



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΔΕΡΜΑΤΟΦΥΤΙΩΝ ΣΕ ΕΝΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΑΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ ΣΤΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ 2010-2022**

Γεώργιος-Χρήστος Βιταλιώτης (19678026)

Μαρία-Αναστασία Καντιδενού (19678100)

Επιβλέπουσα: Μαρία Σιώπη, Ph.D., Ακαδημαϊκή υπότροφος

Αθήνα, 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES
DIVISION MEDICAL LABORATORIES



GRADUATE THESIS

**EPIDEMIOLOGY OF DERMATOPHYTOSES IN A UNIVERSITY
TERTIARY CARE HOSPITAL DURING 2010-2022**

Georgios-Christos Vitaliotis (19678026)

Maria-Anastasia Kantidenou (19678100)

Supervisor: Maria Siopi, Ph.D., Academic Scholar

Athens, 2024

Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

Μαρία Σιώπη

Απόστολος Μπελούκας

Χρυσάνθη Βογιατζάκη

Δήλωση συγγραφέων πτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Γεώργιος-Χρήστος Βιταλιώτης του Μιχαήλ, με αριθμό μητρώου 19678026 και Μαρία-Αναστασία Καντιδενού του Μιχαήλ, με αριθμό μητρώου 19678100, φοιτητές του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνουμε ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

Υπογραφή

Βιταλιώτης Γεώργιος-Χρήστος



Καντιδενού Μαρία-Αναστασία



Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου (Π.Γ.Ν.) «Αττικόν».

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Πουρνάρα Σπύρο (Διευθυντής Εργαστηρίου Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α.) και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μικροβιολογίας κ. Μελετιάδη Ιωσήφ (Υπεύθυνος Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. συνεπιβλέποντας της εργασίας) που μας φιλοξένησαν και μας παρείχαν τη δυνατότητα να πραγματοποιήσουμε την έρευνα μας στο Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας του Π.Γ.Ν. «Αττικόν».

Οφείλουμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στη Δρ. Σιώπη Μαρία, επιβλέπουσα της διπλωματικής μας εργασίας, που ήταν πάντα δίπλα μας καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας και μας έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθούμε με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Με το ενδιαφέρον, την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια της εμπλουτίσαμε τις γνώσεις μας και αναπτύξαμε σημαντικές δεξιότητες.

Θα θέλαμε επίσης να πούμε ένα μεγάλο ευχαριστώ στις οικογένειες μας και στους φίλους μας που ήταν συνέχεια δίπλα μας, πίστεψαν σε εμάς και μας στήριξαν μέχρι το τέλος.

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	VI
Abstract.....	VIII
Συνομογραφίες.....	X
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Δερματοφυτικές λοιμώξεις	1
1.1 Εισαγωγή	1
1.2 Αιτιολογικοί παράγοντες.....	3
1.3 Παθογένεια και κλινικές εκδηλώσεις	7
1.4 Επιδημιολογία.....	11
1.5 Εργαστηριακή διάγνωση	15
1.6 Θεραπεία.....	20
1.7 Αντοχή στα αντιμυκητικά	23
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΣΚΟΠΟΣ.....	28
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	29
2.1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	29
2.2 Πληθυσμός της παρούσας μελέτης και κλινικά δείγματα.....	29
2.3 Μοριακή ταυτοποίηση <i>Trichophyton spp.</i>	31
2.4 Έλεγχος της <i>in vitro</i> ευαισθησίας <i>Trichophyton spp.</i> σε αντιμυκητικούς παράγοντες ..	41
2.5 Ανάλυση δεδομένων	50
3. Αποτελέσματα.....	52
3.1 Επιδημιολογία δερματοφυτιών στην Ελλάδα.....	52
3.2 Επιδημιολογία δερματοφυτιών στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν»	62
4. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	67
Συμμετοχή σε δράσεις διάχυσης της μελέτης	75
Βιβλιογραφία.....	76

Παραρτήματα.....	87
Κατάλογος εικόνων.....	87
Κατάλογος πινάκων.....	90

Περίληψη

Οι δερματοφυτίες συνιστούν τις πιο συχνά απαντώμενες μυκητικές λοιμώξεις. Ένα ιδιαίτερα ανησυχητικό φαινόμενο είναι αυτό της αναδυόμενης αντοχής των παθογόνων, κυρίως των *Trichophyton spp.*, στις θεραπείες εκλογής. Επί του παρόντος, οι πληροφορίες σχετικά με τη σύγχρονη επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα είναι περιορισμένες. Ως εκ τούτου, πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, με σκοπό τη σκιαγράφηση της τοπικής επιδημιολογίας, και διενεργήθηκε αναδρομική μελέτη περιγράφοντας την επιδημιολογία των δερματοφυτιών σε ένα Πανεπιστημιακό νοσοκομείο τα τελευταία έτη.

Καταγράφηκαν τα μικροβιολογικά τεκμηριωμένα περιστατικά δερματοφυτίας σε άτομα με κλινική υποψία της νόσου που επισκέφτηκαν το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» κατά την τριετία 2020-2022. Τα απομονωθέντα στελέχη ταυτοποιήθηκαν μοριακά (PCR-RFLP και αλληλούχιση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2) και πραγματοποιήθηκε έλεγχος ευαισθησίας τους στην τερμπιναφίνη, στην ιτρακοναζόλη και στη βορικοναζόλη με την πρότυπη μεθοδολογία EUCAST E.Def 11.0. Η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης, καθώς και η κατανομή των δερματοφύτων και το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας τους στα αντιμυκητικά συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα δεδομένα για το διάστημα 2010-2019.

Στο διάστημα 2020-2022, η μέση (εύρος) συχνότητα εμφάνισης της δερματοφυτίας ήταν 18% (15%-23%), ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επεισοδίων στο βάθος της 13ετίας 2010-2022 ($p = 0.08$). Ο επικρατέστερος αιτιολογικός παράγοντας της λοίμωξης ήταν το *T. rubrum* (33%), ακολουθούμενο από *M. canis* (19%), *T. indotineae* (18%), *T. tonsurans* (10%), *T. interdigitale* (9%), *T. mentagrophytes* (5%) και άλλα είδη (5%). Συγκριτικά με τα έτη

2010-2019, σημειώθηκε σημαντική αύξηση του *T. indotineae* ($p = 0,002$) συνοδευόμενη από παράλληλη μείωση του *T. rubrum* ($p = 0,02$). Όλα τα στελέχη ταξινομήθηκαν ως άγριου τύπου στις αζόλες, ενώ φαινότυπος μη-άγριου τύπου στην τερμπιναφίνη εντοπίστηκε μόνο για το σύνολο των στελεχών *T. indotineae*. Ο αριθμός των ανθεκτικών στην τερμπιναφίνη δερματοφυτιών οφειλόμενων σε *Trichophyton* spp. αυξήθηκε σημαντικά σε σύγκριση με την περίοδο 2010-2019 ($p = 0,002$).

Τα επιδημιολογικά δεδομένα για τις δερματοφυτίες στην Ελλάδα είναι περιορισμένα και αναχρονιστικά. Η σημαντική αύξηση στη συχνότητα απομόνωσης *T. indotineae* υποδεικνύει ότι η περιοδική επανεξέταση της κατανομής των ειδών είναι κρίσιμη για τη σωστή διαχείριση της λοίμωξης. Η αντοχή στην τερμπιναφίνη αποτελεί αναδυόμενο πρόβλημα στην Ελλάδα. Το εύρημα αυτό πρέπει να σημάνει συναγερμό για τον έλεγχο της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά σε τοπική κλίμακα, ιδίως σε περιπτώσεις ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία.

Λέξεις-κλειδιά: δερματοφυτία, *Trichophyton indotineae*, αντοχή στην τερμπιναφίνη, Ελλάδα, επιδημιολογία

Abstract

Dermatophytoses are the most commonly encountered fungal infections. A particularly worrying phenomenon is the emergence of resistant pathogens, especially *Trichophyton* spp., to first-line antifungal treatments. Currently, data on the contemporary epidemiology of dermatophytosis in Greece are limited. Therefore, a review of the literature was performed to provide an overview of the local epidemiological situation, and a retrospective study was conducted describing the epidemiology of dermatophytoses in a University hospital over the past years.

All microbiologically confirmed cases in individuals with clinically suspected dermatophytosis attending “Attikon” hospital during 2020-2022 were recorded. The recovered isolates were molecularly identified (PCR-RFLP and sequencing of the ITS1-5.8S-ITS2 region) and their *in vitro* susceptibility to terbinafine, itraconazole and voriconazole was assessed using the EUCAST E.Def 11.0 reference methodology. The incidence of infection, as well as the species distribution and antifungal resistance were compared to the corresponding data of the period 2010-2019.

During 2020-2022, the mean (range) incidence of dermatophytosis was 18% (15%-23%), while no significant increase was observed over the 13-year period 2010-2022 ($p = 0,08$). The predominant causative agent of the infection was *T. rubrum* (33%), followed by *M. canis* (19%), *T. indotineae* (18%), *T. tonsurans* (10%), *T. interdigitale* (9%), *T. mentagrophytes* (5%) and other species (5%). Compared to the years 2010-2019, there was a significant increase in *T. indotineae* ($p = 0,002$) accompanied by a parallel decrease in *T. rubrum* ($p = 0,02$). All isolates

were classified as wild-type to azoles, while a non-wild-type phenotype to terbinafine was detected only among all *T. indotineae* strains. The number of terbinafine-resistant *Trichophyton* dermatophytoses increased significantly compared to 2010-2019 ($p = 0,002$).

Epidemiological data on dermatophytoses in Greece are limited and out-of-date. The significant increase in *T. indotineae* isolation frequency suggests that periodic review of species distribution is critical for proper management of the infection. Terbinafine resistance is an emerging problem in Greece. This finding must prompt for antifungal susceptibility testing on a local scale, particularly in non-responding cases.

Keywords: dermatophytosis, *Trichophyton indotineae*, terbinafine resistance, Greece, epidemiology

Συντομογραφίες

Σύντμηση	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
DMSO	dimethyl sulfoxide	διμεθυλοσουλφοξείδιο
DTM	dermatophyte test medium	άγαρ δερματοφύτων
EUCAST	europaean committee on antimicrobial susceptibility testing	ευρωπαϊκή επιτροπή για τον έλεγχο αντιμικροβιακής ευαισθησίας
GC	growth control	μάρτυρας ελέγχου της ανάπτυξης
GM	geometric mean	γεωμετρικός μέσος όρος
ITS	internal transcribed spacer	εσωτερική μεταγραφόμενη διαχωριστική
MIC	minimum inhibitory concentration	ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση
MOPS	(3-(N-morpholino)propanesulfonic acid	3-(N-μορφολινο)προπανοσουλφονικό οξύ
PCR	polymerase chain reaction	αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
RFLP	restriction fragment length polymorphism	πολυμορφισμός μεγέθους περιοριστικών τμημάτων
SCG	Sabouraud glucose agar with chloramphenicol and gentamicin	άγαρ γλυκόζης Sabouraud με χλωραμφενικόλη και γενταμικίνη
SQLE	squalene epoxidase	εποξειδάση του σκουαλενίου

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Δερματοφυτικές λοιμώξεις

1.1 Εισαγωγή

Τα δερματόφυτα, μια ομάδα μυκήτων που ευδοκιμούν σε ιστούς πλούσιους σε κερατίνη, όπως το δέρμα, τα μαλλιά και τα νύχια, αποτελούν κύρια αιτία επιφανειακών μυκητικών λοιμώξεων, γνωστών ως *tinea*. Αυτός ο όρος, που προέρχεται από τα λατινικά, χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το σημείο της λοίμωξης, όπως *tinea pedis* για τη δερματοφυτία των ποδιών. Τις τελευταίες δεκαετίες, οι λοιμώξεις από δερματόφυτα έχουν γίνει όλο και πιο διαδεδομένες, επηρεάζοντας κατ' εκτίμηση το 20-25% του παγκόσμιου πληθυσμού (1). Ωστόσο, σε περιοχές, όπως σε χώρες της Αφρικής και στην Ινδία, το ποσοστό αυτό μπορεί να ανέλθει στο 40%-60%, γεγονός που υπογραμμίζει την ευρεία διάδοση αυτών των λοιμώξεων (2), (3).

Η σημασία των δερματοφυτιών εκτείνεται πέρα από τον υψηλό επιπολασμό τους. Τα δερματόφυτα είναι γνωστά για την ικανότητά τους να προκαλούν χρόνιες λοιμώξεις που συχνά υποτροπιάζουν ακόμη και μετά από θεραπεία. Αυτή η χρόνια φύση δεν επηρεάζει μόνο την ποιότητα ζωής των ασθενών, αλλά επιβάλλει επίσης σημαντική οικονομική επιβάρυνση στα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης. Για παράδειγμα, στις ΗΠΑ, το κόστος της θεραπείας των λοιμώξεων από δερματόφυτα υπερβαίνει ετησίως τα 800 εκατομμύρια δολάρια (4). Το ποσό αυτό αντικατοπτρίζει μόνο ένα μέρος του συνολικού κόστους, καθώς δεν λαμβάνει υπόψη τις

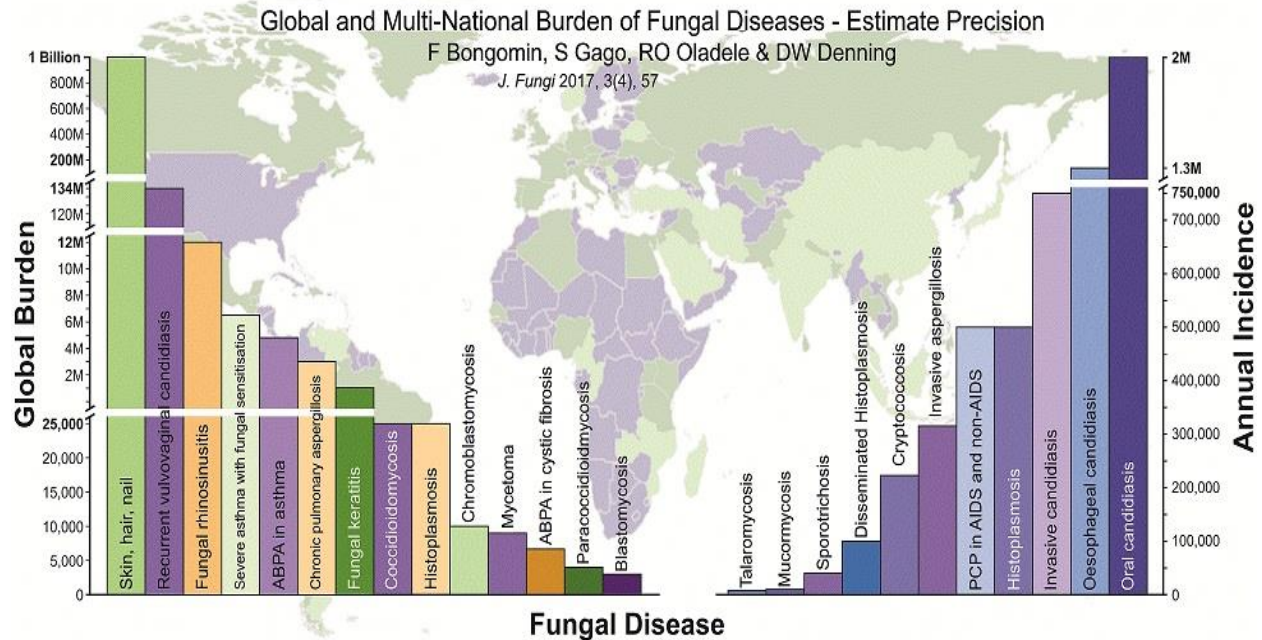
δαπάνες που σχετίζονται με την υποδιάγνωση, τις περιττές διαγνωστικές διαδικασίες ή τις ακατάλληλες θεραπείες που χορηγούνται πριν από την οριστική διάγνωση (5).

Τα δερματόφυτα είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτα σε σύγκριση με άλλα είδη μυκήτων λόγω της επίδρασής τους στους εξωτερικούς, ορατούς ιστούς. Σε αντίθεση με μυκητικά παθογόνα που προσβάλλουν τα εσωτερικά όργανα ή τα άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, τα δερματόφυτα στοχεύουν κυρίως σε εξωτερικούς ιστούς που είναι πλούσιοι σε κερατίνη. Αυτό καθιστά τις δερματοφυτίες ιδιαίτερα ορατές, ωθώντας τα άτομα να αναζητούν συχνότερα ιατρική φροντίδα. Ωστόσο, ο χρόνιος και επαναλαμβανόμενος χαρακτήρας αυτών των λοιμώξεων αποτελεί σημαντική πρόκληση τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους παρόχους υγειονομικής περίθαλψης (6).

Μια αναδυόμενη ανησυχία στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από δερματόφυτα είναι η ανάπτυξη αντιμυκητικής αντοχής (7). Η ευρέως διαδεδομένη διαθεσιμότητα και η κατάχρηση των αντιμυκητικών φαρμάκων που χορηγούνται χωρίς ιατρική συνταγή (over the counter) συμβάλλουν σε αυτό το ζήτημα (1). Όταν αυτά τα φάρμακα χρησιμοποιούνται με ακατάλληλο τρόπο, όπως μέσω λανθασμένης δοσολογίας ή ελλιπών κύκλων θεραπείας, μπορούν να προωθήσουν την εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών, η οποία περιπλέκει τη θεραπεία και αυξάνει το συνολικό κόστος διαχείρισης των λοιμώξεων.

Η σύγχρονη επιδημιολογία των δερματοφύτων αναδεικνύει την ιδιότητά τους ως το πιο κοινό μυκητικό παθογόνο παγκοσμίως (8). Η υψηλή επίπτωση, η χρονιότητα και η σχετική οικονομική επιβάρυνση των λοιμώξεων που προκαλούν υπογραμμίζουν την ανάγκη για

συνεχή έρευνα και αποτελεσματικές στρατηγικές διαχείρισης για την αντιμετώπιση του αυξανόμενου προβλήματος της αντοχής στα αντιμυκητικά φάρμακα.



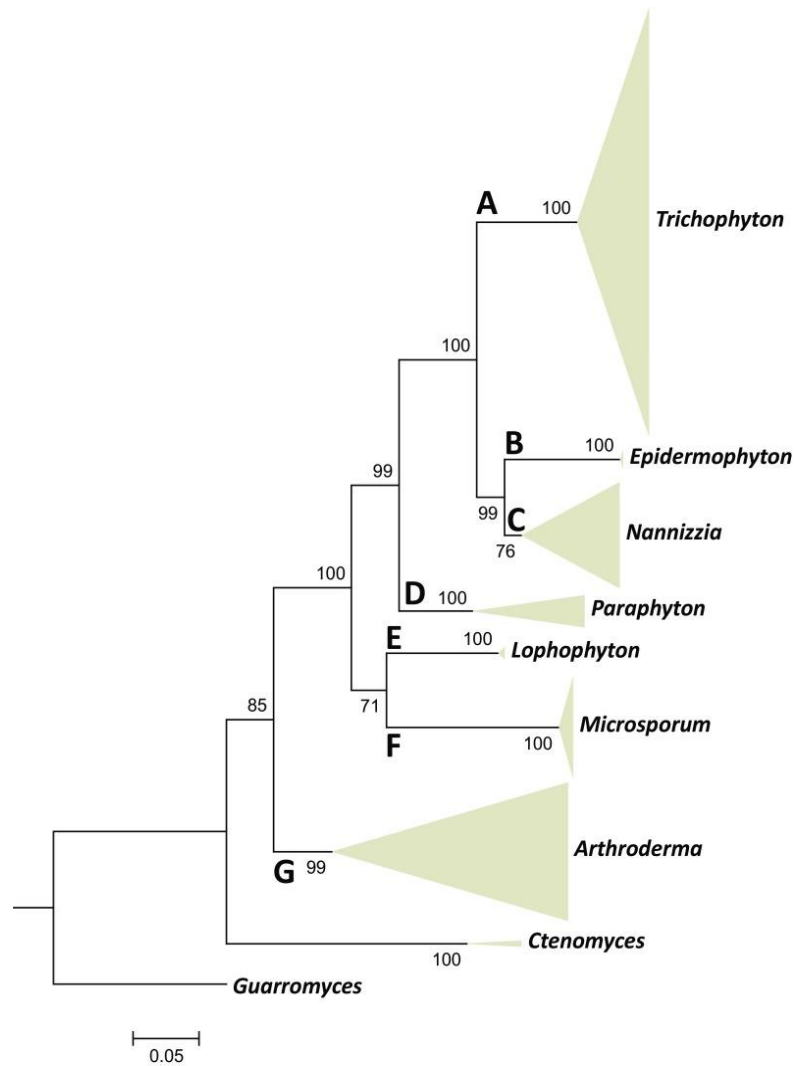
Εικόνα 1. Παγκόσμια επιβάρυνση από μυκητικές λοιμώξεις (8).

1.2 Αιτιολογικοί παράγοντες

Τα δερματόφυτα, αποτελούν μια εξειδικευμένη ομάδα νηματοειδών μυκήτων που είναι μοναδικά προσαρμοσμένη ώστε να εκμεταλλεύεται τους κερατινοποιημένους ιστούς των ξενιστών τους. Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό τους είναι ότι θεωρούνται πρωτογενή, και όχι ευκαιριακά, παθογόνα. Αυτό σημαίνει ότι έχουν την ικανότητα να μολύνουν υγιείς οργανισμούς, χωρίς να βασίζονται σε εξασθενημένα ανοσοποιητικά συστήματα ή στη διείσδυση μέσω της κατεστραμμένης κερατίνης στιβάδας. Σε αντίθεση με πολλά άλλα είδη

μυκήτων που αντλούν την τροφή τους από την αποσύνθεση της οργανικής ύλης, τα δερματόφυτα έχουν βελτιώσει την εξελικτική τους θέση ώστε να περιλαμβάνουν την επιδερμίδα, τα μαλλιά και τα νύχια. Κατηγοριοποιημένα σε κερατινόφιλους και κερατινολυτικούς τύπους, διαθέτουν την ικανότητα να απορροφούν και να χρησιμοποιούν την κερατίνη ως υπόστρωμα για την ανάπτυξή τους, διεισδύοντας σε ζωντανούς οργανισμούς και υποκινώντας διάφορες μορφές μόλυνσης (9).

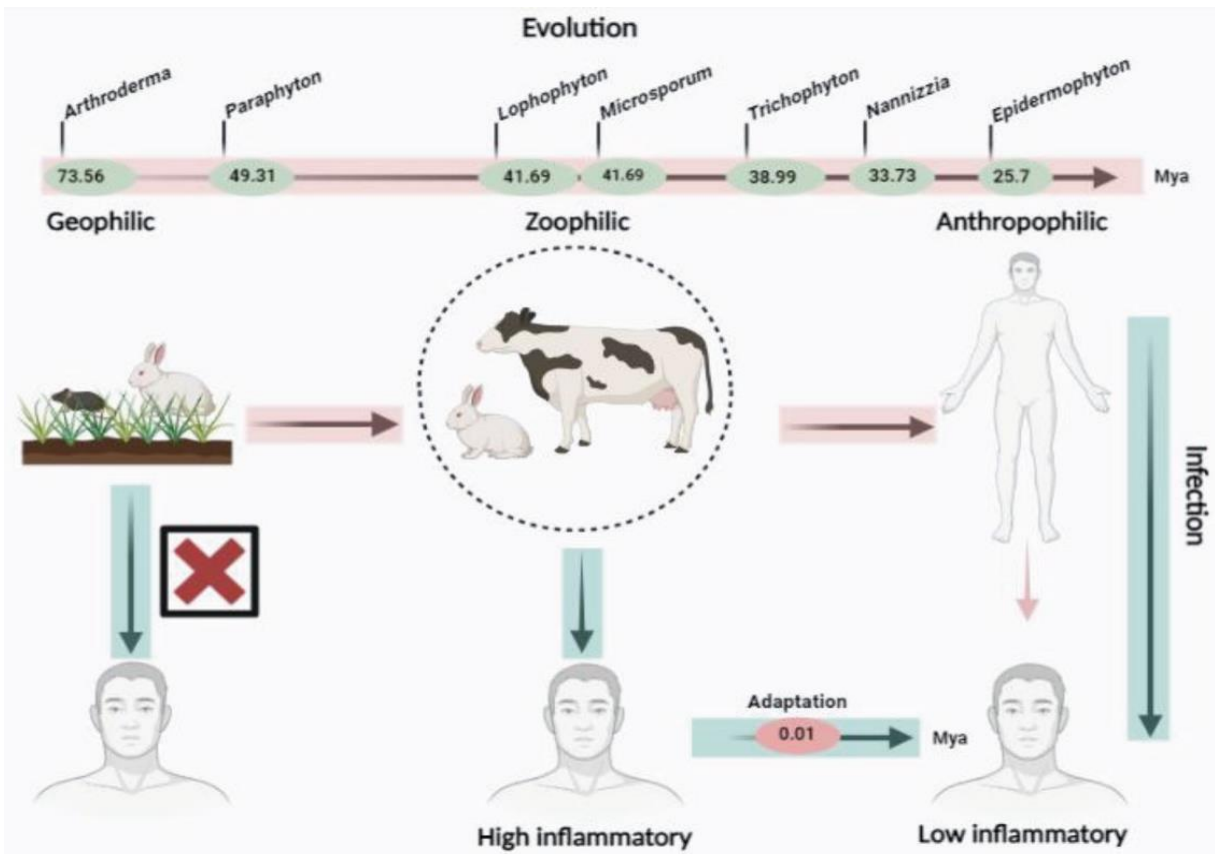
Τα δερματόφυτα ανήκουν στο φύλο των Ασκομυκήτων, στην ομοταξία Eurotiomycetes, στην τάξη Onygenales και στην οικογένεια Arthrodermataceae. Μέχρι πρότινος, ταξινομούνταν σε τρία γένη σύμφωνα με τη μορφολογία των μακροκονιδίων τους: *Epidermophyton*, *Microsporum* και *Trichophyton*. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη φυλογενετικά κριτήρια, πρόσφατα προτάθηκε νέα ταξινόμησή τους σε εννέα γένη: *Arthroderma* (21 είδη), *Ctenomyces*, *Epidermophyton* (1 είδος), *Guarromyces* (1 είδος), *Lophophyton* (1 είδος), *Microsporum* (3 είδη), *Nannizzia* (9 είδη), *Paraphyton* (3 είδη) και *Trichophyton* (16 είδη) (10). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα κύρια παθογόνα που μολύνουν τον άνθρωπο ανήκουν στα γένη *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Nannizzia* και *Trichophyton* (11).



