βασικής έρευνας
- Πληρούν τα κριτήρια του Π.Ο.Υ ως προς την υψηλού βαθμού συν-επεξεργασία δειγμάτων, ταχύτητα, ευαισθησία, ειδικότητα και την ευκολία στη χρήση
- Ανιχνεύουν ΑΜΕΣΑ την αντοχή στην τερμπιναφίνη
- Δεν πληρούν όμως πάντα το κριτήριο του Π.Ο.Υ ως προς το προσιτό κόστος
- Η συνδυαστική χρήση συμβατικών και μοριακών μεθόδων αποτελεί βασικό αρωγό της κλινικής πράξης, χωρίς να υπονομεύεται η ταχύτητα έκδοσης του αποτελέσματος
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων αξιώνει υψηλή εξειδίκευση γνώση γονιδιωματικών και επιδημιολογικών δεδομένων

Η διεπιστημονικότητα εκσυγχρονίζει την εκπαίδευση, την επιστήμη και τη δημόσια υγεία.

Δ. Γληνός
Εκλεκτές Σελίδες
Εκδ. ΣΤΟΧΑΣΤΗΣ, 1972