Εικόνα 2. Πολυτοπική φυλογενετική ταξινόμηση των δερματοφύτων (10).

Επιπλέον, ανάλογα με την οικολογία και τον τρόπο μετάδοσής τους, τα δερματόφυτα διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες. Τα ανθρωπόφιλα είδη, με κυριότερους εκπρόσωπους τα *T. interdigitale*, *T. rubrum*, *T. schoenleinii*, *T. soudanense*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *M. audouinii*, *M. ferrugineum* και *E. floccosum*, μεταδίδονται από άνθρωπο σε άνθρωπο και προκαλούν ήπιες, χρόνιες, μη φλεγμονώδεις λοιμώξεις. Από την άλλη πλευρά, τα ζωόφιλα είδη, με κυριότερους εκπρόσωπους τα *T. benhamiae*, *T. mentagrophytes*, *T. verrucosum*, *M. canis*, *N.*

nana και *N. persicolor*, μεταδίδονται από τα ζώα στους ανθρώπους και προκαλούν οξείες, έντονα φλεγμονώδεις λοιμώξεις. Τέλος, τα γεώφιλα είδη, με κυριότερους εκπρόσωπους τα *N. gypseae*, *N. fulva* και *N. cookei*, πιστεύεται ότι ήταν προγονικά προς τα ανθρωπόφιλα και ζωόφιλα δερματούφυτα, αναπτύσσονται στο έδαφος και προκαλούν σπάνια μη έντονα φλεγμονώδεις λοιμώξεις στον άνθρωπο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η κατηγοριοποίηση των ειδών δεν είναι πάντοτε ξεκάθαρη, καθώς για παράδειγμα ο άνθρωπος μπορεί να μολυνθεί τόσο από ζώο μολυσμένο από ζωόφιλο είδος, όσο και ζώο (είτε συμπτωματικό είτε ασυμπτωματικό) μολυσμένο από γεώφιλο είδος



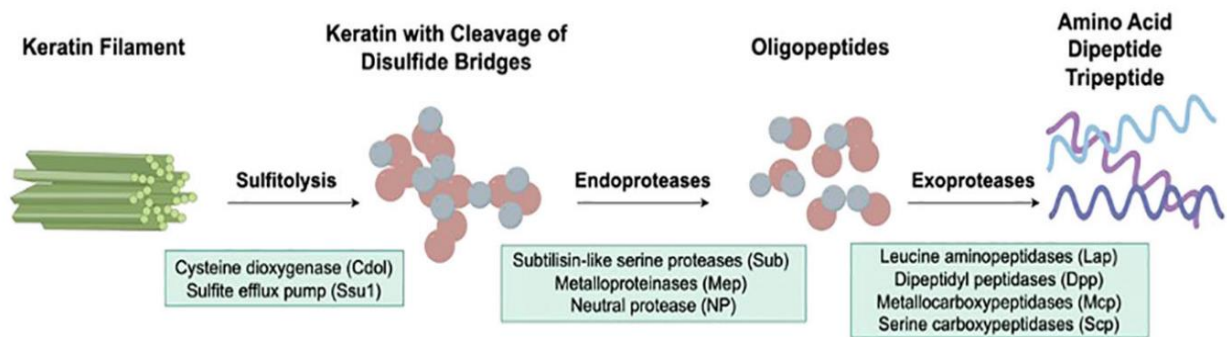
Εικόνα 3. Ταξινόμηση των δερματοφύτων σύμφωνα με το βίοτοπο και την οδό μετάδοσής τους (12).

Ειδικότερα, το γένος *Epidermophyton* περιλαμβάνει μόνο το είδος *E. floccosum*, το οποίο είναι ανθρωπόφιλο και προκαλεί λοιμώξεις κυρίως στο δέρμα, πιο συγκεκριμένα στις μηρογεννητικές και μεσοδακτύλιες των ποδών πτυχές. Τα γένη *Microsporum* και *Nannizzia* περιλαμβάνουν ανθρωπόφιλα, ζωόφιλα και γεώφιλα είδη, τα οποία προσβάλλουν κυρίως το τριχωτό της κεφαλής και το δέρμα, και σπανίως τους όνυχες. Τέλος, το γένος *Trichophyton* περιλαμβάνει τόσο ανθρωπόφιλα, όσο και ζωόφιλα είδη, τα οποία προσβάλλουν το τριχωτό της κεφαλής, το δέρμα και τους όνυχες (11). Το *T. rubrum* και το *T. interdigitale*, συγκεκριμένα, είναι διαβόητα για το ρόλο τους σε χρόνιες και ιδιαίτερα μεταδοτικές λοιμώξεις, ενώ το ιδιαίτερης σημασίας πρόσφατα ανερχόμενο *T. indotineae*, είναι ένα εξαιρετικά μεταδιδόμενο παθογόνο το οποίο είναι κατά κύριο λόγο ανθεκτικό στην τερμιναφίνη, το φάρμακο εκλογής για τις δερματοφυτίες (13).

1.3 Παθογένεια και κλινικές εκδηλώσεις

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των δερματοφύτων είναι η έκκριση εξειδικευμένων ενζύμων, όπως οι ενδοπρωτεάσες και οι εξωπρωτεάσες, οι οποίες ανήκουν συλλογικά στην ομάδα των κερατινολυτικών ενζύμων. Τα ένζυμα αυτά είναι απαραίτητα, διότι είναι υπεύθυνα για την αποικοδόμηση της κερατίνης, μιας βασικής δομικής πρωτεΐνης που ενισχύει την ακεραιότητα και τη δομή του δέρματος, των μαλλιών και των νυχιών. Τα κερατινολυτικά ένζυμα βοηθούν τα δερματοφύτα να διεισδύσουν στη σκληρή κεράτινη στιβάδα, επιτρέποντας τους να αποκτήσουν πρόσβαση στους υποκείμενους ιστούς. Μόλις εισέλθουν, η κεράτινη στιβάδα πέπτεται και διασπάται σε μικρότερα πεπτίδια. Η διαδικασία αυτή διευκολύνει την

εξέλιξη και την εξάπλωση των δερματοφύτων μέσα στους ιστούς του ξενιστή, ενώ έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση αμινοξέων. Τα δερματόφυτα χρησιμοποιούν μεταφορείς για να αποκτήσουν αυτά τα αμινοξέα, τα οποία χρησιμεύουν ως θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξή τους. Η λοίμωξη προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, οδηγώντας σε συμπτώματα όπως ερυθρότητα, κνησμό και φλεγμονή. Η ανοσολογική απόκριση του ξενιστή μπορεί επίσης να συμβάλει στην εξάλειψη των δερματοφύτων (14).

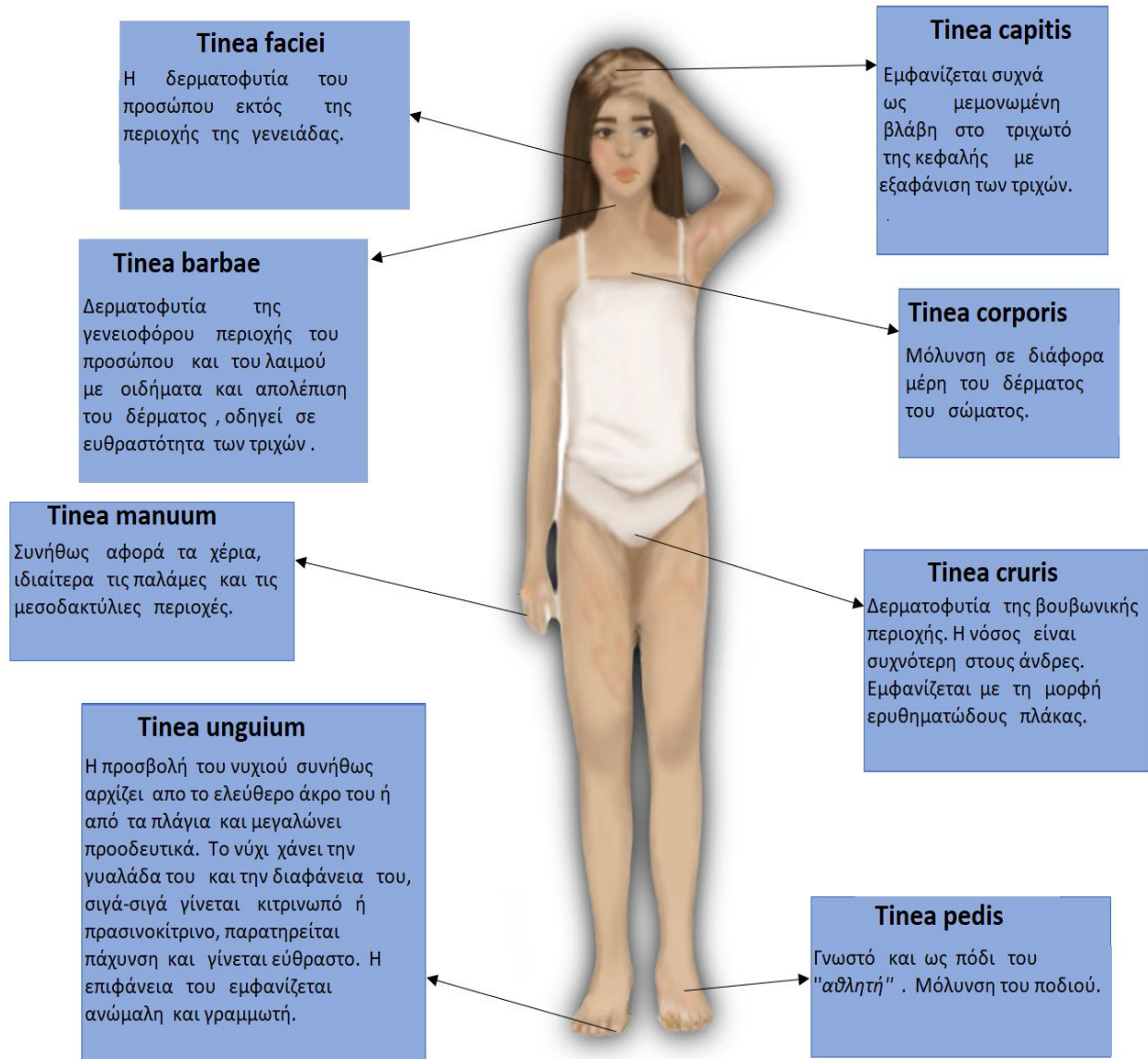


Εικόνα 4. Λοιμογονικοί παράγοντες των δερματοφύτων που εμπλέκονται στην κερατινόλυση (15).

Τα ανθρωπόφιλα είδη, όπως το *T. rubrum* και το *T. interdigitale*, κατέχουν σήμερα εξαιρετική σημασία μεταξύ των δερματοφύτων. Αυτοί οι μύκητες μεταδίδονται κυρίως από άτομο σε άτομο, με την άμεση επαφή να αποτελεί λιγότερο συχνό τρόπο και τη μετάδοση να γίνεται συχνότερα μέσω θραυσμάτων μυκήτων ή δερματικών λεπιών που φέρουν μολυσματικά σωματίδια, τα οποία μπορούν να προσκολληθούν σε διάφορες επιφάνειες αποτελώντας κίνδυνο μόλυνσης για τα άτομα που έρχονται σε επαφή με αυτές (9).

Οι λοιμώξεις από τα δερματόφυτα μπορούν να επέλθουν μέσω άμεσης επαφής με μολυσμένους ανθρώπους ή ζώα, καθώς και μέσω την απλής έκθεσης σε περιβάλλοντα που φιλοξενούν τα θραύσματα των μυκήτων, όπως το έδαφος. Αυτός ο τρόπος μετάδοσης για παράδειγμα, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένος μεταξύ των παιδιών, αφού παίζουν στο έδαφος που μπορεί να είναι μολυσμένο. Τα κλινικά αποτελέσματα των δερματοφυτικών λοιμώξεων είναι ποικίλα και εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως το είδος του παθογόνου, την ακριβή ανατομική θέση της λοίμωξης και την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή. Επιπλέον, ο κίνδυνος και η σοβαρότητα των επιπλοκών ενισχύονται σημαντικά σε άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, καθιστώντας τα πιο ευάλωτα σε εκτεταμένες και επίμονες λοιμώξεις (16).

Σύμφωνα με τον εντοπισμό της λοίμωξης, οι δερματοφυτίες διακρίνονται σε: *tinea capitis* (δερματοφυτία τριχωτού της κεφαλής), *tinea faciei* (δερματοφυτία προσώπου), *tinea barbae* (δερματοφυτία γενείου), *tinea corporis* (δερματοφυτία σώματος ή ψιλού δέρματος), *tinea manuum* (δερματοφυτία άκρων χεριών), *tinea cruris* (δερματοφυτία μηρογεννητικών πτυχών), *tinea pedis* (δερματοφυτία άκρων ποδών) και *tinea unguium* (δερματοφυτία ονύχων).



Εικόνα 5. Είδη δερματοφυτικής λοίμωξης (tinea) ανάλογα με το σημείο εντοπισμού της.



Εικόνα 6. Κλινικές εκδηλώσεις δερματοφυτιών. Από αριστερά προς τα δεξιά: τριχωτό κεφαλής παιδιατρικού ασθενούς με *tinea capitis* (17), ερυθματώδεις, φολιδωτές βλατίδες στο πρόσωπο παιδιατρικού ασθενούς με *tinea facialis* (17), περιφερική-άπω πλάγια *tinea unguium* (18).

1.4 Επιδημιολογία

Η επιδημιολογία των δερματοφυτιών παρουσιάζει σημαντικές διαφορές τόσο μεταξύ των χωρών όσο και τοπικά εντός μιας χώρας, καθώς παράγοντες όπως η γεωγραφία, η κοινωνικοοικονομική κατάσταση και η κλιματική αλλαγή μπορούν να επηρεάσουν άμεσα τον επιπολασμό τους (19), (20). Συνεπώς, η διενέργεια τοπικών επιδημιολογικών μελετών είναι απαραίτητη αφού περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες μεταβάλλονται συνεχώς. Η τακτική επανεξέταση της επίδρασης και της κατανομής των ειδών είναι ζωτικής σημασίας για την αποτελεσματική διαχείριση και την ανάπτυξη προγραμμάτων πρόληψης.

Οι δερματοφυτικές λοιμώξεις συγκαταλέγονται μεταξύ των πιο κοινών λοιμωδών νοσημάτων παγκοσμίως, ενώ εκτιμάται ότι ο πληθυσμός που θα μολυνθεί από δερματόφυτο

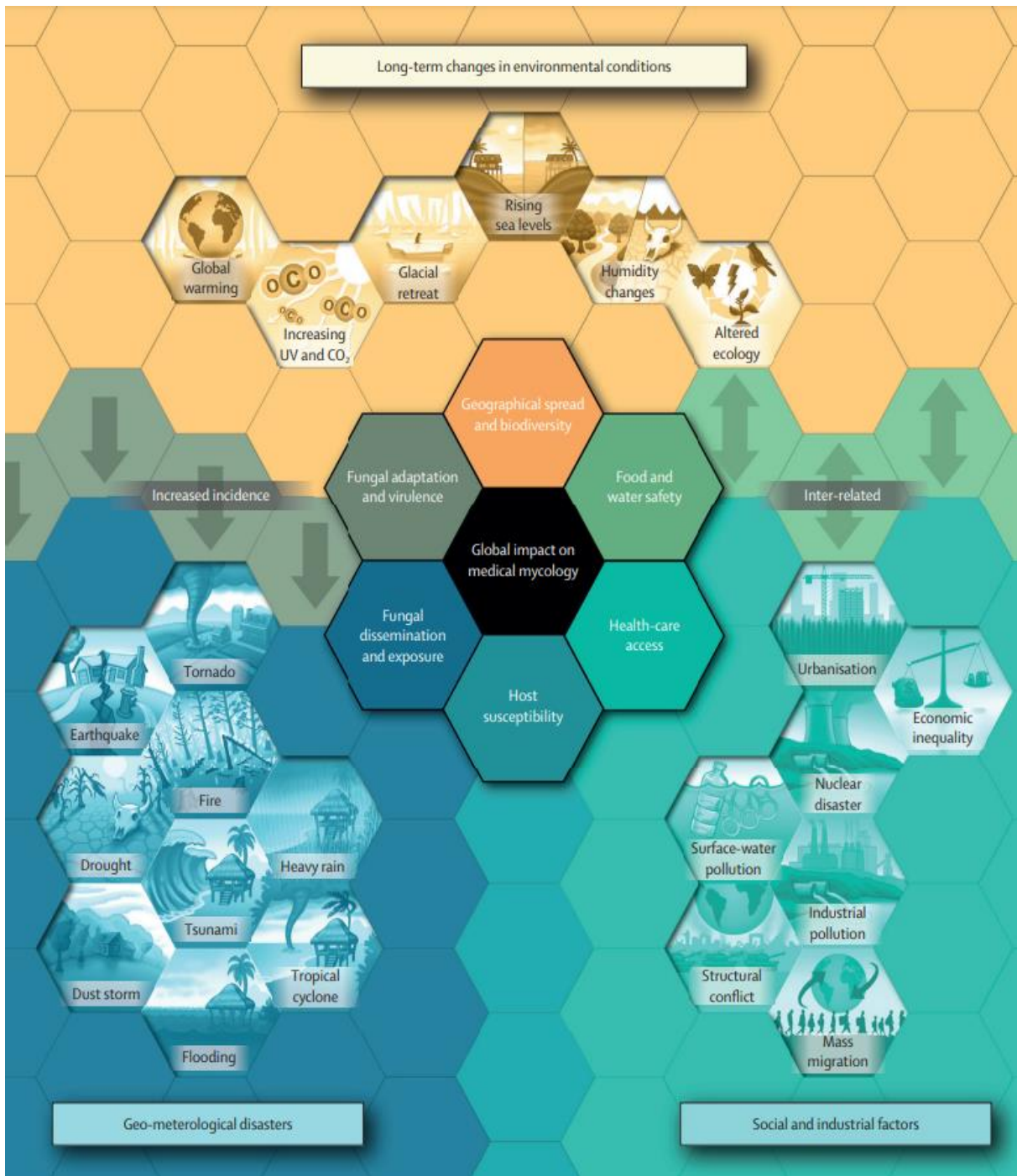
έστω και μία φορά στη ζωή του κυμαίνεται γύρω στο 25% (1). Κάποια είδη έχουν παγκόσμια κατανομή, όπως το *T. rubrum* το οποίο αποτελεί το κυρίαρχο δερματόφυτο παγκοσμίως, το *T. mentagrophytes*, το *M. canis* και το *E. floccosum*, ενώ κάποια είδη παρουσιάζουν μερικό γεωγραφικό περιορισμό, όπως το *T. violaceum* (Αφρική, Ασία, Ευρώπη)

Ένας σημαντικός παράγοντας για αυτές τις διακυμάνσεις είναι το κλίμα. Οι θερμές περιοχές με συνθήκες υψηλής υγρασίας μπορούν να παρέχουν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη και την εξάπλωση των δερματοφύτων (1), (21). Επιπλέον, ο υπερπληθυσμός και οι κακές πρακτικές υγιεινής που παρατηρούνται συχνά σε μη προνομιούχους πληθυσμούς μπορεί να αυξήσουν τον κίνδυνο λοιμώξεων από δερματόφυτα, οδηγώντας σε περισσότερα περιστατικά σε αυτές τις ομάδες. Τα επαγγέλματα και οι επιλογές του τρόπου ζωής διαδραματίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στην παγκόσμια επιδημιολογία αυτών των λοιμώξεων, με καταστάσεις που συνηθίζουν τη συχνή, στενή ατομική επαφή ή την κοινή χρήση επιφανειών που αγγίζονται συχνά, όπως σε αθλητικούς χώρους, να συμβάλλουν στη μετάδοση (22).

Τα τελευταία χρόνια, η αύξηση των παγκόσμιων ταξιδιών, της μετανάστευσης και του εμπορίου έχει διασυνδέσει τους πληθυσμούς, οδηγώντας σε αλλαγές στην επιδημιολογία των λοιμώξεων από δερματόφυτα. Τα ανθρωπόφιλα είδη διαδίδονται ευρέως λόγω αυτών των ανθρώπινων μετακινήσεων και των αλλαγών στις κοινωνικές και βιοτικές συνθήκες. Καθώς η παγκόσμια κοινωνία μας γίνεται πιο διασυνδεδεμένη, τα κάποτε «τοπικά» δερματόφυτα μπορεί ενδεχομένως να εμφανιστούν και σε άλλες περιοχές (23).

Οι οικονομικές ανισότητες συμβάλλουν επίσης στην εξάπλωση των δερματοφύτων, κάτι που μπορεί να παρατηρηθεί σε τοπική, αλλά και σε παγκόσμια κλίμακα. Οι φτωχές κοινότητες συχνά παλεύουν με τον υπερπληθυσμό και την έλλειψη πόρων για σωστές συνθήκες υγιεινής. Τα ποσοστά εμφάνισης είναι συνήθως υψηλότερα σε αυτές τις καταστάσεις, υπογραμμίζοντας τη σχέση μεταξύ κοινωνικοοικονομικών παραγόντων και της επικράτησης αυτών των λοιμώξεων. Η έλλειψη οικονομικών πόρων επίσης πολύ συχνά συνοδεύεται από ελλιπή ή ακόμα και μη υπαρκτά επιδημιολογικά δεδομένα, καθώς οι ασθενείς δεν έχουν την ικανότητα ή αγνοούν να εξεταστούν σε νοσοκομείο (19), (22).

Στην Ελλάδα, αλλά και στην Ευρώπη, η επιδημιολογία των δερματοφύτων έχει επηρεαστεί σημαντικά από τη μετανάστευση. Η χώρα μας έχει βιώσει δύο σημαντικά κύματα μετανάστευσης τα τελευταία χρόνια. Το πρώτο σημειώθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990 μετά την κατάρρευση των κομμουνιστικών καθεστώτων στην Ανατολική Ευρώπη και τα Βαλκάνια. Το δεύτερο κύμα, που συνεχίζεται από το 2015, αφορά την εισροή μεγάλου αριθμού ανθρώπων από τη Μέση Ανατολή, την Ασία και την Αφρική. Αυτοί οι μεταναστευτικοί πληθυσμοί έχουν διαφορετικό κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο και μεταφέρουν διάφορες μολυσματικές ασθένειες, επηρεάζοντας τα επιδημιολογικά πρότυπα των δερματικών ασθενειών στην Ελλάδα. Ενώ το πρώτο κύμα έχει μελετηθεί, το δεύτερο ακόμα ερευνάται και εμφανίζει νέα δεδομένα μέχρι και σήμερα (24). Σε συνδυασμό με το ξέσπασμα της οικονομικής κρίσης, αλλά και του παγκόσμιου εγκλεισμού μετά την εμφάνιση της COVID-19, τα ελληνικά νοσοκομεία τίθενται αντιμέτωπα με «νέα» προφίλ ασθενών σε σχέση με το παρελθόν.



Εικόνα 7. Επιδράσεις της κλιματικής αλλαγής και διαφόρων κοινωνικοοικονομικών παραμέτρων στην επίπτωση των μυκητικών λοιμώξεων (20).

1.5 Εργαστηριακή διάγνωση

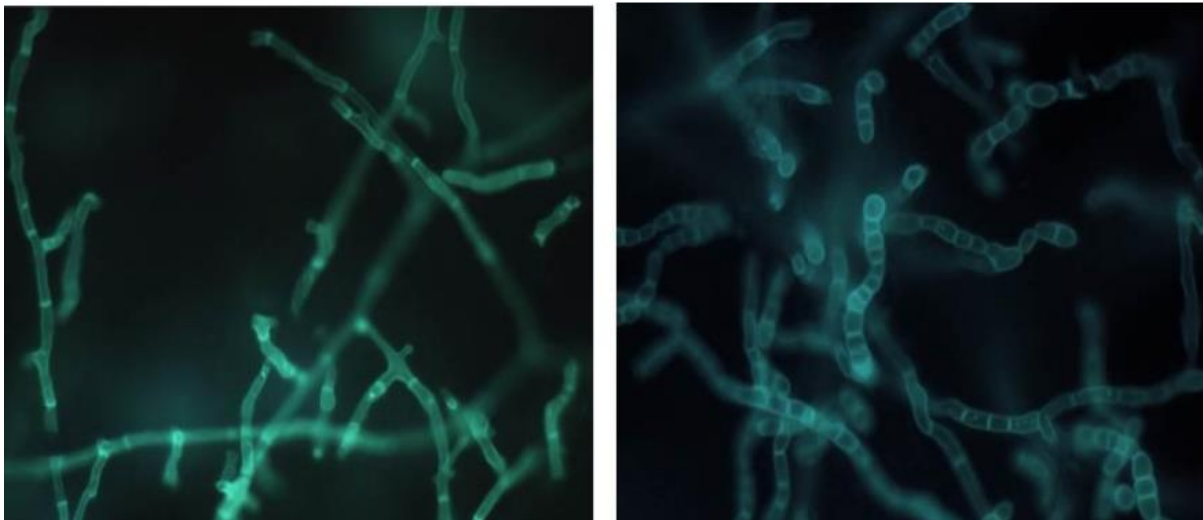
Η συμβατική εργαστηριακή διάγνωση των δερματοφυτιών είναι γενικά μια χρονοβόρα διαδικασία που μπορεί να διαρκέσει έως και τέσσερις εβδομάδες. Η ταυτοποίηση του παθογόνου παίζει καθοριστικό ρόλο στην επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας, γι' αυτό είναι απαραίτητο να γίνει σωστή συλλογή, επεξεργασία και παρατήρηση του δείγματος. Κατάλληλα δείγματα για την εργαστηριακή διάγνωση είναι τα νύχια, οι τρίχες και τα δερματικά ξέσματα, στα οποία αναπτύσσονται τα δερματόφυτα. Η διάγνωση της λοίμωξης μπορεί να τεθεί και κλινικά από το θεράποντα ιατρό και να δοθεί θεραπεία εμπειρικά.

➤ Συλλογή του δείγματος

Πριν τη δειγματοληψία, η περιοχή από την οποία θα γίνει η λήψη καθαρίζεται κατάλληλα. Είναι σημαντικό να μην έχει ληφθεί ή εφαρμοστεί τοπικά κάποιο αντιμικροβιακό φάρμακο για τουλάχιστον ένα μήνα, ώστε να αποφευχθούν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα της καλλιέργειας. Το δείγμα λαμβάνεται από σημείο στο οποίο υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα να βρεθεί μύκητας. Συγκεκριμένα, ξέσματα δέρματος λαμβάνονται από τις παρυφές της αλλοίωσης όπου η συγκέντρωση των ενεργών στοιχείων του μύκητα είναι μεγαλύτερη, τα νύχια ανάλογα με το είδος της ονυχομυκητίασης συλλέγονται από το βαθύτερο σημείο της κοίτης του όνυχα, την ονυχιαία πτυχή, την εγγύς περιοχή της ονυχιαίας πλάκας ή την επιφάνεια της, ενώ στην περίπτωση που η λοίμωξη αφορά το τριχωτό της κεφαλής, συλλέγεται δείγμα ρίζας μαζί με το θύλακα (25).

➤ **Μικροσκόπηση άμεσου παρασκευάσματος**

Ένα δείγμα μπορεί να παρατηρηθεί γρήγορα, χωρίς ειδική επεξεργασία, με άμεση μικροσκόπηση. Το νωπό παρασκεύασμα παρασκευάζεται με προσθήκη διαλύματος καυστικού καλίου (ΚΟΗ) 10%-20%, το οποίο προκαλεί πέψη της κερατίνης αφήνοντας ανέπαφο το μύκητα. Ακόμα, μπορεί να είναι κεχρωσμένο με κατάλληλη χρώση, όπως μπλε της λακτοφαινόλης που στοχεύει τη χιτίνη του κυτταρικού τοιχώματος. Η παρατήρηση του άμεσου παρασκευάσματος πραγματοποιείται σε οπτικό μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου (αντικειμενικός φακός x40). Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί φθορίζουσα χρωστική, όπως είναι η Calcofluor White και η Blankorhor, και το παρασκεύασμα να μικροσκοπηθεί με μικροσκόπιο φθορισμού αυξάνοντας την ευαισθησία της μεθόδου. Σε περίπτωση υποψίας λοίμωξης από δερματόφυτο, κατά την άμεση μικροσκόπηση αναζητούνται υφές και αρθροκονίδια του παθογόνου (26).



Εικόνα 8. Άμεση μικροσκοπική εξέταση ξεσμάτων όνυχος μετά την κατεργασία τους με διάλυμα χρωστικής Blankorhor P (ΚΟΗ 20%). Στις καλλιέργειες των δειγμάτων απομονώθηκαν

Trichophyton spp. (εικόνες από τη συλλογή του Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»).

➤ Καλλιέργεια και ταυτοποίηση

Η καλλιέργεια αποτελεί την κύρια εργαστηριακή μέθοδο για τη διάγνωση (25). Το δείγμα ενοφθαλμίζεται σε θρεπτικά υλικά, εκλεκτικά και μη εκλεκτικά αλλά πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, που θα βοηθήσουν στην ανάπτυξη του μύκητα. Για την καλλιέργεια των δερματοφύτων τα πιο γνωστά θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται είναι το άγαρ δεξτρόζης Sabouraud με ή χωρίς αντιβιοτικά και το άγαρ δερματοφύτων (dermatophyte test medium, DTM). Ειδικότερα, το DTM είναι ένα εκλεκτικό, στερεό θρεπτικό υλικό, ειδικό για τη διάκριση ενός δερματόφυτου από ένα σαπροφυτικό μύκητα, το οποίο περιέχει αντιβιοτικά (χλωραμφενικόλη και κυκλοεξιμίδη) και ως δείκτη αλλαγής του pH το ερυθρό της φαινόλης. Το χαρακτηριστικό αυτού του υλικού είναι η αλλαγή χρώματος από κίτρινο σε ερυθρό, που παρατηρείται κατά την ανάπτυξη ενός δερματόφυτου. Τα δερματόφυτα, χρησιμοποιούν αζωτούχες ενώσεις για το μεταβολισμό τους παράγοντας αλκαλικά υποπροϊόντα, τα οποία είναι αυτά που προκαλούν την αλλαγή του χρώματος του υλικού (27).

Μετά τον ενοφθαλμισμό του δείγματος, τα τρυβλία τοποθετούνται σε κλίβανο σε ανεστραμμένη θέση και επωάζονται στους $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Οι καλλιέργειες θα πρέπει να παρακολουθούνται συχνά για έως και 4 εβδομάδες, καθώς ορισμένα είδη αναπτύσσονται πολύ αργά (26).

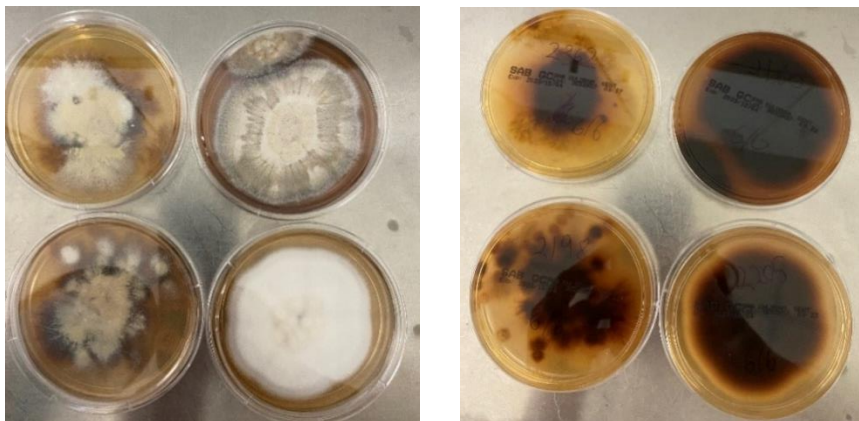


Εικόνα 9. Αλλαγή του χρώματος του DTM από κίτρινο σε ερυθρό κατόπιν της ανάπτυξης *Trichophyton* spp. στο μεσαίο και το δεξί φιαλίδιο. Μη ενοφθαλμισμένο φιαλίδιο στα αριστερά (28).

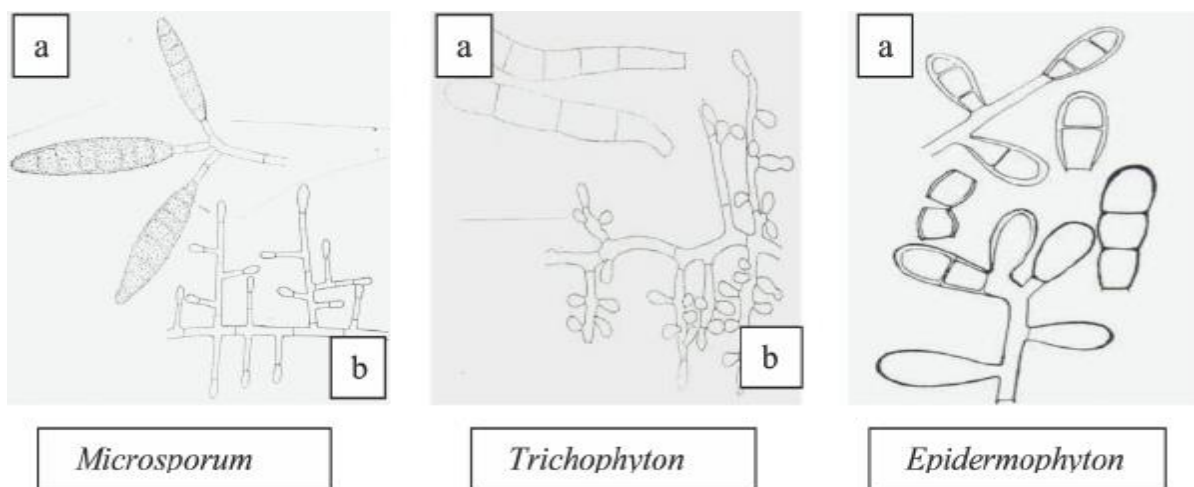
Η ταυτοποίηση των δερματοφύτων στηρίζεται τόσο στη λεπτομερή μακροσκοπική παρατήρηση της μορφολογίας ώριμων αποικιών, όσο και στα μικροσκοπικά τους χαρακτηριστικά (παρουσία και μορφολογία υφών, μακροκονιδίων, μικροκονιδίων). Ο συγκεκριμένος όμως τρόπος ταυτοποίησης απαιτεί μακροχρόνια εκπαίδευση και εξειδίκευση.

Τα είδη του γένους *Trichophyton* χαρακτηρίζονται από την παρουσία σπειροειδών υφών, μικροκονιδίων και μακροκονιδίων κυλινδρικού σχήματος, με εγκάρσια διαφραγμάτια και λεπτό κυτταρικό τοίχωμα. Από την άλλη πλευρά, τα είδη του γένους *Microsporum* και του γένους *Nannizzia* χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μακροκονιδίων ατρακτοειδούς σχήματος, με πολλά εγκάρσια διαφραγμάτια και τραχύ, παχύ κυτταρικό τοίχωμα, καθώς και μικρού αριθμού μικροκονιδίων. Τέλος, τα δερματόφυτα του γένους *Epidermophyton* έχουν άφθονα

χαρακτηριστικά μακροκονίδια κορνοειδούς σχήματος, με λείο, λεπτό κυτταρικό τοίχωμα και καθόλου μικροκονίδια. (29)



Εικόνα 10. Μακροσκοπική μορφολογία αποικιών *Trichophyton* spp. σε τρυβλία άγαρ γλυκόζης Sabouraud με χλωραμφενικόλη και γενταμικίνη (Sabouraud glucose agar with chloramphenicol and gentamicin, SCG) (πρόσθια [αριστερά] και οπίσθια [δεξιά] επιφάνεια, εικόνες από τη συλλογή του Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»).



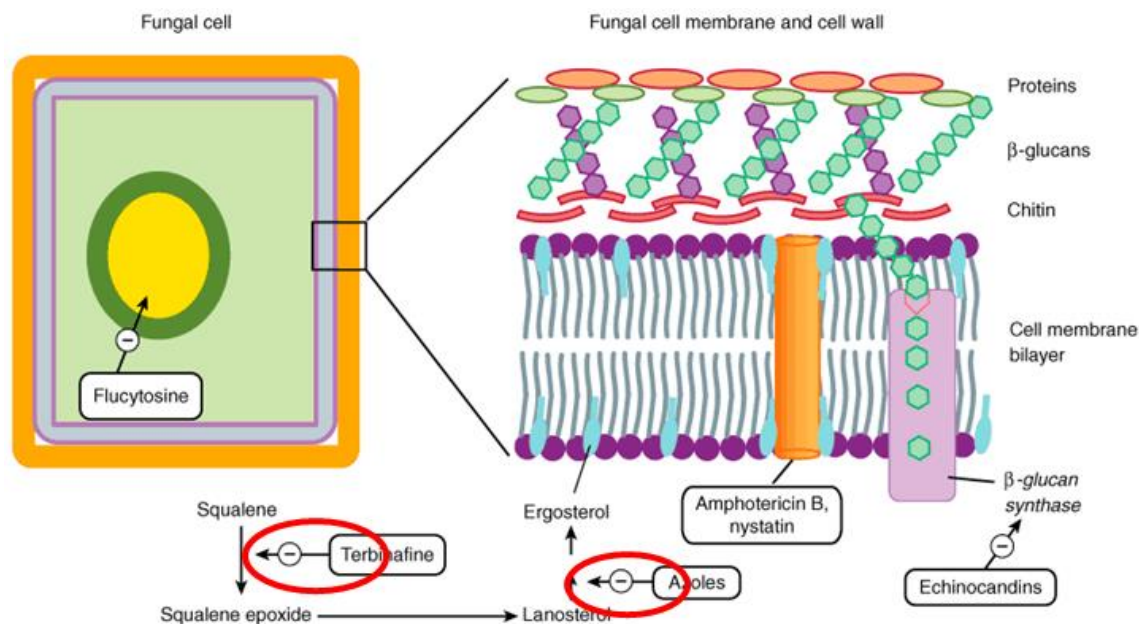
Εικόνα 11. Μορφολογία α) μικροκονιδίων και β) μακροκονιδίων ειδών του γένους *Microsporium*, *Trichophyton* και *Epidermophyton* (30).

Η οριστική επιβεβαίωση της ταυτοποίησης ενός δερματοφύτου γίνεται κυρίως με αλληλούχιση της εσωτερικής μεταγραφόμενης διαχωριστικής (internal transcribed spacer, ITS) περιοχής του πυρηνικού rDNA (ITS1-5.8S-ITS2) (25). Η πιο γνωστή και ευρέως διαδεδομένη μοριακή τεχνική που χρησιμοποιείται είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) και διάφορες παραλλαγές της. Αν και χρήσιμα εργαλεία με υψηλά ποσοστά ευαισθησίας και ειδικότητας, δεν εφαρμόζονται στην καθ' ημέρα εργαστηριακή πράξη, εξαιτίας των ειδικών χειρισμών, ακριβών αναλώσιμων και εξοπλισμού, καθώς και εξειδικευμένου προσωπικού που απαιτούν (27), (31).

1.6 Θεραπεία

Η θεραπεία των δερματοφυτιών αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά στάδια αντιμετώπισής τους. Η χορήγηση του κατάλληλου αντιμυκητικού παράγοντα θα καθορίσει σε μεγάλο βαθμό την έκβαση της νόσου και θα αποτρέψει την ανάπτυξη αντοχής στο χορηγούμενο φάρμακο. Τις περισσότερες φορές οι δερματοφυτίες θεραπεύονται εμπειρικά από τον ιατρό, χωρίς την αξιολόγηση εργαστηριακών αποτελεσμάτων. Σε περίπτωση που δεν παρατηρηθεί κάποια αλλαγή στην κλινική εικόνα του ασθενούς, χορηγείται διαφορετική αντιμυκητική αγωγή. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα δερματοφύτα με τα χρόνια να αναπτύσσουν αντοχή σε ορισμένα φάρμακα και η θεραπεία τους να καθίσταται ολοένα και πιο δύσκολη. (32), (33). Χαρακτηριστική και άκρως ανησυχητική είναι η καταγραφή σε παγκόσμια κλίμακα στελεχών *T. indotineae* ανθεκτικά στην τερμπιναφίνη (34), (35), (36), (37).

Η θεραπεία που θα επιλεγεί, όπως και η διάρκεια της, καθορίζεται από το είδος του παθογόνου και από τη θέση της λοίμωξης. Μπορεί να είναι τοπική, που χορηγείται με τη μορφή κρέμας, γέλης ή σπρέι, ή συστηματική, η οποία χορηγείται δια του στόματος ή ενδοφλεβίως με στόχο την αντιμετώπιση λοιμώξεων που δεν αντιμετωπίζονται τοπικά. Οι κατεξοχήν αντιμυκητικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται ανήκουν σε δύο κατηγορίες φαρμάκων που στοχεύουν στην εργοστερόλη της κυτταρικής μεμβράνης των μυκήτων, στις αζόλες και στις αλλυλαμίνες. Ειδικότερα, οι αζόλες στοχεύουν στην αναστολή της 14-α-διμεθυλάσης και της τελικής σύνθεσης της εργοστερόλης (38), ενώ οι αλλυλαμίνες αναστέλλουν την εποξειδάση του σκουαλενίου (squalene epoxidase, SQLE), ένζυμο απαραίτητο για το σχηματισμό της εργοστερόλης (39). Κύριοι εκπρόσωποι αυτών των ομάδων στη θεραπεία των δερματοφυτιών είναι η ιτρακοναζόλη, η βορικοναζόλη και η τερμπιναφίνη, ενώ μπορεί να χορηγηθούν ακόμα η αμφοτερικίνη Β, η αμορολοφίνη και η γκριζεοφουλβίνη. Έχει παρατηρηθεί ότι η τερμπιναφίνη και η ιτρακοναζόλη συνδέονται καλύτερα στην κερατίνη σε σχέση με τα υπόλοιπα φάρμακα, και γι' αυτό το λόγο επιλέγονται ως θεραπεία πρώτης γραμμής για την αντιμετώπιση δερματοφυτιών (40), (41).



Εικόνα 12. Σχηματική αναπαράσταση της σύστασης της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων, καθώς και των στόχων των αντιμυκητικών φαρμάκων (42).

	First line	Alternative
Tinea pedis (dry type)	Terbinafine 250 mg/day for 2 weeks Itraconazole 200–400 mg/day for 1 week	Fluconazole 6 mg/kg/week for 4–6 weeks
Tinea corporis (extensive)	Terbinafine 250 mg/day for 1 week Itraconazole 200 mg/day for 1 week	Fluconazole 150–200 mg/week for 2–4 weeks
Onychomycosis due to dermatophytes *	Terbinafine 250 mg/day for 12 weeks (toe nails) or 6 weeks (fingernails) Itraconazole 200 mg bid for 1 week/month for 3 months (toe nails) or 2 months (finger nails)	Fluconazole 150–200 mg/week for 6–9 months (toe nails) or 3–4 months (finger nails)
Tinea capitis (children)	Terbinafine 125 mg (<25 kg), 187.5 mg (25–35 kg) or 250 mg (>35 kg) daily for 3–4 weeks Mainly <i>Trichophyton</i> infections Griseofulvin 10–15 mg/kg/day for 6–8 weeks Mainly <i>Microsporum</i> infections	Itraconazole 5 mg/kg/day (maximum 500 mg) × 4–8 weeks

* In extensive infections, including those involving the nail matrix combination with an oral and topical antifungal, e.g., amorolfine or ciclopirox, is useful. This may have to be combined with surgical removal e.g., after 40% urea or laser ablation—but there are few clinical trials.

Εικόνα 13. Προτεινόμενα σχήματα συστηματικής θεραπείας δερματοφυτιών (43).

Οι δερματοφυτίες είναι απαραίτητο να θεραπεύονται, καθώς τα ανθρωπόφιλα είδη μολύνουν ανθρώπους που έρχονται σε επαφή με τον ασθενή, κάνοντας την αντιμετώπισή τους πιο σύνθετη. Μερικές μορφές τους αυτοϊώνται, όμως κάποιες τείνουν να χρονίζουν και να παραμένουν επ' αόριστον (44). Μορφές που μολύνουν τις τρίχες, είναι υπεύθυνες για μη αντιστρεπτή καταστροφή των τριχών και αλωπεκία (45). Ακόμα, προκαλούν λύση της συνέχειας του δέρματος, η οποία μπορεί να συνδέεται με σοβαρές βακτηριακές λοιμώξεις, όπως ο ερυσίπελας (44).

1.7 Αντοχή στα αντιμυκητικά

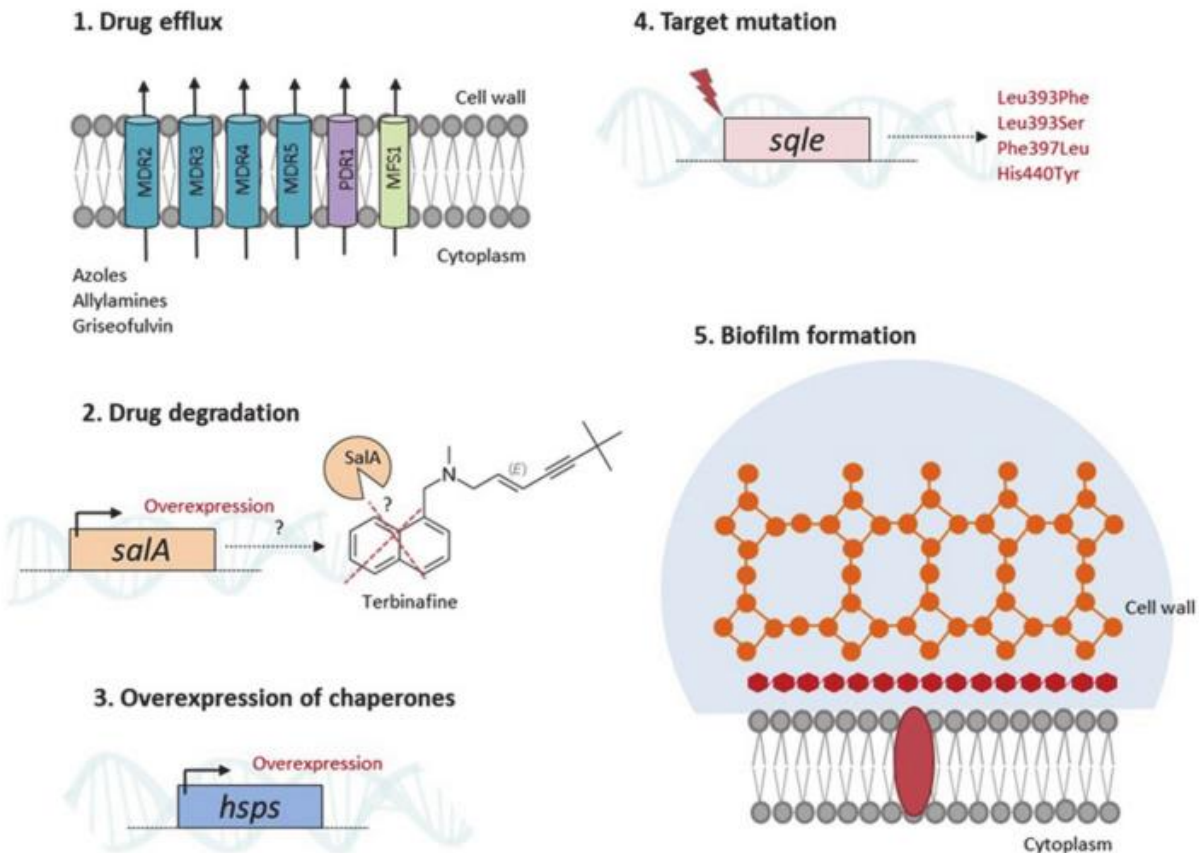
Η αντοχή στα αντιμυκητικά φάρμακα άρχισε να αναπτύσσεται σταδιακά και τα τελευταία χρόνια κατέληξε να αποτελεί ένα φλέγον θέμα σε παγκόσμια κλίμακα, καθώς επηρεάζει σημαντικά τη θεραπευτική αντιμετώπιση των δερματοφυτιών. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα διαθέσιμα επιδημιολογικά δεδομένα είναι περιορισμένα, ιδίως σχετικά με την επικράτηση του φαινομένου στην Ελλάδα (46).

Η αντοχή διακρίνεται σε δύο είδη, την κλινική και τη μικροβιολογική. Η κλινική αντοχή σχετίζεται με την αποτυχία της θεραπείας που χορηγήθηκε και μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως στη σοβαρότητα και στη θέση της λοίμωξης, στα επίπεδα του φαρμάκου και στη μη συμμόρφωση του ασθενούς στην αγωγή. Η μικροβιολογική αντοχή σχετίζεται με τον ίδιο τον μικροοργανισμό και αποδίδεται στην αδυναμία του αντιμυκητικού

φαρμάκου να αναστείλει την ανάπτυξή του. Στην προκειμένη περίπτωση, υπάρχει έλλειψη της ακριβούς συσχέτισης μεταξύ των *in vitro* δοκιμασιών με τα *in vivo* αποτελέσματα (47), (48).

Δεδομένου ότι η περιγραφή της ανάπτυξης αντοχής στα δερματόφυτα είναι σχετικά πρόσφατη, η προέλευση της παραμένει μέχρι στιγμής ως ένα βαθμό ασαφής. Ωστόσο, ορισμένα αντιμυκητικά υπάρχουν ελεύθερα στο εμπόριο και κάποιος μπορεί να τα προμηθευτεί χωρίς ιατρική συνταγή. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αλόγιστη χρήση τους και κατ' επέκταση την ανάπτυξη αντοχής (49), (50). Ένας άλλος τρόπος ανάπτυξης αντοχής είναι ο συνδυασμός τους με στεροειδή φάρμακα (51), (52), μιας και η ταυτόχρονη λήψη τους με αντιμυκητικά έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηριότητας των τελευταίων.

Η αναγνώριση και η κατανόηση των μηχανισμών που προάγουν την εμφάνιση αντοχής στα δερματόφυτα αποτελεί ένα νέο πεδίο εντατικής έρευνας. Μέχρι στιγμής, η αντοχή έχει αποδοθεί κατά κύριο λόγο σε μη συνώνυμες σημειακές μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί την SQLE. Εναλλακτικά, σε περιπτώσεις που δεν μπορούσε να εξηγηθεί από την παρουσία οποιασδήποτε μετάλλαξης, ως μηχανισμός αντοχής προτάθηκε ο πολλαπλασιασμός του γονιδίου της σαλικυλικής μονοοξυγενάσης και η υπερέκφραση γονιδίων. Τα δερματόφυτα παράγουν επίσης βιοϋμένια στον ιστό του ξενιστή που μπορεί να ευθύνονται για την κλινική αντοχή, την αποτυχία της θεραπείας και την εμφάνιση εμμένουσας λοίμωξης (49).



Εικόνα 14. Μηχανισμοί που προάγουν την εμφάνιση αντοχής στα δερματόφυτα (49).

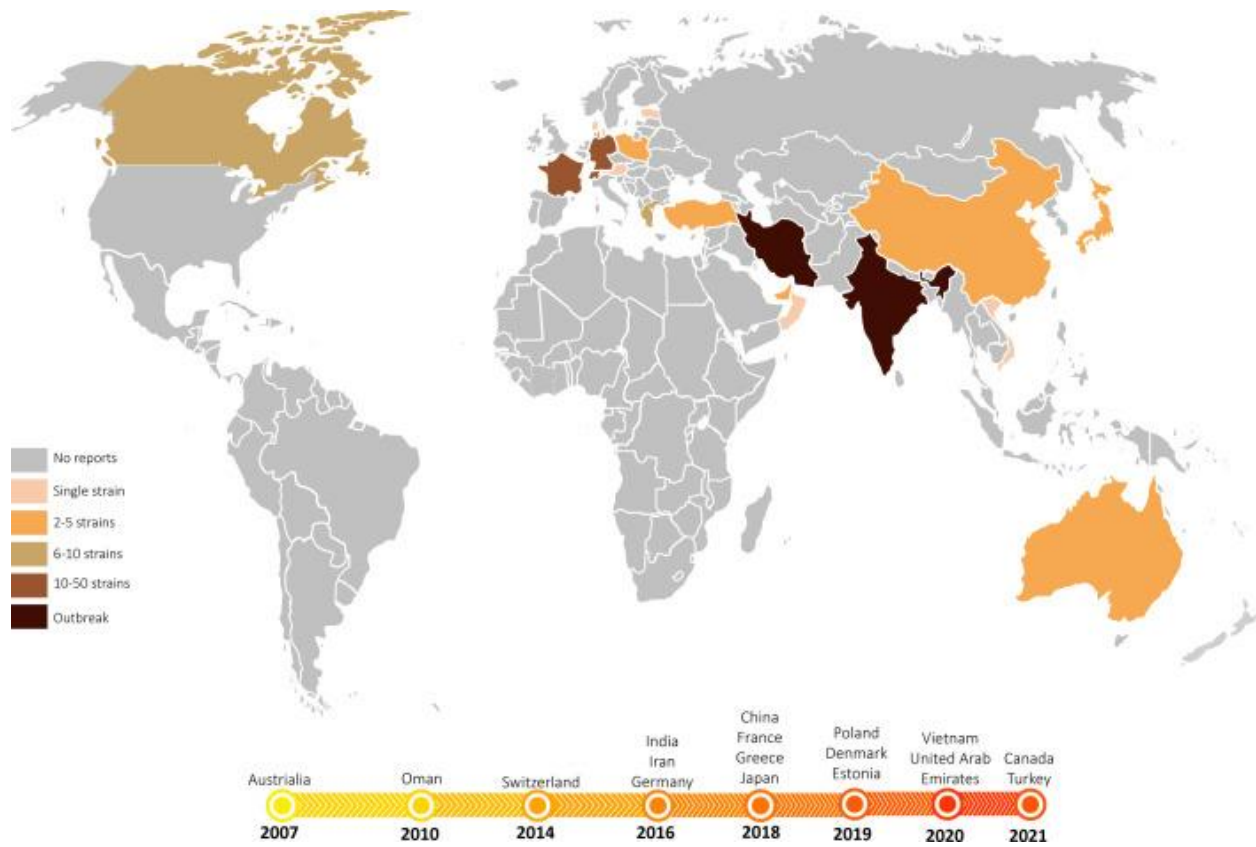
Αντοχή στην τερπιναφίνη

Το πρώτο περιστατικό ανθεκτικής στην τερπιναφίνη δερματοφυτίας (ονυχομυκητίαση από *T. rubrum*) περιγράφηκε το 2003 από τους Mukherjee *et al.* (53). Τα επόμενα χρόνια ακολούθησαν κι άλλες καταγραφές στελεχών *T. rubrum* και *T. interdigitale* ανθεκτικών στην τερπιναφίνη, αν και αριθμητικά περιορισμένων (46).

Στις αρχές του 2018 περιγράφονται για πρώτη φορά στην Ινδία κλινικά στελέχη του συμπλέγματος *T. indotineae* ανθεκτικά στην τερπιναφίνη με ποσοστό απομόνωσης της τάξης

του 32% (54). Ακολουθεί ένα πλήθος αναφορών και πολυκεντρικών μελετών σχετικά με χρόνιες υποτροπιάζουσες δερματοφυτίες ψιλού δέρματος και μηροβουβωνικών πτυχών από τέτοια στελέχη. Το φαινόμενο φαίνεται πλέον να έχει πάρει διαστάσεις επιδημίας και να χαρακτηρίζεται ως το ινδικό τέρας του Φρανκενστάιν (55) ή η κορυφή του παγόβουνου (35), ενώ αποδίδεται κυρίως στην ευρεία διαθεσιμότητα και αλόγιστη χρήση μη συνταγογραφούμενων τοπικών στεροειδών που παράγονται στη χώρα και συχνά περιέχουν πολλαπλά αντιμυκητικά (55), (56).

Μπορεί η επιδημία αυτή να ξεκίνησε με επίκεντρο την Ινδία, ωστόσο έχει πλέον πάρει σε σύντομο χρονικό διάστημα παγκόσμιες διαστάσεις στο πλαίσιο της παγκοσμιοποίησης με την αυξανόμενη μετανάστευση, το εμπόριο και τα ταξίδια (57). Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της Γερμανίας όπου τα έτη 2018-2020 υπήρξε σημαντική αύξηση της συχνότητας απομόνωσης ανθεκτικών στην τερμπιναφίνη στελεχών *T. indotineae* από Γερμανούς ασθενείς και μάλιστα αναφέρθηκε πως στο χρονικό αυτό διάστημα απομονωνόταν ένα τέτοιο στέλεχος περίπου κάθε δύο με τρεις εβδομάδες (35).



Εικόνα 15. Η εμφάνιση και η παγκόσμια εξάπλωση του *T. indotinea* (57).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Η αυξημένη συχνότητα εμφάνισης των δερματοφυτιών, σε συνδυασμό με την αναδυόμενη αντοχή των αιτιολογικών τους παραγόντων στις θεραπείες εκλογής, κρούει τον κώδωνα του κινδύνου. Η παρούσα εργασία επιδιώκει αφενός να περιγράψει τη σύγχρονη επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα και αφετέρου να αναλύσει τις τάσεις στην αντοχή των παθογόνων στα διαθέσιμα για την αντιμετώπιση της νόσου αντιμυκητικά φάρμακα. Τα αποτελέσματά της αναμένεται να συμβάλλουν στη βελτίωση της διαχείρισης των λοιμώξεων από δερματόφυτα και στη βαθύτερη κατανόηση της πολυπλοκότητας και της εμμένουσας φύσης αυτών.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας σχετικά με την επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα. Συγκεκριμένα, αναζητήθηκαν σχετικές δημοσιεύσεις στην ελεύθερη ηλεκτρονική βάση βιοϊατρικών δεδομένων PubMed, χρησιμοποιώντας τις λέξεις-κλειδιά “dermatophytes”, “dermatophytosis”, “onychomycosis” και “tinea” σε συνδυασμό με “Greece” και/ή “Greek”. Επιπλέον, ελέγχθηκαν και μελέτες από τις βιβλιογραφικές αναφορές των άρθρων που ανακτήθηκαν. Αξιολογήθηκαν άρθρα γραμμένα μόνο στην αγγλική γλώσσα, χωρίς περιορισμό ως προς τη χρονιά που δημοσιεύτηκαν. Από αυτά, συλλέχθηκαν τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με το χρόνο και τον τόπο διενέργειας της μελέτης, τον υπό εξέταση πληθυσμό της, τη συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης, την κατανομή των δερματοφύτων και την *in vitro* ευαισθησία τους στα αντιμυκητικά.

2.2 Πληθυσμός της παρούσας μελέτης και κλινικά δείγματα

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, καταγράφηκαν τα μικροβιολογικά τεκμηριωμένα περιστατικά δερματοφυτίας σε άτομα με κλινική υποψία της νόσου (ιστορικό ασθενούς, χαρακτηριστική μορφολογία της αλλοίωσης και συμπτωματολογία), τα οποία επισκέφτηκαν τα εξωτερικά ιατρεία της Β' Κλινικής Δερματικών και Αφροδισίων Νόσων του Πανεπιστημιακού γενικού νοσοκομείου «Αττικών» κατά την τριετία 2020-2022. Για τα έτη 2009-2019

χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από προηγούμενη επιδημιολογική μελέτη που είχε πραγματοποιηθεί στο νοσοκομείο (58), (46).

Κλινικά δείγματα (ξέσματα δέρματος, ρινίσματα ούχων και τρίχες) είχαν αποσταλεί στο Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας του νοσοκομείου για άμεση μικροσκόπηση και καλλιέργεια για μύκητες προκειμένου να τεκμηριωθεί η διάγνωση. Συγκεκριμένα, τα δείγματα μετά τη συλλογή τους κατεργάστηκαν με διάλυμα χρωστικής Blankophor P (Sigma-Aldrich, Ελλάδα) σε ΚΟΗ 20% (Applichem, Ελλάδα). Στη συνέχεια, το νωπό παρασκεύασμα εξετάστηκε με τη χρήση μικροσκοπίου φθορισμού (Nikon Eclipse E600) προς αναζήτηση μυκητικών στοιχείων, τα οποία ξεχωρίζουν εξαιτίας της απεικόνισής τους με έντονο πράσινο χρώμα. Επίσης, τα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν υπό άσηπτες συνθήκες σε τρυβλία SCG (Oxoid, Ελλάδα) και σε τρυβλία DTM (bioMérieux, Ελλάδα). Ακολούθησε η επώασή τους στους 30°C για έως και τέσσερις εβδομάδες. Ο προσδιορισμός του γένους και του είδους των απομονωθέντων δερματοφύτων έλαβε χώρα με συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους λαμβάνοντας υπόψη τα μακροσκοπικά και τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των αποικιών τους, ενώ όπου κρίθηκε απαραίτητο πραγματοποιήθηκαν και επιπλέον δοκιμασίες όπως, η υδρόλυση της ουρίας, η *in vitro* διείσδυση του μύκητα σε τρίχα, η ανάπτυξη σε ειδικά καλλιεργητικά μέσα και ο έλεγχος της μέγιστης θερμοκρασίας ανάπτυξης (26).

Τα απομονωθέντα στελέχη στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -70°C σε στείρο διάλυμα γλυκερόλης 10% (Applichem, Ελλάδα) για μεταγενέστερη χρήση. Πριν τον εκάστοτε έλεγχο, ανακαλλιεργήθηκαν σε SCG στους 30°C για έως και δύο εβδομάδες.

2.3 Μοριακή ταυτοποίηση *Trichophyton spp.*

➤ Απομόνωση γενετικού υλικού

Η απομόνωση του γενετικού υλικού αποτελεί το πρώτο βήμα για τη μελέτη ενός τμήματος DNA-στόχου. Η απομόνωση γονιδιωματικού DNA έλαβε χώρα με τη μέθοδο στηλών διαχωρισμού ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή (QIAamp® DNA Mini Kit, Qiagen, Ελλάδα) (59) με κάποιες τροποποιήσεις (ενζυμική, αλλά και μηχανική επεξεργασία του εκάστοτε δείγματος). Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν τα κάτωθι βήματα:

1) Σε σωληνάριο που περιείχε γυάλινα σφαιρίδια προστέθηκαν 200 μL πυκνού υδατικού εναιωρήματος κονιδίων του υπό εξέταση στελέχους, 20 μL πρωτεΐνης K και 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος λύσης. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 sec και επώαση στους 56°C για 10 min (ενζυμική λύση). Ακολούθησε παλμική ανάδευση στον αναδευτήρα για 10 min (μηχανική λύση), προσθήκη 200 μL καθαρής αιθανόλης και εκ νέου παλμική ανάδευση για 15 sec.

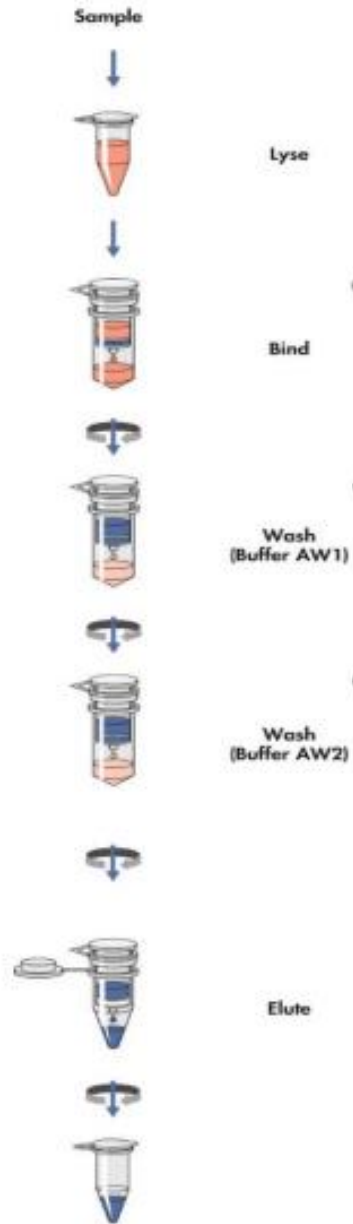
2) Μεταφέρθηκαν 620 μL του κυτταρολύματος σε στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini που είχε τοποθετηθεί σε σωληνάριο συλλογής και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση (6.000 x g, 1 min).

3) Η στήλη προσαρμόστηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, προστέθηκαν σε αυτή 500 μL ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 και ακολούθησε φυγοκέντρηση (6.000 x g, 1 min).

4) Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, προστέθηκαν σε αυτή 500 μL ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στη μέγιστη

ταχύτητα (~20.000 x g, 3 min) δύο φορές, ώστε να στεγνώσει πλήρως η μεμβράνη της στην οποία βρίσκεται δεσμευμένο το DNA.

5) Η στήλη προσαρμόστηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής και προστέθηκαν 200 μ L ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης στο κέντρο της μεμβράνης της. Μετά από επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min, ακολούθησε φυγοκέντρηση (6.000 x g, 1 min) προκειμένου να ολοκληρωθεί η ανάκτηση του γενετικού υλικού. Στο σημείο αυτό, το σωληνάριο συλλογής περιείχε το απομονωμένο DNA του υπό μελέτη στελέχους, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 4°C για άμεση χρήση.

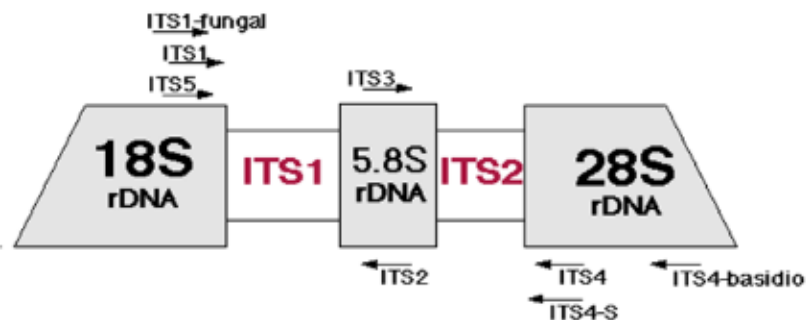


Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την απομόνωση DNA με στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini (59).

➤ **Πολλαπλασιασμός γενετικού υλικού με συμβατική PCR**

Η PCR χρησιμοποιείται για τον πολλαπλασιασμό ενός τμήματος DNA-στόχου γνωστής αλληλουχίας βάσεων, με τη βοήθεια ενός ειδικού για την περιοχή ζεύγους εκκινητών και τη χρήση θερμικών κυκλοποιητών. Κάθε κύκλος PCR περιλαμβάνει κατά σειρά τρία στάδια: της αποδιάταξης του DNA, της σύνδεσης των εκκινητών και της επιμήκυνσής τους.

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2 του πυρηνικού rDNA (ζεύγος εκκινητών ITS1/ITS4) (60), η οποία χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση μυκήτων και μπορεί να διακρίνει τουλάχιστον σε επίπεδο γένους και σε πολλές περιπτώσεις σε επίπεδο είδους.



Εικόνα 17. ITS περιοχή του πυρηνικού rDNA.

Οι αλληλουχίες των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν, οι ποσότητες των αντιδραστηρίων και το πρόγραμμα της αντίδρασης PCR παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 1. Συστατικά της αντίδρασης PCR και απαιτούμενοι όγκοι τους για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2 (60).

Συστατικό	Ποσότητα (μL)
Ρυθμιστικό διάλυμα 10x που περιέχει 15 mM MgCl ₂	5
Εκκινητής ITS1 10 μM*	2,5
Εκκινητής ITS4 10 μM*	2,5
DNA πολυμεράση 5 U/μL	0,5
Μείγμα dNTPs 1,25 mM	8
Νερό	26,5
DNA-μήτρα	5

*ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')
ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')

Πίνακας 2. Πρόγραμμα της αντίδρασης PCR για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2 (60).

Πρόγραμμα ενίσχυσης
Αρχική αποδιάταξη: 94°C για 5 min
35 κύκλοι ενίσχυσης: 94°C για 30 sec, 56°C* για 45 sec, 72°C για 2 min
Φάση επιπλέον επιμήκυνσης: 72°C για 5 min

➤ Καθαρισμός PCR προϊόντων

Ο καθαρισμός των PCR προϊόντων από υποπροϊόντα και κατάλοιπα της αντίδρασης πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμη δοκιμασία ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή (NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up, Macherey-Nagel, Ελλάδα) (61).

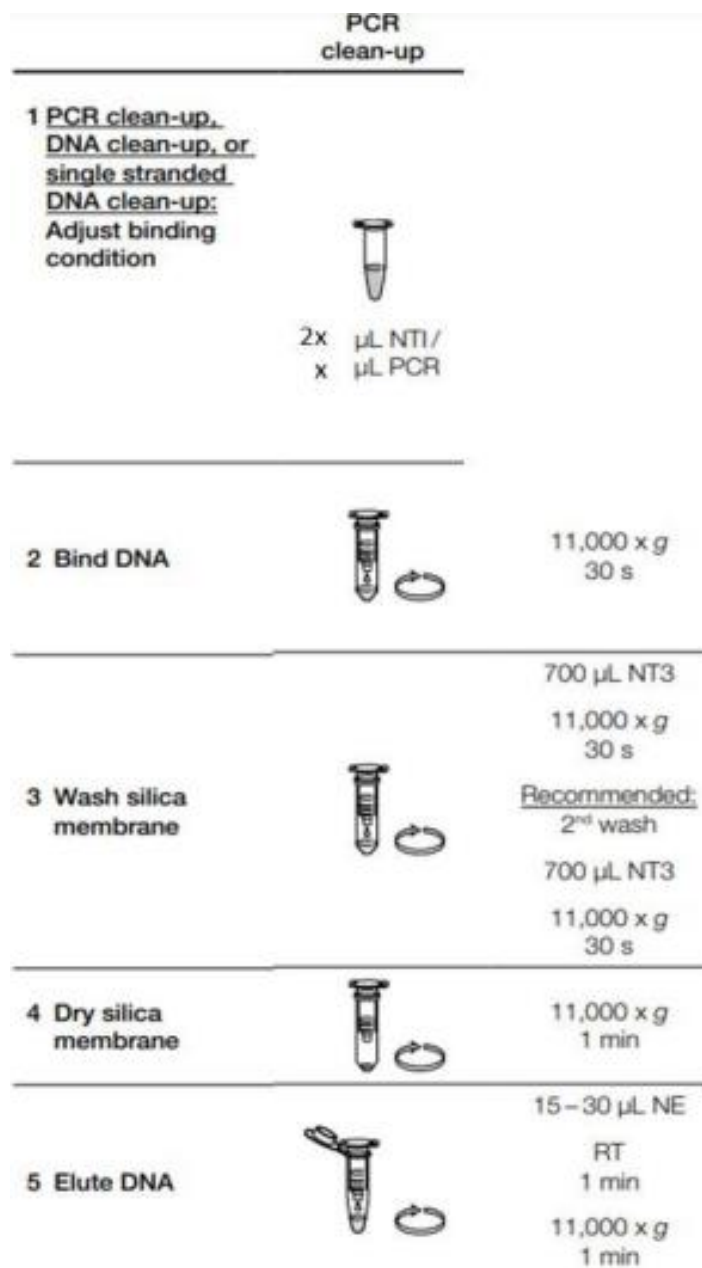
Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκαν τα κάτωθι βήματα:

1) 40 μ L προϊόντος PCR αναμείχτηκαν με διπλάσιο όγκο ρυθμιστικού διαλύματος δέσμευσης. Η συνολική ποσότητα μεταφέρθηκε σε στήλη NucleoSprin® Gel and PCR Clean-up που είχε τοποθετηθεί σε σωληνάριο συλλογής και πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση (11.000 x g, 30 sec).

2) Η στήλη προσαρμόστηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής, προστέθηκαν σε αυτή 700 μ L ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης και ακολούθησε φυγοκέντρηση (11.000 x g, 30 sec). Το συγκεκριμένο στάδιο έλαβε χώρα δύο φορές.

3) Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση (11.000 x g, 1 min), προκειμένου να απομακρυνθεί πλήρως το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης από τη μεμβράνη της στήλης.

4) Η στήλη τοποθετήθηκε σε νέο σωληνάριο συλλογής και προστέθηκαν 30 μ L ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης στο κέντρο της μεμβράνης της. Μετά από επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min, ακολούθησε φυγοκέντρηση (11.000 x g, 1 min).



Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τον καθαρισμό των προϊόντων της αντίδρασης PCR με τη δοκιμασία NucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-up (61).

➤ Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων

Τα προϊόντα της αντίδρασης PCR ηλεκτροφορούνται προκειμένου να ελεγχθεί η καθαρότητά τους (ποιοτικός έλεγχος) και να εκτιμηθεί το μοριακό βάρος τους (ποσοτικός έλεγχος). Για το σκοπό αυτό, παρασκευάστηκε πήκτωμα αγαρόζης (Nippon, Ελλάδα) 2% w/v που περιείχε βρωμιούχο αιθίδιο (Invitrogen, Ελλάδα) σε τελική συγκέντρωση 0,5 µg/mL. Ως ηλεκτροφορητικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε διάλυμα Tris-φωσφορικό οξύ-EDTA (Invitrogen, Ελλάδα), ενώ για την ποσοτική εκτίμηση των PCR προϊόντων χρησιμοποιήθηκε ένα μείγμα γραμμικών μορίων DNA γνωστού μοριακού βάρους (100 bp DNA Ladder, Cleaver Scientific, Ιταλία).

Η ηλεκτροφόρηση βασίζεται στην αρχή της κίνησης φορτισμένων σωματιδίων υπό από την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, μέσα στο οποίο τα φορτισμένα σωματίδια κινούνται με διαφορετικές ταχύτητες, ανάλογα με το φορτίο τους και αντιστρόφως ανάλογα με το μέγεθός τους. Κατά το διαχωρισμό τους, τα μακρομόρια διατάσσονται υπό μορφή ζωνών μέσα στο πήκτωμα, η οπτικοποίηση των οποίων επετεύχθη με έκθεση του πηκτώματος σε υπεριώδη ακτινοβολία.



Εικόνα 19. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της αντίδρασης PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2% w/v.

➤ PCR-RFLP

Η PCR με ανάλυση πολυμορφισμού μεγέθους περιοριστικών τμημάτων (restriction fragment length polymorphism, RFLP) DNA χρησιμοποιείται ευρύτατα για την ταυτοποίηση δερματοφύτων εξαιτίας της απλότητας και του χαμηλού κόστους της. Συγκεκριμένα, η μέθοδος περιλαμβάνει την ενίσχυση του τμήματος DNA-στόχου με χρήση PCR, ακολουθούμενη από επώαση του προϊόντος της αντίδρασης υπό συνθήκες ελεγχόμενης θερμοκρασίας με μια ειδική περιοριστική ενδονουκλεάση, η οποία λειτουργεί ως «μοριακό ψαλίδι». Μετά την πέψη, τα προκύπτοντα θραύσματα διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, τα προϊόντα ενίσχυσης της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2 του πυρηνικού rDNA επώαστηκαν με το περιοριστικό ένζυμο MvaI (BstNI) (62) ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή (37°C, 2 h) (Thermo Scientific, Ελλάδα). Στη συνέχεια, τα

προϊόντα της πέψης αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης (2% w/v), χρησιμοποιώντας για την ποσοτική εκτίμησή τους μείγματα γραμμικών μορίων DNA γνωστού μοριακού βάρους (25 bp DNA Ladder, Promega Madison, ΗΠΑ και 50 bp DNA Ladder, Cleaver Scientific, Ιταλία).



Εικόνα 20. Αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης MvaI.

➤ Αλληλούχιση PCR προϊόντων

Το σημαντικότερο μειονέκτημα της PCR-RFLP είναι η απουσία διαχωριστικής ικανότητας μεταξύ φυλογενετικά συγγενών *Trichophyton* spp., όπως τα είδη *T. benhamie-T. erinacei* και *T. mentagrophytes-T. interdigitale-T. indotineae*. Ως εκ τούτου, τα PCR προϊόντα στελεχών που είχαν ταυτοποιηθεί με συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους ως κάποιο από τα προαναφερθέντα είδη στάλθηκαν σε εξωτερικό εργαστήριο (CeMIA SA, Ελλάδα), ώστε να πραγματοποιηθεί αλληλούχισή τους. Οι αλληλουχίες DNA επεξεργάστηκαν με το πακέτο λογισμικού Lasergene (DNASTAR, ΗΠΑ), ακολούθησε η σύγκρισή τους με αλληλουχίες αναφοράς από τη βάση δεδομένων GenBank εφαρμόζοντας ανάλυση με αλγόριθμο BLAST (63) και τέλος ταυτοποιήθηκαν τα υπό μελέτη δερματόφυτα σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν με φθίνουσα σειρά ομοιότητας.

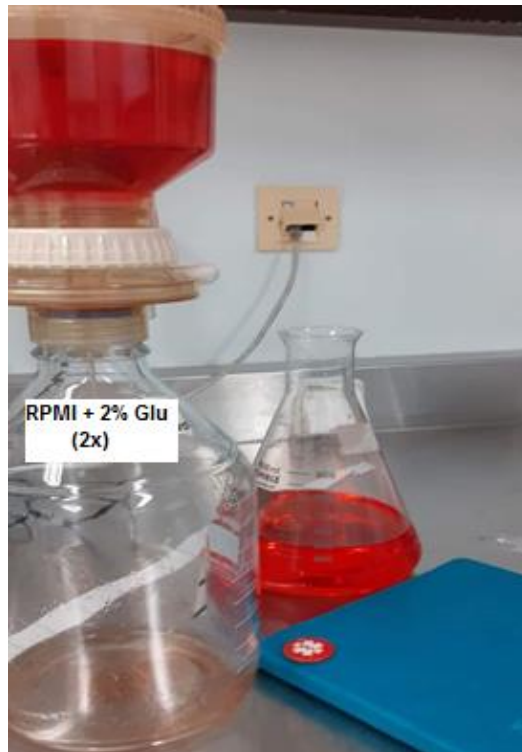
2.4 Έλεγχος της *in vitro* ευαισθησίας *Trichophyton spp.* σε αντιμυκητικούς παράγοντες

Ο έλεγχος της *in vitro* ευαισθησίας στα αντιμυκητικά πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την πρότυπη μεθοδολογία μικροαραιώσεων σε ζυμό για δερματόφυτα που σχηματίζουν μικροκονίδια, όπως αυτή περιγράφεται από την ευρωπαϊκή επιτροπή για τον έλεγχο αντιμικροβιακής ευαισθησίας (european committee on antimicrobial susceptibility testing, EUCAST) στο πρότυπο E.Def 11.0 (64). Με τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (minimum inhibitory concentration, MIC) αξιολογείται η ευαισθησία του υπό μελέτη στελέχους στο εξεταζόμενο φάρμακο.

➤ **Θρεπτικό υλικό**

Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιείχε RPMI 1640 με L-γλουταμίνη και κόκκινο της φαινόλης ως δείκτη pH, χωρίς διττανθρακικό νάτριο (Sigma-Aldrich, Ελλάδα). Εμπλουτίστηκε με γλυκόζη (Applichem, Ελλάδα) σε τελική συγκέντρωση 2%, ενώ το pH του ρυθμίστηκε στο 7,0 με 3-(N-μορφολινο)προπανοσουλφονικό οξύ (3-(N-morpholino)propanesulfonic acid, MOPS; Applichem, Ελλάδα) σε τελική συγκέντρωση 0,165 M. Το υλικό παρασκευάστηκε αρχικά σε διπλάσια ισχύ (2x), καθώς πρόκειται τελικά να αραιωθεί 1:1 με το μυκητικό εναιώρημα κατά τον ενοφθαλμισμό των πλακών μικροτιτλοδότησης. Αναλυτικότερα, για την παρασκευή 1 L θρεπτικού υλικού έλαβαν χώρα τα κάτωθι βήματα:

- 1) Σε κωνική φιάλη μεταφέρθηκαν 20,8 g RPMI 1640, 69,06 g MOPS και 36 g γλυκόζης. Προστέθηκαν 900 mL αποσταγμένου νερού και το διάλυμα τέθηκε υπό ελαφριά ανάδευση, απουσία θερμότητας, έως ότου να διαλυτοποιηθούν πλήρως τα στερεά μέρη του.
- 2) Κατόπιν της διαλύγασης του διαλύματος και ενώ συνεχιζόταν η ανάδευση, προστέθηκε στάγδην υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) συγκέντρωσης 1 M, μέχρι το pH του διαλύματος να ρυθμιστεί στο 7,0 με τη χρήση ηλεκτρονικού πεχαμέτρου.
- 3) Ακολούθησε προσθήκη αποσταγμένου νερού έως τελικό όγκο 1 L, αποστείρωση του διαλύματος μέσω αποστειρωμένου φίλτρου μιας χρήσης με μέγεθος πόρων 0,22 μm και αποθήκευσή του σε συνθήκες ψύξης ($\leq 4^{\circ}\text{C}$ για έως και έξι μήνες) (64).



Εικόνα 21. Αποστείρωση θρεπτικού υλικού RPMI με φιλτράρισμα.

➤ **Αντιμυκητικά φάρμακα**

Συνολικά, εξετάστηκε η ευαισθησία των *Trichophyton* spp. σε τρία φάρμακα που χορηγούνται τοπικά ή και συστηματικά για δερματοφυτίες. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκαν καθαρές ουσίες βορικοναζόλης (Pfizer Ltd, Ηνωμένο Βασίλειο), ιτρακοναζόλης (Sigma-Aldrich, Ελλάδα) και τερμπιναφίνης (Sigma-Aldrich, Ελλάδα).

➤ **Μητρικά (stock) διαλύματα αντιμυκητικών φαρμάκων**

Για την παρασκευή των πυκνών stock διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης λήφθηκαν υπόψη η καθαρότητα, η μέγιστη διαλυτότητα και η επιθυμητή τελική εξεταζόμενη συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας. Ο υπολογισμός των ποσοτήτων φαρμάκου και διαλύτη που απαιτήθηκαν πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις εξισώσεις:

$$\text{Βάρος (g)} = \frac{\text{Όγκος (L)} \times \text{Συγκέντρωση (mg/L)}}{\text{Καθαρότητα (mg/g)}}$$

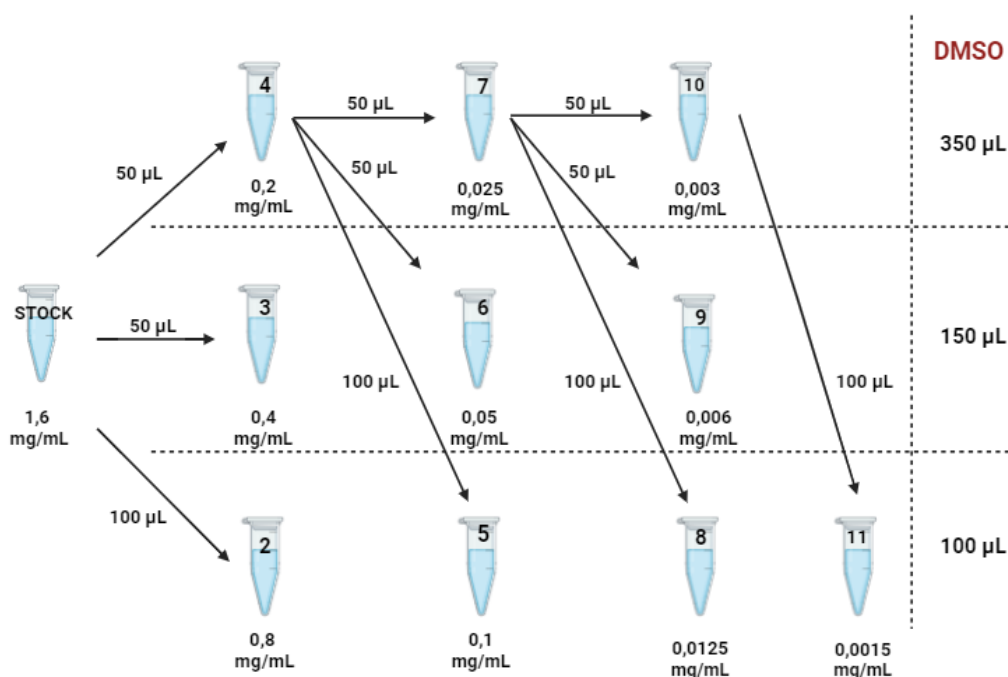
$$\text{Όγκος (L)} = \frac{\text{Βάρος (g)} \times \text{Καθαρότητα (mg/g)}}{\text{Συγκέντρωση (mg/L)}}$$

Όλες οι ουσίες διαλύθηκαν σε στείρο διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide, DMSO; Chem-Lab, Ελλάδα) και τα stock διαλύματα παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις 200 φορές υψηλότερες της μέγιστης τελικής εξεταζόμενης συγκέντρωσής τους στην πλάκα μικροτιτλοδότησης. Συγκεκριμένα, δεδομένου ότι το εύρος των τελικών συγκεντρώσεων επιλέχθηκε να είναι 0,008-8 mg/L για όλα τα φάρμακα, παρασκευάστηκαν stock διαλύματά τους συγκέντρωσης 1,6 mg/mL. Τα διαλύματα αυτά, καταψύχονται ($\leq -70^{\circ}\text{C}$) σε μικρές

ποσότητες (aliquots) και συντηρούνται για έως και έξι μήνες. Όταν κάποιο από αυτά αφαιρεθεί από τη βαθιά κατάψυξη, τότε προβλέπεται να χρησιμοποιηθεί την ίδια μέρα, διαφορετικά απορρίπτεται γιατί ενδέχεται να έχει χάσει τη δραστικότητά του (64).

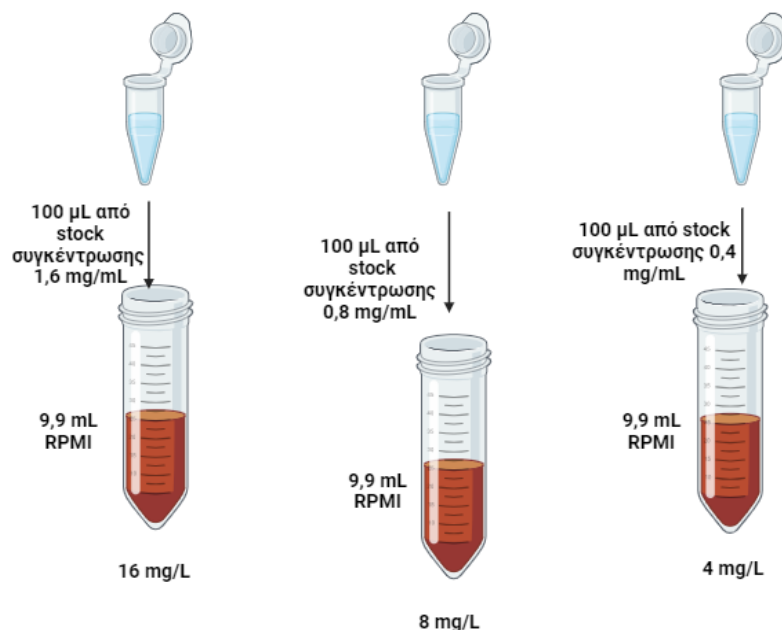
➤ Διαλύματα εργασίας αντιμυκητικών φαρμάκων

Ξεκινώντας από το stock διάλυμα, πραγματοποιήθηκαν εκ νέου αραιώσεις του φαρμάκου σε DMSO σύμφωνα με το πρότυπο ISO. Ειδικότερα, για κάθε φάρμακο προέκυψε μία σειρά από 11 διαλύματα με διαδοχικές υποδιπλάσιες συγκεντρώσεις της ουσίας, 200 φορές υψηλότερες από αυτές που θα εξεταστούν τελικά στην πλάκα μικροτιτλοδότησης (64).



Εικόνα 22. Σχηματική απεικόνιση της ροής εργασίας για την πραγματοποίηση κατά ISO αραιώσεων stock διαλύματος αντιμυκητικού που διαλύεται σε οργανικό διαλύτη, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,008-8 mg/L.

Στη συνέχεια, 100 μL από την κάθε αραιώση μεταφέρθηκαν σε σωληνάριο που περιείχε 9,9 mL θρεπτικού υλικού. Σε αυτό το στάδιο τα σωληνάρια περιέχουν τα διαλύματα εργασίας του εκάστοτε φαρμάκου σε συγκεντρώσεις δυο φορές υψηλότερες από τις τελικά εξεταζόμενες (64).

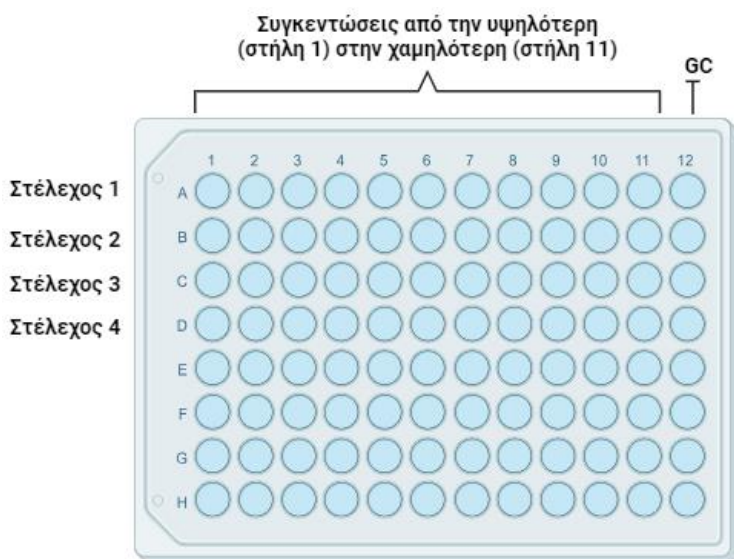


Εικόνα 23. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 2-8 mg/L.

➤ Προετοιμασία και ποιοτικός έλεγχος των πλακών μικροτιτλοδότησης

Χρησιμοποιήθηκαν διαφανείς, αποστειρωμένες πλάκες μικροτιτλοδότησης 96-βοθρίων επίπεδου πυθμένα (ονομαστικής χωρητικότητας $\sim 300 \mu\text{L}$), ειδικά επεξεργασμένες για κυτταροκαλλιέργεια (tissue-culture treated) (Thermo Scientific™, Ελλάδα). Κάθε πλάκα αντιστοιχούσε σε ένα φάρμακο, κάθε οριζόντια γραμμή της (A, B, C, έως H) σε ένα στέλεχος

και κάθε κάθετη στήλη της (1, 2, 3, έως 11) σε διαφορετική συγκέντρωση του φαρμάκου. Η δωδέκατη κάθετη στήλη αντιστοιχούσε στο μάρτυρα ελέγχου της ανάπτυξης (growth control, GC) και περιείχε θρεπτικό υλικό 2x χωρίς φάρμακο. Για την πλήρωση των πλακών χρησιμοποιήθηκαν πολυκάναλες πιπέτες ακριβείας, με τις οποίες διανεμήθηκαν στα βοθρία της εκάστοτε κάθετης στήλης 100 μL από το κάθε διάλυμα εργασίας του φαρμάκου, ξεκινώντας από την υψηλότερη συγκέντρωση (στήλη 1) και φτάνοντας στη χαμηλότερη (στήλη 11) (64).



Εικόνα 24. Σχηματική απεικόνιση της διάταξης της πλάκας μικροτιτλοδότησης 96-βοθρίων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη.

Μετά την προετοιμασία τους, οι πλάκες φυλάσσονται σφραγισμένες σε συνθήκες κατάψυξης ($\leq -70^{\circ}\text{C}$ για διάστημα έως και έξι μηνών ή -20°C για ένα μήνα). Για τη χρήση τους θα πρέπει να αποψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και να χρησιμοποιηθούν αμέσως, ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα ψευδούς αύξησης των τιμών MIC. Μετά την απόψυξή τους

δεν ενδείκνυται ξανά η συντήρησή τους σε συνθήκες κατάψυξης, καθώς ενδέχεται να επηρεαστεί η δραστηριότητα του φαρμάκου που περιέχουν (64).

Πριν τη χρήση τους, είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί ποιοτικός έλεγχος των πλακών, ώστε να εξασφαλιστεί η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν τα προτεινόμενα από την EUCAST πρότυπα στελέχη *C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 22019 και *T. indotineae* SSI-9363, τα οποία είναι καλά χαρακτηρισμένα, με σταθερά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και καθορισμένα προφίλ ευαισθησίας στα αντιμυκητικά (64).

➤ Προετοιμασία του εναιωρήματος και ενοφθαλμισμός των πλακών μικροτιτλοδότησης

Για την προετοιμασία του εναιωρήματος, ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1) Τα υπό εξέταση στελέχη ανακαλλιεργήθηκαν σε SCG στους 30°C για 4-7 ημέρες ή έως ότου παρατηρούνταν επαρκής παραγωγή μικροκονιδίων.

2) Παρασκευάστηκε πυκνό εναιώρημα του εκάστοτε στελέχους σε στείρο αποσταγμένο νερό εμπλουτισμένο με 0,1% Tween 20 (AppliChem, Ελλάδα), το οποίο ομογενοποιήθηκε με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 sec και στη συνέχεια φιλτραρίστηκε με αποστειρωμένο φίλτρο μιας χρήσης με μέγεθος πόρων 11 μm.

3) Ακολούθησε η προσαρμογή της πυκνότητας του εναιωρήματος, ώστε να αντιστοιχεί σε αυτή ενός πρότυπου διαλύματος 0,5 McFarland με τη χρήση θολωσίμετρου.

4) Κατόπιν, το εναιώρημα αραιώθηκε 1:10 με αποσταγμένο νερό προκειμένου να επιτευχθεί συγκέντρωση $2-5 \times 10^5$ CFU/mL.

5) Τέλος, το εναιώρημα εμπλουτίστηκε με 2x χλωραμφενικόλη (100 mg/L; AppliChem, Ελλάδα) και 2x κυκλοεξιμίδη (600 mg/L; Sigma-Aldrich, Ελλάδα), οι οποίες αναστέλλουν την ανάπτυξη της πλειοψηφίας των βακτηρίων και των σαπροφυτικών μυκήτων, αντίστοιχα (64).

Το εναιώρημα των μυκήτων θα πρέπει να ενοφθαλμίζεται στην πλάκα εντός 30 min από την παρασκευή του, ώστε να διατηρηθεί η βιώσιμη συγκέντρωση μικροκονιδίων. Κατόπιν επαρκούς ανάδυσής του, ενοφθαλμίστηκαν 100 μ L του ανά βοθρίο μίας οριζόντιας γραμμής της πλάκας μικροτιλοδότησης με τη χρήση πολυκάναλης πιπέτας ακριβείας, χωρίς να έρχονται σε επαφή τα ρύγχη της πιπέτας με το περιεχόμενο των βοθρίων. Με αυτό τον τρόπο προκύπτει η απαιτούμενη τελική συγκέντρωση του αντιμυκητικού φαρμάκου και των αντιβιοτικών (1x), καθώς και του εναιωρήματος ($1-2,5 \times 10^5$ CFU/mL). Οι πλάκες επώαστηκαν στους 25-28°C σε ατμοσφαιρικό αέρα για 5-7 μέρες (64).

➤ Προσδιορισμός των τιμών MIC

Η MIC ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση (mg/L) ενός αντιμικροβιακού παράγοντα που αναστέλλει την ανάπτυξη κάποιου μικροβίου, παρέχοντας πληροφορίες για την ευαισθησία ή την αντοχή του σε αυτόν, δεδομένο ιδιαίτερα χρήσιμο για την επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της EUCAST, ο

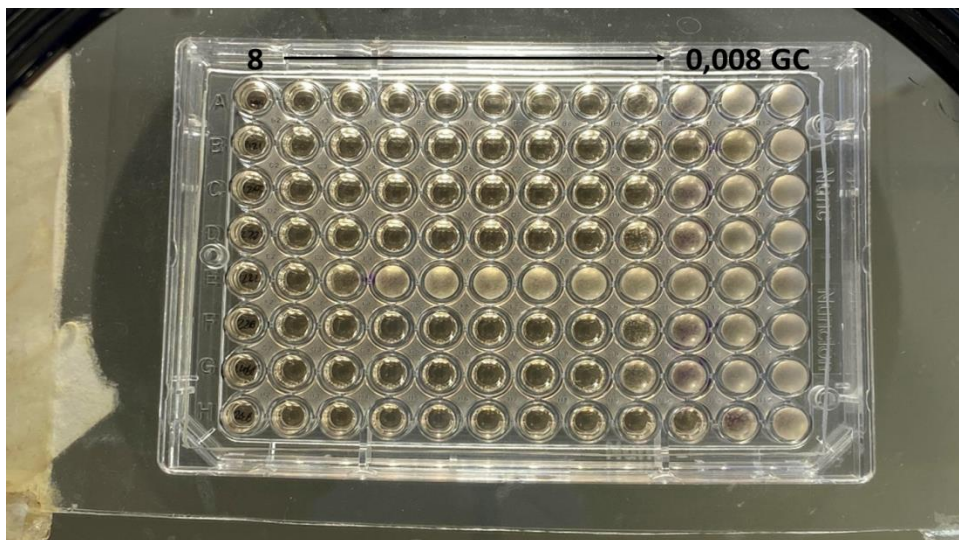
προσδιορισμός των MICs αντιμυκητικών παραγόντων που χορηγούνται έναντι των δερματοφύτων πραγματοποιείται φωτομετρικά (μήκος κύματος 405-540 nm) (64).

Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης οι πλάκες μικροτιτλοδότησης φωτομετρήθηκαν στα 540 nm με τη χρήση της συσκευής Infinite® M200 (Tecan, Ελλάδα) και του λογισμικού Magellan PRO. Το ποσοστό ανάπτυξης του μύκητα σε κάθε βοθρίο υπολογίστηκε σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\% \text{ Ανάπτυξη} = \frac{A \text{ βοθρίου} - A \text{ υποβάθρου}}{A \text{ βοθρίου GC} - A \text{ υποβάθρου}} \times 100$$

όπου, A: απορρόφηση και υπόβαθρο: βοθρίο ενοφθαλμισμένης πλάκας μικροτιτλοδότησης στο χρόνο 0. Ως MIC και για τα τρία υπό εξέταση αντιμυκητικά ορίστηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου στην οποία παρατηρήθηκε $\geq 50\%$ αναστολή της ανάπτυξης συγκριτικά με την ανάπτυξη του GC (64).

Επιπροσθέτως, η μυκητική ανάπτυξη συναξιολογήθηκε οπτικά εξετάζοντας τον πυθμένα των πλακών με τη χρήση ανάστροφου καθρέφτη προκειμένου να αποκλειστούν τυχαία σφάλματα κατά τη φωτομέτρησή τους, τα οποία πηγάζουν συνήθως από τη δημιουργία συσσωματωμάτων των μυκήτων ή επιμολύνσεων από βακτήρια.



Εικόνα 25. Οπτική παρατήρηση πλάκας μικροτιτλοδότησης με τη βοήθεια ανάστροφου καθρέφτη.

2.5 Ανάλυση δεδομένων

Η συχνότητα εμφάνισης της δερματοφυτίας εκφράστηκε ως η αναλογία των αντίστοιχων περιστατικών που καταγράφηκαν στη διάρκεια της μελέτης ως προς το συνολικό αριθμό των ατόμων με κλινική υποψία της λοίμωξης, ενώ η τάση της με την πάροδο του χρόνου αξιολογήθηκε με ανάλυση διακύμανσης μονής κατεύθυνσης (one-way ANOVA). Για τη στατιστική ανάλυση των κατηγορικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's exact test). Για κάθε έλεγχο, μία τιμή $p < 0,05$ υποδείκνυε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

Επιπλέον, για κάθε ζεύγος *Trichophyton* spp.-φαρμάκου προσδιορίστηκαν οι επικρατούσες MICs, το εύρος των MICs, ο γεωμετρικός μέσος όρος τους (geometric mean, GM) και οι τιμές MIC₅₀ και MIC₉₀. Οι δύο τελευταίες υποδεικνύουν την τιμή MIC που αναστέλλει την ανάπτυξη του 50% και 90% των στελεχών που εξετάστηκαν, αντίστοιχα. Δεδομένης της έλλειψης κλινικών ορίων ευαισθησίας για τα δερματόφυτα, η κατηγοριοποίηση των στελεχών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα θεσπισμένα από την EUCAST επιδημιολογικά όρια για τον εκάστοτε συνδυασμό *Trichophyton* spp.-αντιμυκητικού παράγοντα (*T. rubrum*: βορικοναζόλη 0,125 mg/L, ιτρακοναζόλη 0,25 mg/L και τερμπιναφίνη 0,03 mg/L, *T. indotineae*: βορικοναζόλη 1 mg/L, ιτρακοναζόλη 0,25 mg/L και τερμπιναφίνη 0,125 mg/L) (65). Για όσους συνδυασμούς δεν υπήρχαν διαθέσιμα επιδημιολογικά όρια, χρησιμοποιήθηκαν τα όρια των φυλογενετικά συγγενών ειδών. Συγκεκριμένα, για το *T. tonsurans* αυτά του *T. rubrum*, ενώ για το *T. interdigitale* και το *T. mentagrophytes* αυτά του *T. indotineae*.

Η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού GraphPad Prism, έκδοση 10.0, για Windows (GraphPad Software, ΗΠΑ).

3. Αποτελέσματα

3.1 Επιδημιολογία δερματοφυτιών στην Ελλάδα

Από την ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας για την αποτύπωση της επιδημιολογικής εικόνας των δερματοφυτιών στη χώρα μας, ανακτήθηκαν 26 δημοσιεύσεις (23), (46), (66), (67), (68), (69), (70), (71), (72), (73), (74), (75), (76), (77), (78), (79), (80), (81), (82), (83), (84), (85), (86), (87), (88), (89). Μια εξ αυτών αφορούσε αποκλειστικά στον προσδιορισμό του αριθμού των λοιμώξεων με κλινικά ή/και μικροβιολογικά αποδεδειγμένη αντοχή στα αντιμυκητικά σε χώρες της Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένης της Ελλάδας, χωρίς όμως να παρέχονται συγκεκριμένες πληροφορίες για την εκάστοτε χώρα (89). Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη τις εναπομείνουσες 25, οι περίοδοι διεξαγωγής τους καλύπτουν τα έτη 1981 έως 2019, με την πλειοψηφία τους (15/25, 60%) να περιγράφουν επιδημιολογικά δεδομένα πριν από το 2010. Όλες ήταν αναδρομικές μελέτες προερχόμενες από μεμονωμένα κέντρα εντοπισμένα σε Θεσσαλονίκη (10/25, 40%), Κρήτη (7/25, 28%), Αθήνα (6/25, 24%), Πάτρα (1/25, 4%) και Ιωάννινα (1/25, 4%).

Σχετικά με το αντικείμενο των μελετών, μόλις 8/25 (32%) σχετίζονται με όλες τις μορφές δερματοφυτίας, ενώ οι υπόλοιπες αναφέρονται σε συγκεκριμένη κλινική εκδήλωση της λοίμωξης ή σε κάποιο διακριτό παθογόνο. Ειδικότερα, 8/25 (32%), 5/25 (20%) και 4/25 (16%) περιγράφουν αποκλειστικά περιστατικά ονυχομυκητίασης, tinea capitis και σχετιζόμενα με συγκεκριμένο είδος δερματόφυτου, αντίστοιχα. Αντίστοιχη ποικιλομορφία χαρακτηρίζει και τον υπό εξέταση πληθυσμό των μελετών. Συγκεκριμένα, 15/25 (60%) αναφέρονται στο γενικό

πληθυσμό (ανεξαρτήτως ηλικιακής ομάδας), 4/25 (16%) σε ασθενείς με δερματοφυτία/επιπολής μυκητίαση, 2/25 (8%) σε ενήλικα άτομα, 2/25 (8%) σε παιδιά και 2/25 (8%) σε ενήλικες ασθενείς με ψωρίαση.

Η ταυτοποίηση των απομονωθέντων στελεχών για τα οποία υπάρχουν δεδομένα (23/25, 92%), έλαβε χώρα κατά κύριο λόγο μόνο με συμβατικές φαινοτυπικές μεθόδους (22/23, 96%), ενώ μόλις σε μια μελέτη επαληθεύτηκε με μοριακές τεχνικές (46). Στοιχεία αναφορικά με το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των παθογόνων στα αντιμυκητικά υπάρχουν διαθέσιμα αποκλειστικά σε 1/25 (4%) μελέτη (46).

Δεδομένης της προαναφερθείσας ανομοιογένειας ως προς το ερευνητικό πεδίο και το συμπεριληφθέντα πληθυσμό, η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης και η κατανομή των δερματοφύτων αναλύθηκε ξεχωριστά για όλων των τύπων δερματοφυτία, ονυχομυκητίαση και tinea capitis.

➤ **Δερματοφυτία**

Η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης από δερματούφυτο στο γενικό πληθυσμό κυμαινόταν μεταξύ 11% και 38% (μέσος όρος 26%). Ανεξάρτητα από τη γεωγραφική περιοχή διενέργειας της εκάστοτε μελέτης (Θεσσαλονίκη, Κρήτη, Πάτρα και Ιωάννινα), το επικρατέστερο παθογόνο ήταν το ανθρωπόφιλο *T. rubrum* με συχνότητα απομόνωσης 35%-63%, ακολουθούμενο από το ζωόφιλο *M. canis* (14%-54%) και το ανθρωπόφιλο *T. interdigitale* (8%-18%).

Από την άλλη πλευρά, η συχνότητα εμφάνισης της δερματοφυτίας σε παιδιά έως 12 ετών υπολογίστηκε στο 56%. Στη συντριπτική τους πλειοψηφία τα περιστατικά αποδόθηκαν στο *M. canis* (88%) και σε μικρότερο βαθμό στο *T. rubrum* (6%).

➤ Ονυχομυκητίαση

Η συχνότητα εμφάνισης της ονυχομυκητίασης από δερματόφυτο στο γενικό πληθυσμό κυμαινόταν μεταξύ 1% και 11% (μέσος όρος 5%), ενώ αποκλειστικά σε ενήλικα άτομα υπολογίστηκε στο 10% και σε ενήλικες ασθενείς με ψωρίαση από 4% έως 23%. Ανεξάρτητα από τον υπό μελέτη πληθυσμό, οι κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες της λοίμωξης ήταν ανθρωπόφιλα δερματόφυτα, με το *T. rubrum* να κυριαρχεί ως προς τη συχνότητα απομόνωσης (74%-100%) και το *T. interdigitale* να ακολουθεί (7%-21%).

➤ Tinea capitis

Αν και τα διαθέσιμα δεδομένα είναι περιορισμένα, η συχνότητα εμφάνισης της tinea capitis στο γενικό πληθυσμό κυμαινόταν μεταξύ 46% και 49%. Οι λοιμώξεις από το ζωόφιλο *M. canis* πρωταγωνιστούσαν (74%-84%), ενώ μεταξύ των ανθρωπόφιλων δερματοφύτων, το *T. violaceum* ήταν αυτό που απομονωνόταν συχνότερα (8%-12%). Τα στοιχεία αυτά προκύπτουν από δύο μελέτες που διενεργήθηκαν στην Αθήνα στο χρονικό διάστημα 1996-2001 και 2012-2019.

Από την άλλη πλευρά, προγενέστερες μελέτες (Θεσσαλονίκη, 1981-1995) υπέδειξαν πως η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης ήταν 2% τόσο σε ενήλικα άτομα, όσο και σε παιδιά έως 14 ετών. Μάλιστα, στους ενήλικες ως κυρίαρχο παθογόνο αναδείχθηκε το *T. violaceum* (76%), ενώ στα παιδιά το *M. canis* (88%).

Πίνακας 3. Επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα όπως περιγράφεται σε διάφορες μελέτες, οι οποίες παρουσιάζονται με χρονολογική σειρά.

Χρονική περίοδος (τόπος)	Αντικείμενο μελέτης	Πληθυσμιακή ομάδα (αριθμός συμμετεχόντων)	Επεισόδια δερματοφυτίας (συχνότητα εμφάνισης)	Κατανομή δερματοφύτων (μέθοδος ταυτοποίησης)	Αναφορά
1981-1990 (Θεσσαλονίκη)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός (17.120)	6.572 (38%)	<i>T. rubrum</i> 63% <i>M. canis</i> 14% <i>E. floccosum</i> 11% <i>T. interdigitale</i> 8% <i>T. mentagrophytes</i> 2% Άλλα είδη 2% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(66)
1981-1990 (Θεσσαλονίκη)	Δερματοφυτία από <i>T. rubrum</i>	Γενικός πληθυσμός (17.073)	4.093 (24%)	<i>T. rubrum</i> 100% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(67)
1981-1995 (Θεσσαλονίκη)	Tinea capitis	Ενήλικες 19-89 ετών (31.073)	594 (2%)	<i>T. violaceum</i> 76% <i>T. rubrum</i> 12% <i>T. schoenleinii</i> 8% <i>T. tonsurans</i> 4% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(68)
1981-1995 (Θεσσαλονίκη)	Tinea capitis	Παιδιά 0,2-14 ετών (31.073)	559 (2%)	<i>M. canis</i> 88% <i>T. violaceum</i> 6% <i>T. mentagrophytes</i> 2% <i>T. verrucosum</i> 1%	(69)

1992-1996 (Κρήτη)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός (1.361)	327 (24%)	<p>Άλλα είδη 3% (φαινοτυπικές μέθοδοι)</p> <p><i>T. rubrum</i> 44% <i>M. canis</i> 25% <i>T. interdigitale</i> 14% <i>E. floccosum</i> 8% <i>T. mentagrophytes</i> 3% <i>T. violaceum</i> 3% <i>T. verrucosum</i> 2% <i>N. gypsea</i> 1% (φαινοτυπικές μέθοδοι)</p>	(70)
1994-1996 (Αθήνα)	Ονυχομυκητίαση	Γενικός πληθυσμός 10-83 ετών (1.952)	126 (6%)	ΔΑ	(71)
1994-1998 (Θεσσαλονίκη)	Ονυχομυκητίαση	Γενικός πληθυσμός (13.957)	1.382 (10%)	<p><i>T. rubrum</i> 92% <i>T. interdigitale</i> 7% Άλλα είδη 1% (φαινοτυπικές μέθοδοι)</p>	(72)
1994-1998 (Κρήτη)	Δερματοφυτία από <i>M. canis</i>	Ασθενείς (0-79 ετών) με δερματοφυτία (452)	111 (25%)	<i>M. canis</i> 100% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(73)
1996-2000 (Θεσσαλονίκη)	Δερματοφυτία	Παιδιά 35 ημερών-12 ετών (1.045)	584 (56%)	<p><i>M. canis</i> 88% <i>T. rubrum</i> 6% <i>T. mentagrophytes</i> 2%</p>	(74)

				<i>E. floccosum</i> 2% <i>T. verrucosum</i> 1% Άλλα είδη 1% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	
1992-2001 (Κρήτη)	Ονυχομυκητίαση	Γενικός πληθυσμός 6-87 ετών (19.556)	179 (1%)	<i>T. rubrum</i> 69% <i>T. interdigitale</i> 21% Άλλα <i>Trichophyton</i> spp. 5% <i>E. floccosum</i> 3% <i>M. canis</i> 2% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(75)
1996-2001 (Αθήνα)	<i>Tinea capitis</i>	Γενικός πληθυσμός (1.251)	577 (46%)	<i>M. canis</i> 84% <i>T. violaceum</i> 8% <i>M. audouinii</i> 2% <i>T. mentagrophytes</i> 2% <i>M. ferrugineum</i> 1% <i>N. gypsea</i> 1% Άλλα είδη 2% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(76)
1989-2003 (Αθήνα)	Δερματοφυτία από <i>T. violaceum</i>	Ασθενείς (1,5-84 ετών) με επιπολής μυκητίαση (13.802)	104 (1%)	<i>T. violaceum</i> 100% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(77)
1997-2003 (Κρήτη)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός (3.751)	520 (14%)	<i>T. rubrum</i> 48% <i>M. canis</i> 18%	(78)

1991-2008 (Πάτρα)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός (5.971)	769 (13%)	<i>T. interdigitale</i> 14% <i>E. floccosum</i> 6% <i>T. mentagrophytes</i> 4% <i>T. violaceum</i> 3% <i>N. gypsea</i> 2% Άλλα είδη 5% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	
1991-2008 (Πάτρα)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός (5.971)	769 (13%)	<i>M. canis</i> 54% <i>T. rubrum</i> 38% <i>T. mentagrophytes</i> 6% <i>E. floccosum</i> 1% Άλλα είδη 1% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(79)
2004-2010 (Κρήτη)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός 2-90 ετών (2.674)	392 (15%)	<i>T. rubrum</i> 51% <i>M. canis</i> 19% <i>T. interdigitale</i> 18% <i>T. mentagrophytes</i> 5% <i>E. floccosum</i> 4% <i>N. gypsea</i> 2% Άλλα είδη 1% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(88)
2004-2014 (Θεσσαλονίκη)	Tinea capitis	Ασθενείς (0-90 ετών) με επιπολής μυκητίαση (10.168)	253 (2%)	<i>M. canis</i> 95% <i>T. mentagrophytes</i> 2% <i>T. verrucosum</i> 2% Άλλα είδη 1%	(80)

2010-2014 (Θεσσαλονίκη)	Επιτολής μυκητίαση	Γενικός πληθυσμός 2- 85 ετών (438)	102 (23%)	(φαινοτυπικές μέθοδοι) <i>T. rubrum</i> 54% <i>M. canis</i> 22% <i>T. interdigitale</i> 11% <i>T. mentagrophytes</i> 7% Άλλα είδη 6%	(81)
2004-2015 (Κρήτη)	Ονυχομυκητίαση	Γενικός πληθυσμός 13-83 ετών (3.417)	156 (5%)	(φαινοτυπικές μέθοδοι) <i>T. rubrum</i> 76% <i>T. mentagrophytes</i> 19% <i>E. floccosum</i> 3% Άλλα είδη 2%	(82)
2011-2015 (Κρήτη)	Δερματοφυτία	Γενικός πληθυσμός 2-86 ετών (2.751)	294 (11%)	(φαινοτυπικές μέθοδοι) <i>M. canis</i> 36% <i>T. rubrum</i> 35% <i>T. mentagrophytes</i> 23% <i>E. floccosum</i> 2% <i>N. gypseae</i> 2% Άλλα είδη 2%	(83)
2011-2017 (Ιωάννινα)	Ονυχομυκητίαση	Γενικός πληθυσμός 3-86 ετών (1.095)	117 (11%)	 <i>T. rubrum</i> 74% <i>T. interdigitale</i> 21% <i>T. tonsurans</i> 2% <i>E. floccosum</i> 2% <i>T. violaceum</i> 1%	(84)

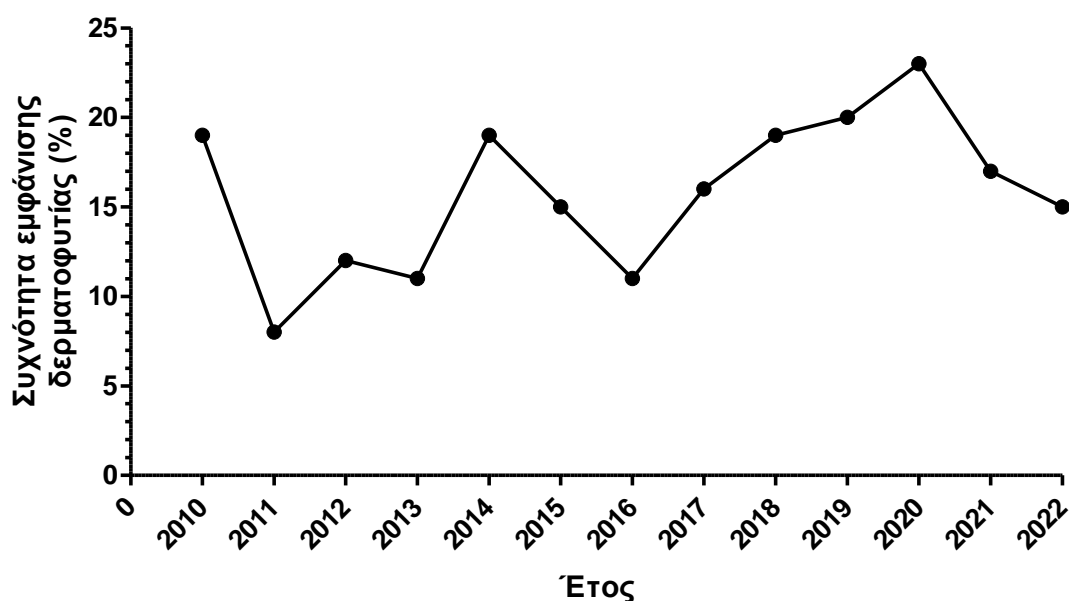
2015-2017 (Αθήνα)	Ονυχομυκητίαση	Ενήλικες (3.226)	308 (10%)	(φαινοτυπικές μέθοδοι) <i>T. rubrum</i> 88% <i>T. interdigitale</i> 12% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(85)
10/2016-02/2017 (Θεσσαλονίκη)	Ονυχομυκητίαση	Ενήλικες με ψωρίαση (23)	1 (4%)	<i>T. rubrum</i> 100% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(86)
2010-2019 (Αθήνα)	Δερματοφυτία από <i>Trichophyton</i> spp.	Ασθενείς (0,8-90 ετών) με δερματοφυτία από <i>Trichophyton</i> spp. (109)	109 (ME)	<i>T. rubrum</i> 62% <i>T. mentagrophytes</i> 13% <i>T. interdigitale</i> 11% <i>T. indotinae</i> 8% <i>T. tonsurans</i> 6% (μοριακές μέθοδοι)	(46)
2012-2019 (Αθήνα)	<i>Tinea capitis</i>	Γενικός πληθυσμός (1.191)	583 (49%)	<i>M. canis</i> 74% <i>T. violaceum</i> 12% <i>T. tonsurans</i> 7% <i>T. soudanense</i> 3% <i>T. mentagrophytes</i> 2% Άλλα είδη 2% (φαινοτυπικές μέθοδοι)	(23)
01-11/2020 (ΔΑ)	Δερματοφυτία	Ασθενείς με δερματοφυτία και αποτυχία της αντιμυκητικής θεραπείας (ΔΑ)	ΔΑ (ME)	ΔΑ	(89)

ΔΑ (Θεσσαλονίκη)	Ονυχομυκητίαση	Ενήλικες με ψωρίαση (35)	8 (23%)	ΔΑ	(87)
---------------------	----------------	-----------------------------	---------	----	------

ΔΑ: δεν αναφέρεται, ΜΕ: μη εφαρμόσιμο

3.2 Επιδημιολογία δερματοφυτιών στο Π.Γ.Ν. «Αττικών»

Κατά τη διάρκεια της τριετίας 2020-2022 εξετάστηκαν 553 δείγματα (190 ριניσιμάτων ονύχων, 338 ξεσμάτων δέρματος και 25 τριχών) 496 ατόμων με κλινική υποψία δερματοφυτίας. Δερματόφυτα απομονώθηκαν από δείγματα 89/496 (18%) ατόμων, ποσοστό παρόμοιο με αυτό της δεκαετίας 2010-2019 (16%) (58). Συγκεκριμένα, η ετήσια συχνότητα εμφάνισης επιβεβαιωμένων δερματοφυτιών ήταν 23%, 17% και 15% για τα έτη 2020, 2021 και 2022, αντίστοιχα, ενώ δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επεισοδίων στο βάθος της 13ετίας 2010-2022 ($p = 0.08$). Η πλειοψηφία των δερματοφυτιών (67/89, 75%) αφορούσαν σε λοιμώξεις του δέρματος, ακολουθούμενες από ονυχομυκητιάσεις (16/89, 18%) και tinea capitis (6/89, 7%).



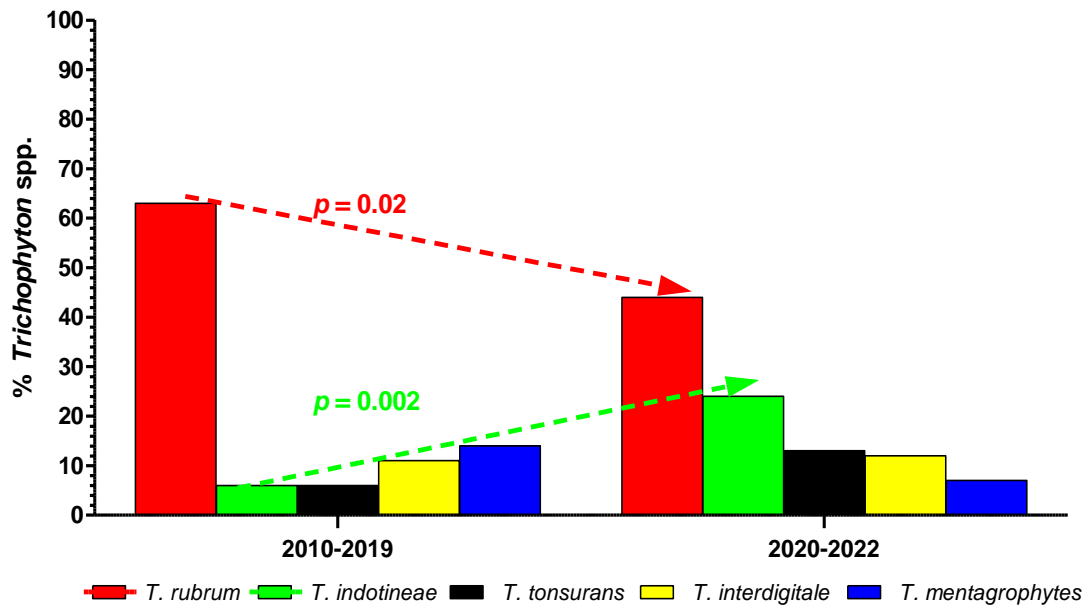
Εικόνα 26. Ετήσια συχνότητα εμφάνισης περιστατικών δερματοφυτίας στο Π.Γ.Ν. «Αττικών».

Η πλειοψηφία των ασθενών (47/89, 53%) ήταν άνδρες ($p = 0,55$) και η μέση (εύρος) ηλικία τους ήταν 41 (1,8-92) έτη. Ειδικότερα, 14 (16%) ήταν παιδιά (0-17 ετών) και 75 (84%)

ενήλικες (57 ασθενείς ηλικίας 18-59 ετών και 18 ασθενείς ηλικίας ≥ 60 ετών). Όλοι οι παιδιατρικοί ασθενείς νοσούσαν από δερματοφυτία του δέρματος (9/14, 64%) ή tinea capitis (5/14, 36%).

Αναφορικά με την κατανομή των ειδών, 10/89 στελέχη (όλα ταυτοποιημένα ως *Trichophyton* spp. με φαινοτυπικές μεθόδους) απέτυχαν να αναπτυχθούν παρά τις επαναλαμβανόμενες ανακαλλιέργειες, και ως εκ τούτου η μοριακή ταυτοποίησή τους δεν κατέστη δυνατή οπότε και δε συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Λαμβάνοντας, λοιπόν, υπόψη τα εναπομείναντα 79 στελέχη, ο επικρατέστερος αιτιολογικός παράγοντας της λοίμωξης ήταν το *T. rubrum* (26/79, 33%), ακολουθούμενο από *M. canis* (15/79, 19%), *T. indotineae* (14/79, 18%), *T. tonsurans* (8/79, 10%), *T. interdigitale* (7/79, 9%), *T. mentagrophytes* (4/79, 5%), *N. gypsea* (2/79, 2%), *M. ferrugineum* (1/79, 1%), *N. persicolor* (1/79, 1%) και *E. floccosum* (1/79, 1%).

Εστιάζοντας στα *Trichophyton* spp. που αποτελούσαν την πλειοψηφία των παθογόνων (59/79, 75%), παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του *T. indotineae* [6% (7/109) έναντι 24% (14/59), $p = 0,002$] συνοδευόμενη από παράλληλη μείωση του *T. rubrum* [63% (69/109) έναντι 44% (26/59), $p = 0,02$] κατά τα έτη 2010-2019 (46) και 2020-2022, αντίστοιχα.



Εικόνα 27. Κατανομή *Trichophyton* spp. στο Π.Γ.Ν. «Αττικών».

Ως προς το προφίλ ευαισθησίας των απομονωθέντων *Trichophyton* spp., όλα τα στελέχη παρουσίασαν φαινότυπο άγριου τύπου για τις αζόλες, ενώ φαινότυπος μη-άγριου τύπου στην τερμπιναφίνη εντοπίστηκε μόνο για το σύνολο των στελεχών *T. indotineae* (MIC 1-8 mg/L), τα οποία είχαν όλα ανακτηθεί από ξέσματα δέρματος. Σημειωτέον, ο αριθμός των ανθεκτικών στην τερμπιναφίνη δερματοφυτιών από *Trichophyton* spp. αυξήθηκε σημαντικά την τριετία 2020-2022 σε σύγκριση με την περίοδο 2010-2019 [6% (7/109) έναντι 24% (14/59), $p = 0,002$] (46).

Πιο συγκεκριμένα, για το *T. rubrum* οι επικρατούσες τιμές (εύρη) MIC για την τερμπιναφίνη, τη βορικοναζόλη και την ιτρακοναζόλη ήταν 0,016 ($\leq 0,008-0,03$) mg/L, 0,03 (0,03-0,125) mg/L και 0,03 ($\leq 0,008-0,06$) mg/L, αντίστοιχα. Πιο υψηλή *in vitro* δραστηριότητα παρουσίασε η τερμπιναφίνη (GM MIC 0,01 mg/L), ακολουθούμενη από την ιτρακοναζόλη (GM MIC 0,02 mg/L) και τη βορικοναζόλη (GM MIC 0,04 mg/L).

Για το *T. indotineae* οι επικρατούσες τιμές (εύρη) MIC για την τερμπιναφίνη, τη βορικοναζόλη και την ιτρακοναζόλη ήταν 1 (1-8) mg/L, 0,125 (0,06-0,5) mg/L και 0,016 (\leq 0,008-0,06) mg/L, αντίστοιχα. Οι αζόλες παρουσίασαν υψηλότερη *in vitro* δραστηριότητα έναντι του είδους (GM MIC ιτρακοναζόλης 0,02 mg/L και GM MIC βορικοναζόλης 0,13 mg/L) συγκριτικά με την τερμπιναφίνη (GM MIC 2,44 mg/L).

Για το *T. interdigitale* οι επικρατούσες τιμές (εύρη) MIC για την τερμπιναφίνη, τη βορικοναζόλη και την ιτρακοναζόλη ήταν 0,016 (0,016-0,03) mg/L, 0,06/0,125 (0,03-0,125) mg/L και 0,03 (0,016-0,06) mg/L, αντίστοιχα. Πιο υψηλή *in vitro* δραστηριότητα παρουσίασε η τερμπιναφίνη (GM MIC 0,02 mg/L), ακολουθούμενη από την ιτρακοναζόλη (GM MIC 0,03 mg/L) και τη βορικοναζόλη (GM MIC 0,07 mg/L).

Για το *T. mentagrophytes* οι επικρατούσες τιμές (εύρη) MIC για την τερμπιναφίνη, τη βορικοναζόλη και την ιτρακοναζόλη ήταν 0,03 (0,03-0,06) mg/L, 0,25 (0,125-0,25) mg/L και 0,03 (0,03-0,06) mg/L, αντίστοιχα. Πιο υψηλή *in vitro* δραστηριότητα παρουσίασαν η τερμπιναφίνη και η ιτρακοναζόλη (GM MIC 0,04 mg/L, έκαστος) και ακολουθούσε η βορικοναζόλη (GM MIC 0,21 mg/L).

Τέλος, για το *T. tonsurans* οι επικρατούσες τιμές (εύρη) MIC για την τερμπιναφίνη, τη βορικοναζόλη και την ιτρακοναζόλη ήταν \leq 0,008 (\leq 0,008-0,016) mg/L, 0,03 (0,03-0,125) mg/L και \leq 0,008 (\leq 0,008-0,03) mg/L, αντίστοιχα. Ισάξια *in vitro* δραστηριότητα εμφάνισαν η τερμπιναφίνη και η ιτρακοναζόλη (GM MIC 0,01 mg/L, έκαστος), με τη βορικοναζόλη να ακολουθεί (GM MIC 0,05 mg/L).

Πίνακας 4. Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των στελεχών *Trichophyton* spp. στα αντιμυκητικά.

<i>Trichophyton</i> spp. (αριθμός στελεχών)	Αντιμυκητικός παράγοντας	Αριθμός στελεχών με MIC (mg/L)* :											MIC ₅₀ / MIC ₉₀ (mg/L)	GM MIC (mg/L)	% μη-άγριου τύπου φαινότυπος
		≤0.008	0.016	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8			
<i>T. rubrum</i> (26)	Τερμπιναφίνη	10	<u>13</u>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	0.016/0.03	0.01	0%
	Βορικοναζόλη	-	-	<u>15</u>	9	2	-	-	-	-	-	-	0.03/0.06	0.04	0%
	Ιτρακοναζόλη	5	6	<u>11</u>	4	-	-	-	-	-	-	-	0.03/0.06	0.02	0%
<i>T. indotinae</i> (14)	Τερμπιναφίνη	-	-	-	-	-	-	-	<u>7</u>	-	3	4	1/8	2.44	100%
	Βορικοναζόλη	-	-	-	4	<u>6</u>	3	1	-	-	-	-	0.125/0.25	0.13	0%
	Ιτρακοναζόλη	4	<u>7</u>	2	1	-	-	-	-	-	-	-	0.016/0.03	0.02	0%
<i>T. interdigitale</i> (7)	Τερμπιναφίνη	-	<u>5</u>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.016/0.03	0.02	0%
	Βορικοναζόλη	-	-	1	<u>3</u>	<u>3</u>	-	-	-	-	-	-	0.06/0.125	0.07	0%
	Ιτρακοναζόλη	-	2	<u>4</u>	1	-	-	-	-	-	-	-	0.03/0.06	0.03	0%
<i>T. mentagrophytes</i> (4)	Τερμπιναφίνη	-	-	<u>3</u>	1	-	-	-	-	-	-	-	0.03/0.06	0.04	0%
	Βορικοναζόλη	-	-	-	-	1	<u>3</u>	-	-	-	-	-	0.25/0.25	0.21	0%
	Ιτρακοναζόλη	-	-	<u>3</u>	1	-	-	-	-	-	-	-	0.03/0.06	0.04	0%
<i>T. tonsurans</i> (8)	Τερμπιναφίνη	<u>6</u>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	≤0.008/0.016	0.01	0%
	Βορικοναζόλη	-	-	<u>4</u>	3	1	-	-	-	-	-	-	0.06/0.125	0.05	0%
	Ιτρακοναζόλη	<u>5</u>	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	≤0.008/0.03	0.01	0%

*Οι υπογραμμισμένοι αριθμοί υποδηλώνουν τις επικρατούσες τιμές, ενώ τα σκιαγραφημένα πεδία υποδηλώνουν τα μη-άγριου τύπου στελέχη.

4. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Η επιδημιολογία των δερματοφυτιών ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων χωρών, ακόμη και εντός των περιοχών της ίδιας χώρας. Ως εκ τούτου, η διεξαγωγή τοπικών επιδημιολογικών μελετών είναι ζωτικής σημασίας, καθώς οι περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου λόγω των κλιματικών αλλαγών, της μετανάστευσης του πληθυσμού και σοβαρών κοινωνικοοικονομικών συμβάντων (19), (20). Τέτοιες μελέτες μπορούν να προσφέρουν πολύτιμες γνώσεις σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου. Η τακτική επανεξέταση της κατανομής και του προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των παθογόνων στα διαθέσιμα αντιμυκητικά, ιδίως αυτά που χορηγούνται ως θεραπεία πρώτης γραμμής, είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική διαχείριση των λοιμώξεων από δερματόφυτα και την ανάπτυξη προγραμμάτων πρόληψης.

Κατά την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με την επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα, γίνεται εμφανές ότι οι υπάρχουσες μελέτες στη πλειοψηφία τους (60%) εστιάζουν σε δεδομένα προηγούμενων δεκαετιών (1980-2010). Από το 2010 και μετά, η Ελλάδα γνώρισε σημαντικές αλλαγές λόγω της οικονομικής κρίσης, που οδήγησαν σε κρίση υγείας, κοινωνικοοικονομικές αλλαγές και μεγάλη εισροή ξένων πληθυσμών, με αποτέλεσμα τα επιδημιολογικά δεδομένα να διαφέρουν αρκετά σε σύγκριση με τα προηγούμενα χρόνια. Οι αλλαγές αυτές επηρέασαν σημαντικά τον τομέα της υγείας, με τα νοσοκομεία να αντιμετωπίζουν πλέον ένα προφίλ ασθενών διαφορετικό από αυτό που είχαν συνηθίσει προηγουμένως. Συνεπώς, αυτά τα παλαιότερα δεδομένα δεν αντικατοπτρίζουν με ακρίβεια την τρέχουσα επιδημιολογική εικόνα της χώρας (24).

Οι δερματοφυτίες αντιπροσωπεύουν τον πιο κοινό τύπο μυκητικών λοιμώξεων (8), λόγω της ικανότητας των δερματοφύτων να προσβάλλουν άτομα όλων των ηλικιών και να παρουσιάζουν διάφορα κλινικά συμπτώματα. Παρόλο που παραδοσιακά το *T. rubrum* παγκοσμίως αποτελεί τον επικρατέστερο αιτιολογικό παράγοντα δερματοφυτίας, οι πρόσφατες αναφορές δείχνουν μια μετατόπιση στην κατανομή των ειδών, καθώς *T. indotineae*, ένα προσφάτως αναγνωρισμένο μέλος του γένους *Trichophyton* που σχετίζεται με την ινδική υποήπειρο, έχει αναδυθεί σε διάφορες περιοχές του κόσμου (90), συμπεριλαμβανομένης και της χώρας μας (46). Η αυξημένη συχνότητα απομόνωσής του προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία, καθώς το συγκεκριμένου είδους είναι συχνά ανθεκτικό στις συνήθως χρησιμοποιούμενες αντιμυκητικές θεραπείες, καθιστώντας τη διαχείριση των λοιμώξεων αυτών πιο δύσκολη (13). Οι παράγοντες που οδηγούν σε αυτή τη μετατόπιση περιλαμβάνουν τα αυξημένα διεθνή ταξίδια, τη μετανάστευση και την κακή ή υπερβολική χρήση αντιμυκητικών φαρμάκων, τα οποία μπορούν να προωθήσουν την εξάπλωση και την κυριαρχία ειδών όπως το *T. indotineae* (19). Επομένως, ενώ το *T. rubrum* παραμένει ένα σημαντικό παθογόνο, η άνοδος του *T. indotineae* αναδιαμορφώνει το τοπίο των λοιμώξεων από δερματόφυτα σε παγκόσμιο και τοπικό επίπεδο (46).

Η παρούσα μελέτη που αφορά στη διερεύνηση της επιδημιολογίας των δερματοφυτιών σε άτομα με κλινική υποψία της λοίμωξης που επισκέφτηκαν το Π.Γ.Ν. «Αττικόν» κατά την τριετία 2020-2022, έδειξε ότι η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης ανερχόταν στο 18%, ποσοστό παρόμοιο με αυτό που καταγράφηκε στο ίδιο νοσοκομείο κατά τη δεκαετία 2010-2019 (16%) (58). Η συχνότητα εμφάνισης στο γενικό πληθυσμό της Ελλάδας δε διαφέρει πολύ, με το ποσοστό τα τελευταία είκοσι χρόνια να κυμαίνεται από 11% (Κρήτη, 2011-2015) (83) έως

και 23% (Θεσσαλονίκη, 2010-2014) (81). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες που είχαν διεξαχθεί στις ίδιες γεωγραφικές περιοχές, είχαν καταγράψει αρκετά υψηλότερα ποσοστά, τα οποία κυμαίνονταν από 24% (Κρήτη, 1992-1996) (70) έως και 38% (Θεσσαλονίκη, 1981-1990) (66). Ως εκ τούτου, με την πάροδο των χρόνων και τη βελτίωση τόσο του επιπέδου υγείας όσο και των συνθηκών διαβίωσης, παρουσιάζεται πτώση της συχνότητας εμφάνισης των δερματοφυτιών. Επιπλέον, τα ευρήματά μας έρχονται σε συμφωνία με τα παγκόσμια επιδημιολογικά δεδομένα, όπου αναφέρεται ότι οι λοιμώξεις από δερματόφυτα επηρεάζουν ~20%-25% του πληθυσμού (1).

Η μελέτη μας υπέδειξε ότι το *T. rubrum* ήταν ο κυρίαρχος (33%) αιτιολογικός παράγοντας των δερματοφυτιών κατά την τριετία 2020-2022, επιβεβαιώνοντας προηγούμενη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο ίδιο νοσοκομείο για το διάστημα 2010-2019 (58). Συγκρίνοντας τα ευρήματά μας με αυτά επιδημιολογικών μελετών προηγούμενων χρόνων αναφορικά με την επιδημιολογική διερεύνηση της λοίμωξης στο γενικό πληθυσμό της χώρας μας, παρατηρούμε ότι ανά τα χρόνια τα δεδομένα που αναφέρονται σε αυτές παρουσιάζουν ποικιλομορφία. Αξίζει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με τη βιβλιογραφική μας ανασκόπηση οι μελέτες που τηρούν το παραπάνω κριτήριο είναι μόλις 7 από τις συνολικά 25, εκ των οποίων 4/7 αφορούν την Κρήτη (1992-2015) (70), (88), (78), (83), 2/7 τη Θεσσαλονίκη (1981-1990 και 2010-2014) (66), (81) και 1/7 την Πάτρα (1991-2008) (79). Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό απομόνωσης του *T. rubrum* ξεκινάει από 35% (83) και φτάνει έως και 63% (66), του *M. canis* παρουσιάζει ακόμα μεγαλύτερη διακύμανση, ξεκινώντας από 14% (66) μέχρι και 54% (81), ενώ του *T. interdigitale* παραμένει σε ποσοστό που κυμαίνεται από 8% (66) έως 18% (88). Η διαφορετική αυτή τάση στο διάστημα των χρόνων ίσως αποδίδεται και στις

κοινωνικοοικονομικές αλλαγές που μεσολάβησαν την ίδια χρονική περίοδο. Η Ελλάδα έχει βιώσει δύο σημαντικά μεταναστευτικά κύματα τα τελευταία χρόνια: το πρώτο σημειώθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990 μετά την κατάρρευση των κομμουνιστικών καθεστώτων στην Ανατολική Ευρώπη και τα Βαλκάνια και το δεύτερο συνεχίζεται από το 2015. Η μετακίνηση αυτών των πληθυσμών, ο καθένας με διαφορετικό κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο και οικολογία μολυσματικών ασθενειών, επηρεάζει αναπόφευκτα τα επιδημιολογικά πρότυπα των ασθενειών στη χώρα που τους φιλοξενεί (91).

Βέβαια, παρά τη χρησιμότητα των παραπάνω ερευνών, όπως προαναφέρθηκε, δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής αντίστοιχες μελέτες που να εστιάζουν στις δερματοφυτίες στο γενικό πληθυσμό της περιοχής της Αττικής. Δεδομένου ότι τα επιδημιολογικά δεδομένα μπορούν να διαφέρουν και εντός μιας χώρας, λόγω διαφορών των πληθυσμών και του κλίματος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι υπάρχει ένα επιδημιολογικό «κενό» όσον αφορά την Αθήνα, το οποίο έρχεται να καλύψει η μελέτη μας. Η κατανόηση της τοπικής επιδημιολογίας παρέχει στους κλινικούς γιατρούς τη δυνατότητα να προβλέπουν καλύτερα τις προκλήσεις που μπορεί να αντιμετωπίσουν οι ασθενείς τους. Με αυτή τη γνώση, μπορούν να προβλέπουν εκ των προτέρων τους πιθανούς κινδύνους και να παρέχουν έγκαιρη και αποτελεσματική θεραπεία.

Τα ευρήματα μας συμφωνούν με προηγούμενες επιδημιολογικές εκτιμήσεις σε παγκόσμιο επίπεδο (58). Ενδεικτικά, καλύπτοντας περιοχές με διαφορετικές γεωγραφικές κατανομές, το *T. rubrum* είναι το είδος με την υψηλότερη συχνότητα απομόνωσης τόσο στο Βιετνάμ (67%) (92) όσο και στη Βόρεια Αμερική (44%) (93), αποτελέσματα παρόμοια με αυτά των προαναφερθέντων ελληνικών μελετών. Συνεπώς, παρατηρούμε ότι παρότι οι συγκεκριμένες μελέτες έχουν λάβει χώρα σε τρεις διαφορετικές ηπείρους (Ασία, Ευρώπη,

Βόρεια Αμερική), ο επιπολασμός του *T. rubrum* φαίνεται να είναι παρόμοιος. Επίσης, στην Τουρκία (94), την Ελβετία (95) και την Κολομβία (96) καταγράφονται παρόμοια δεδομένα (56%, 61% και 44%, αντίστοιχα). Η ειδοποιός διαφορά σε σχέση με τα ελληνικά δεδομένα, είναι επιπολασμός του *M. canis*, ο οποίος στις παραπάνω μελέτες κυμαίνεται από 1,5% (94) έως και 3,5% (96). Μια πιθανή εξήγηση για αυτό το φαινόμενο έχει να κάνει με τον τρόπο μετάδοσης του *M. canis*, η οποία γίνεται από ζώα και ιδιαίτερα κατοικίδια. Η κατακόρυφη αύξηση των αδέσποτων ζώων στη χώρα μας σε συνδυασμό με την οικονομική κρίση που οδηγεί από μόνη της σε μεγαλύτερο αριθμό αδέσποτων ζώων και έλλειψη τακτικών επισκέψεων σε κτηνίατρο, μπορεί πιθανώς να εξηγήσει αυτή τη διαφορά.

Εν αντιθέσει, στη Σερβία, έχει αναφερθεί ότι στην πλειοψηφία τους οι δερματοφυτίες αποδίδονται σε ζωόφιλα είδη, κυρίως *M. canis* (64%) και σε μικρότερο βαθμό *T. mentagrophytes* (22%) (97). Παρόλο, δηλαδή, που οι ελληνικές μελέτες έχουν λάβει χώρα σε παρόμοια γεωγραφική περιοχή, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην κατανομή των δερματοφύτων. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στη συμπερίληψη ασθενών με διαφορετικό κοινωνικοοικονομικό υπόβαθρο, όπως για παράδειγμα άτομα που εργάζονται κοντά σε ζώα (αγρότες, κτηνοτρόφοι), οδηγώντας σε μεγαλύτερη πιθανότητα μετάδοσης.

Εστιάζοντας στα *Trichophyton* spp. καθώς αποτελούσαν την πλειοψηφία των παθογόνων στη μελέτη μας (75%), παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του *T. indotineae* (6% έναντι 24%) συνοδευόμενη από παράλληλη μείωση του *T. rubrum* (63% έναντι 44%) κατά τα έτη 2010-2019 (46) και 2020-2022, αντίστοιχα. Το εύρημα μας αυτό είναι άκρως σημαντικό καθώς είναι η πρώτη φορά που περιγράφεται στην Ελλάδα. Η χώρα μας όμως, δεν είναι η μόνη χώρα όπου έχει παρατηρηθεί αυτό το φαινόμενο. Ραγδαία επιδημιολογική

μετατόπιση της κατανομής των ειδών από *T. rubrum* σε *T. indotineae* έχει παρατηρηθεί σε χώρες της ινδικής υποηπείρου (36), ενώ αύξηση του επιπολασμού του *T. indotineae* έχει περιγραφεί και σε χώρες της Ευρώπης, όπως η Γερμανία, η Δανία και η Γαλλία (35). Η αυξημένη συχνότητα απομόνωσης του ανθρωπόφιλου *T. indotineae* στην Ευρώπη μπορεί να εξηγηθεί από την εισροή μεγάλου αριθμού ατόμων από την Ασία και τη Μέση Ανατολή, όπου το *T. indotineae* είχε πρωτοεμφανιστεί (57).

Μέχρι στιγμής, η πλειοψηφία των διενεργηθέντων επιδημιολογικών μελετών παγκοσμίως εστιάζουν στην περιγραφή της συχνότητας εμφάνισης των δερματοφυτιών, των παραγόντων κινδύνου και της κατανομής των ειδών. Λίγες είναι αυτές που περιγράφουν το προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των απομονωθέντων παθογόνων στα αντιμυκητικά, ενώ σε ελάχιστες ο έλεγχος έχει πραγματοποιηθεί με την πρότυπη μεθοδολογία μικροαραιώσεων κατά EUCAST (64), η οποία είναι η μόνη που έχει επικυρωθεί στο πλαίσιο πολυκεντρικής μελέτης (98). Ειδικότερα, στην Ελλάδα παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των ανθεκτικών στην τερμπιναφίνη δερματοφυτικών λοιμώξεων από *Trichophyton* τα έτη 2020-2022 (24%) συγκριτικά με τη δεκαετία 2010-2019 (6%) (46). Μελέτες από τη Δανία, την Ιταλία, τη Γαλλία και την Ινδία, στα πλαίσια των οποίων πραγματοποιήθηκε έλεγχος ευαισθησίας με τη μεθοδολογία της EUCAST, υπέδειξαν αντοχή των εξεταζόμενων στελεχών *T. indotineae* έναντι της τερμπιναφίνης, όπως και στην παρούσα μελέτη (37), (99), (100), (101), (102), (103). Στις περισσότερες από αυτές, ελέγχθηκε το προφίλ ευαισθησίας των *Trichophyton* spp. σε περισσότερους από δύο αντιμυκητικούς παράγοντες.

Τα αποτελέσματα της μελέτης από τη Δανία (99) ήταν παρόμοια με τα δικά μας, καθώς και στις δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των ανθεκτικών στην

τερμπιναφίνη *Trichophyton* spp. με την πάροδο του χρόνου. Σημαντική διαφορά, όμως, είναι ότι στη Δανία το υψηλότερο ποσοστό αντοχής στην τερμπιναφίνη εμφάνιζε το *T. rubrum* (56%), ενώ στην Ελλάδα το *T. indotineae* (100%). Μάλιστα, την περίοδο 2019-2020 περιγράφηκε για πρώτη φορά στη Δανία κλινικό στέλεχος *T. indotineae* με φαινότυπο μη-άγριου τύπου στην τερμπιναφίνη (99), (100). Οι μελέτες από τη Γαλλία κατέγραψαν αντοχή στην τερμπιναφίνη, κυρίως σε στελέχη *T. indotineae* (17%-57%) και σπανίως σε *T. interdigitale* (1%) και *T. rubrum* (0,2%) (37), (102), όπως και στη μελέτη μας όπου δεν προσδιορίστηκε αντοχή σε στελέχη που ανήκαν στα δύο τελευταία *Trichophyton* spp. Παράλληλα, στην Ινδία περιγράφηκαν στελέχη *T. indotineae* με ποσοστό αντοχής στην τερμπιναφίνη της τάξης του 44% (103). Τέλος, στην Ιταλία εξετάστηκαν στελέχη που απομονώθηκαν από πέντε ασθενείς χωρίς κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία με τερμπιναφίνη (ένα *T. rubrum* και τέσσερα *T. indotineae*), τα οποία βρέθηκαν ανθεκτικά στην τερμπιναφίνη, αλλά όχι στην ιτρακοναζόλη (101).

Η παρούσα μελέτη σκιαγραφεί τη σύγχρονη επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα, συμβάλλοντας στο να μπορεί πιο εύκολα ένας κλινικός γιατρός να «προβλέψει» τι θα συναντήσει σε κάποιον ασθενή με συνέπεια ο «κίνδυνος» να μπορεί να εκτιμηθεί έγκαιρα και να αντιμετωπιστεί κατάλληλα.. Τα ευρήματά μας, και ιδιαίτερα η αυξημένη συχνότητα καταγραφής ανθεκτικών στην τερμπιναφίνη λοιμώξεων, υποδεικνύουν ότι υπάρχει ανάγκη για συνεχή τοπική επιτήρηση και λήψη κατάλληλων μέτρων αντιμετώπισης της νόσου. Η χορήγηση των αντιμυκητικών φαρμάκων δε θα πρέπει να γίνεται αλόγιστα, ενώ το αντιμυκητόγραμμα αποτελεί ένα σημαντικό εργαστηριακό εργαλείο για την αποτελεσματική διαχείριση των δερματοφυτιών, ιδίως σε περιπτώσεις που ο ασθενής δεν ανταποκρίνεται στη θεραπεία.

Μελλοντικά, απαιτείται βελτιωμένη, συχνότερη και συστηματική συλλογή δεδομένων τόσο από κλινικές όσο και από εργαστηριακές πηγές. Η διεξαγωγή πολυκεντρικών επιδημιολογικών μελετών σε διάφορες περιοχές, τόσο εντός όσο και εκτός των εθνικών συνόρων, μπορεί να προσφέρει μια πιο καθολική κατανόηση των τάσεων της νόσου. Τέτοιου είδους συνεργατικές ερευνητικές προσπάθειες αποτελούν το κλειδί για την πρόβλεψη πιθανών αλλαγών στα επιδημιολογικά πρότυπα. Έχοντας πρόσβαση σε αξιόπιστα, επικαιροποιημένα δεδομένα, οι επιστήμονες και οι επαγγελματίες υγείας θα είναι καλύτερα προετοιμασμένοι να ανταποκριθούν στις αναδυόμενες προκλήσεις στον τομέα της υγείας, εξασφαλίζοντας ότι διαθέτουν τις κρίσιμες πληροφορίες που χρειάζονται για να λαμβάνουν τεκμηριωμένες αποφάσεις και να παρέχουν τη βέλτιστη δυνατή φροντίδα στους ασθενείς.

Συμμετοχή σε δράσεις διάχυσης της μελέτης

Μέρος των ευρημάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας παρουσιάστηκαν σε διεθνές συνέδριο με κριτές.

M. Siopi, M. Kantidenou, G. Vitaliotis, K. Theodoropoulos, S. Pournaras, J. Meletiadis. Update on the antifungal susceptibility pattern of Trichophyton isolates in Greece: alarming rise in terbinafine-resistant *T. indotineae* (P2795, αναρτημένη ανακοίνωση). ESCMID Global 2024, 27-30/04/2024, Barcelona, Spain.

Βιβλιογραφία

1. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008;
2. Coulibaly O, L'Ollivier C, Piarroux R, Ranque S. Epidemiology of human dermatophytoses in Africa. Vol. 56, *Medical Mycology*. 2018.
3. Verma SB, Panda S, Nenoff P, Singal A, Rudramurthy SM, Uhrlass S, et al. The unprecedented epidemic-like scenario of dermatophytosis in India: I. Epidemiology, risk factors and clinical features. Vol. 87, *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2021.
4. Benedict K, Jackson BR, Chiller T, Beer KD. Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States. *Clin Infect Dis*. 2019 May 17;68(11).
5. Fiammenghi E, Patalano A, Conte V Lo, Calabrò G. Cost analysis of inappropriate treatments for suspected dermatomycoses. *Farmaeconomia Health economics and therapeutic pathways*. 2015 Jun 30;16(2):39–44.
6. Jartarkar SR, Patil A, Goldust Y, Cockerell CJ, Schwartz RA, Grabbe S, et al. Pathogenesis, Immunology and Management of Dermatophytosis. Vol. 8, *Journal of Fungi*. 2022.
7. Martinez-Rossi NM, Bitencourt TA, Peres NTA, Lang EAS, Gomes E V., Quaresemin NR, et al. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: Mechanisms and prospectus. *Front Microbiol*. 2018 May 29;9(MAY):374718.
8. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. *Journal of Fungi* 2017, Vol 3, Page 57. 2017;3(4):57.
9. White TC, Oliver BG, Gräser Y, Henn MR. Generating and testing molecular hypotheses in the dermatophytes. *Eukaryot Cell*. 2008 Aug;7(8):1238–45.
10. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017 Feb 1;182(1–2):5–31.

11. Zhan P, Liu W. The Changing Face of Dermatophytic Infections Worldwide. *Mycopathologia*. 2017 Feb 1;182(1–2):77–86.
12. Tang C, Zhou X, Guillot J, Wibbelt G, Deng S, Kandemir H, et al. Dermatophytes and mammalian hair: aspects of the evolution of Arthrodermataceae. *Fungal Divers*. 2024;125(1).
13. Monod M. Antifungal resistance in dermatophytes: Emerging problem and challenge for the medical community. Vol. 29, *Journal de Mycologie Medicale*. 2019.
14. de Hoog S, Monod M, Dawson T, Boekhout T, Mayser P, Gräser Y. Skin Fungi from Colonization to Infection. *Microbiol Spectr*. 2017;5(4).
15. Deng R, Wang X, Li R. Dermatophyte infection: from fungal pathogenicity to host immune responses. *Front Immunol*. 2023;14.
16. Rouzaud C, Hay R, Chosidow O, Dupin N, Puel A, Lortholary O, et al. Severe dermatophytosis and acquired or innate immunodeficiency: A review. Vol. 2, *Journal of Fungi*. 2016.
17. Durdu M, Ilkit M. Strategies to improve the diagnosis and clinical treatment of dermatophyte infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2023;21(1):29–40.
18. Kovitwanichkanont T, Chong AH. Superficial fungal infections. Vol. 48, *Australian journal of general practice*. 2019.
19. Dayrit JF, Sugiharto A, Coates SJ, Lucero-Prisno DE, Davis MDD, Andersen LK. Climate change, human migration, and skin disease: is there a link? *Int J Dermatol*. 2022 Feb 1;61(2):127–38.
20. Seidel D, Wurster S, Jenks JD, Sati H, Gangneux JP, Egger M, et al. Impact of climate change and natural disasters on fungal infections. *Lancet Microbe*. 2024 Jun 1;5(6):e594–605.
21. Coulibaly O, Kone AK, Niaré-Doumbo S, Goïta S, Gaudart J, Djimdé AA, et al. Dermatophytosis among Schoolchildren in Three Eco-climatic Zones of Mali. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(4).

22. Segal E, Elad D. Human and Zoonotic Dermatophytoses: Epidemiological Aspects. *Front Microbiol.* 2021 Aug 6;12.
23. Charpantidis S, Siopi M, Pappas G, Theodoridou K, Tsiamis C, Samonis G, et al. Changing Epidemiology of Tinea Capitis in Athens, Greece: The Impact of Immigration and Review of Literature. *Journal of Fungi.* 2023 Jul 1;9(7).
24. Cavounidis J. The migration experience of Greece and the impact of the economic crisis on its migrant and native populations. *Eur J Public Health.* 2018;28.
25. Begum J, Mir NA, Lingaraju MC, Buyamayum B, Dev K. Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis. *J Basic Microbiol.* 2020 Apr 31;60(4):293–303.
26. Μιχαήλογλου-Φραγκούλη Ε. Επιπολής μυκητιάσεις. Εργαστηριακή διάγνωση. Αθήνα: Εκδόσεις Καύκας ; 2009.
27. Aboul-Ella H, Hamed R, Abo-Elyazeed H. Recent trends in rapid diagnostic techniques for dermatophytosis. *Int J Vet Sci Med.* 2020 Jan 1;8(1):115–23.
28. Mesquita JR, Vasconcelos-Nóbrega C, Oliveira J, Coelho C, Vala H, Fratti M, et al. Epizootic and epidemic dermatophytose outbreaks caused by *Trichophyton mentagrophytes* from rabbits in Portugal, 2015. *Mycoses.* 2016 Oct 13;59(10):668–73.
29. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 1995 Apr;8(2):240–59.
30. Aneja KR, Joshi R, Sharma C, Surain P, Aneja A. Biodiversity of dermatophytes: An overview. *Rev Plant Patho.* 2012;5:299–314.
31. Berg H. Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis - Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. In: *Gel Electrophoresis - Principles and Basics.* InTech; 2012.
32. Sanglard D. Emerging Threats in Antifungal-Resistant Fungal Pathogens. *Front Med (Lausanne).* 2016 Mar 15;3.

33. Centers for Disease Control and Prevention. Information for Healthcare Providers: Emerging Ringworm [Internet]. 2024 [cited 2024 Sep 9]. Available from: <https://www.cdc.gov/ringworm/hcp/clinician-brief-resistant-infections/index.html>
34. Sacheli R, Hayette MP. Antifungal Resistance in Dermatophytes: Genetic Considerations, Clinical Presentations and Alternative Therapies. *Journal of Fungi*. 2021 Nov 18;7(11):983.
35. Nenoff P, Verma SB, Ebert A, Süß A, Fischer E, Auerswald E, et al. Spread of Terbinafine-Resistant *Trichophyton mentagrophytes* Type VIII (India) in Germany—"The Tip of the Iceberg?" *Journal of Fungi*. 2020 Oct 5;6(4):207.
36. Uhrlaß S, Verma SB, Gräser Y, Rezaei-Matehkolaei A, Hatami M, Schaller M, et al. *Trichophyton indotineae*—An Emerging Pathogen Causing Recalcitrant Dermatophytoses in India and Worldwide—A Multidimensional Perspective. *Journal of Fungi*. 2022 Jul 21;8(7):757.
37. Jabet A, Brun S, Normand AC, Imbert S, Akhouni M, Dannaoui E, et al. Extensive Dermatophytosis Caused by Terbinafine-Resistant *Trichophyton indotineae*, France. *Emerg Infect Dis*. 2022 Jan;28(1):229–33.
38. Herrick EJ, Patel P, Hashmi MF. Antifungal Ergosterol Synthesis Inhibitors. 2024.
39. Hammoudi Halat D, Younes S, Mourad N, Rahal M. Allylamines, Benzylamines, and Fungal Cell Permeability: A Review of Mechanistic Effects and Usefulness against Fungal Pathogens. *Membranes (Basel)*. 2022 Nov 22;12(12):1171.
40. Gupta AK, Cooper EA. Update in Antifungal Therapy of Dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008 Nov 14;166(5–6):353–67.
41. Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genetics and Biology*. 2019 Nov;132:103255.
42. Jeyam M, Arangaraj M, Ravikumar P, Shalini G. Computational analysis of phytocompounds with 1,3- β -D-Glucan synthase for antidermatophytic activity. *J Appl Pharm Sci*. 2014;64–9.
43. Hay R. Therapy of Skin, Hair and Nail Fungal Infections. *J Fungi (Basel)*. 2018 Aug 20;4(3).

44. Αριστέα Βελεγράκη, Μιχάλης Αραμπατζής. Μυκητιάσεις δέρματος - Δερματόφυτα. 2007 [cited 2024 Sep 22]. Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών. Available from: <http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=869>
45. Ion A, Popa LG, Porumb-Andrese E, Dorobanțu AM, Tătar R, Giurcăneanu C, et al. A Current Diagnostic and Therapeutic Challenge: Tinea Capitis. *J Clin Med*. 2024;13(2).
46. Siopi M, Efstathiou I, Theodoropoulos K, Pournaras S, Meletiadis J. Molecular Epidemiology and Antifungal Susceptibility of Trichophyton Isolates in Greece: Emergence of Terbinafine-Resistant Trichophytonmentagrophytes Type VIII Locally and Globally. *Journal of Fungi*. 2021 May 27;7(6):419.
47. Hube B, Hay R, Brasch J, Veraldi S, Schaller M. Dermatomycoses and inflammation: The adaptive balance between growth, damage, and survival. *J Mycol Med*. 2015 Mar;25(1):e44-58.
48. Sinha S, Sardana K. Antifungal efficacy of amphotericin b against dermatophytes and its relevance in recalcitrant dermatophytoses: A commentary. *Indian Dermatol Online J*. 2018;9(2):120.
49. Martinez-Rossi NM, Peres NTA, Bitencourt TA, Martins MP, Rossi A. State-of-the-Art Dermatophyte Infections: Epidemiology Aspects, Pathophysiology, and Resistance Mechanisms. *J Fungi (Basel)*. 2021 Aug 3;7(8).
50. Choudhary N, Panday D, Mishra D, Lahiri K, Sil A, Chaddha R. Over-the-Counter Medicine-Seeking Behavior in Patients With Dermatophyte Infections Across Various Socioeconomic Strata: A Cross-Sectional Study. *Cureus*. 2024 Jan;16(1):e51686.
51. Sahoo AK, Mahajan R. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian Dermatol Online J*. 2016;7(2):77–86.
52. Cresnar B, Zakelj-Mavric M. Aspects of the steroid response in fungi. *Chem Biol Interact*. 2009 Mar 16;178(1–3):303–9.
53. Mukherjee PK, Leidich SD, Isham N, Leitner I, Ryder NS, Ghannoum MA. Clinical *Trichophyton rubrum* Strain Exhibiting Primary Resistance to Terbinafine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Jan;47(1):82–6.

54. Singh A, Masih A, Khurana A, Singh PK, Gupta M, Hagen F, et al. High terbinafine resistance in *Trichophyton interdigitale* isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene. *Mycoses*. 2018 Jul 27;61(7):477–84.
55. Verma Shyam B. Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(7):718–9.
56. Bishnoi A, Vinay K, Dogra S. Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India. *Lancet Infect Dis*. 2018 Mar;18(3):250–1.
57. Jia S, Long X, Hu W, Zhu J, Jiang Y, Ahmed S, et al. The epidemic of the multiresistant dermatophyte *Trichophyton indotineae* has reached China. *Front Immunol*. 2022;13:1113065.
58. Ευσταθίου Ιωάννα. Η επιδημιολογία των δερματοφύτων. Μοριακή ταυτοποίηση και έλεγχος ευαισθησίας στα αντιμυκητιακά φάρμακα. 2020.
59. QIAGEN. QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook [Internet]. 2024 [cited 2024 Aug 25]. Available from: <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=62a200d6-faf4-469b-b50f-2b59cf738962&lang=en&srsId=AfmBOoqeoq2d1YeUlhwZLChjn6lupGYoAnAPPtK-wasfCMyD3zYvVNbX>
60. Alastruey-Izquierdo A, Mellado E, Peláez T, Pemán J, Zapico S, Alvarez M, et al. Population-based survey of filamentous fungi and antifungal resistance in Spain (FILPOP Study). *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Jul;57(7):3380–7.
61. PCR clean-up and Gel extraction [Internet]. [Internet]. 2023 [cited 2024 Aug 25]. Available from: Available from: <https://www.mn-net.com/media/pdf/02/1a/74/Instruction-NucleoSpin-Gel-and-PCR-Clean-up.pdf>
62. Habeb KA, Maikhan HK, Rachid SK. Molecular Identification of Dermatophytes among Clinical Isolates. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*. 2016;5(2):108–18.
63. Basic Local Alignment Search Tool [Internet]. [Internet]. 2023 [cited 2024 Aug 25]. Available from: Available from: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

64. Arendrup MC, Kahlmeter G, Guinea J, Meletiadis J. How to: perform antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes following the new reference EUCAST method E.Def 11.0, exemplified by *Trichophyton*. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 Jan;27(1):55–60.
65. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.4, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures. Version 4.0 [Internet]. 2023 [cited 2024 Aug 25]. Available from: <http://www.eucast.org>.
66. Devliotou-Panagiotidou D, Koussidou-Eremondi T, Badillet G. Dermatophytosis in northern Greece during the decade 1981-1990. *Mycoses*. 1995;38(3–4):151–7.
67. Devliotou-Panagiotidou D, Koussidou-Eremondi T, Karakatsanis G, Minas A, Chrysomallis F, Badillet G. Dermatophytosis due to *Trichophyton rubrum* in northern Greece during the decade 1981-1990. *Mycoses*. 1992;35(11–12):375–80.
68. Devliotou-Panagiotidou D, Koussidou-Eremondi T, Chaidemenos GC, Theodoridou M, Minas A. Tinea capitis in adults during 1981-95 in northern Greece. *Mycoses*. 2001 Nov;44(9–10):398–400.
69. Koussidou-Eremondi T, Devliotou-Panagiotidou D, Mourellou-Tsatsou O, Fotidou D, Minas A. Tinea capitis in children in northern Greece during the period 1981-1995. *Mycoses*. 1999;42(4):319–22.
70. Maraki S, Tselentis Y. Dermatophytoses in Crete, Greece, between 1992 and 1996. *Mycoses*. 1998;41(3–4):175–8.
71. Rigopoulos D, Katsiboulas V, Koumantaki E, Emmanouil P, Papanicolaou A, Katsambas A. Epidemiology of onychomycosis in southern Greece. *Int J Dermatol*. 1998 Dec;37(12):925–8.
72. Koussidou T, Devliotou-Panagiotidou D, Karakatsanis G, Minas A, Mourellou O, Samara K. Onychomycosis in Northern Greece during 1994-1998. *Mycoses*. 2002 Feb;45(1–2):29–37.
73. Maraki S, Tselentis Y. Survey on the epidemiology of *Microsporum canis* infections in Crete, Greece over a 5-year period. *Int J Dermatol*. 2000 Jan;39(1):21–4.

74. Koussidou-Eremondi T, Devliotou-Panagiotidou D, Mourellou-Tsatsou O, Minas A. Epidemiology of dermatomycoses in children living in Northern Greece 1996-2000. *Mycoses*. 2005 Jan;48(1):11–6.
75. Ioannidou DJ, Maraki S, Krasagakis SK, Tosca A, Tselentis Y. The epidemiology of onychomycoses in Crete, Greece, between 1992 and 2001. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006 Feb;20(2):170–4.
76. Frangoulis E, Athanasopoulou B, Katsambas A. Etiology of tinea capitis in Athens, Greece -- a 6-year (1996-2001) retrospective study. *Mycoses*. 2004 Jun;47(5–6):208–12.
77. Frangoulis E, Papadogeorgakis H, Athanasopoulou B, Katsambas A. Superficial mycoses due to *Trichophyton violaceum* in Athens, Greece: a 15-year retrospective study. *Mycoses*. 2005 Nov;48(6):425–9.
78. Maraki S, Nioti E, Mantadakis E, Tselentis Y. A 7-year survey of dermatophytoses in Crete, Greece. *Mycoses*. 2007 Nov;50(6):481–4.
79. Tsoumani M, Jelastopulu E, Bartzavali C, Vamvakopoulou S, Dimitracopoulos G, Anastassiou ED, et al. Changes of dermatophytoses in southwestern Greece: an 18-year survey. *Mycopathologia*. 2011 Jul;172(1):63–7.
80. Chokoeva AA, Zisova L, Sotiriou E, Miteva-Katrandzhieva T. Tinea capitis: a retrospective epidemiological comparative study. *Wien Med Wochenschr*. 2017 Mar;167(3–4):51–7.
81. Nasr A, Vyzantiadis TA, Patsatsi A, Louka A, Ioakimidou A, Zachrou E, et al. Epidemiology of superficial mycoses in Northern Greece: a 4-year study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 May;30(5):837–9.
82. Maraki S, Mavromanolaki VE. Epidemiology of onychomycosis in Crete, Greece: a 12-year study. *Mycoses*. 2016 Dec;59(12):798–802.
83. Maraki S, Mavromanolaki VE. Epidemiology of Dermatophytoses in Crete, Greece. *Med Mycol J*. 2016;57(4):E69–75.
84. Sakkas H, Kittas C, Kapnisi G, Priavali E, Kallinteri A, Bassukas ID, et al. Onychomycosis in Northwestern Greece Over a 7-Year Period. *Pathogens*. 2020 Oct 17;9(10).

85. Gregoriou S, Mpali N, Vrioni G, Hatzidimitriou E, Chryssou SE, Rigopoulos D. Epidemiology of Onychomycosis in an Academic Nail Unit in South Greece during a Three-Year Period. *Skin Appendage Disord*. 2020 Mar;6(2):102–7.
86. Tsentemeidou A, Vyzantiadis TA, Kyriakou A, Sotiriadis D, Patsatsi A. Prevalence of onychomycosis among patients with nail psoriasis who are not receiving immunosuppressive agents: Results of a pilot study. *Mycoses*. 2017 Dec;60(12):830–5.
87. Zisova L, Valtchev V, Sotiriou E, Gospodinov D, Mateev G. Onychomycosis in patients with psoriasis--a multicentre study. *Mycoses*. 2012 Mar;55(2):143–7.
88. Maraki S. Epidemiology of dermatophytoses in Crete, Greece between 2004 and 2010. *G Ital Dermatol Venereol*. 2012 Jun;147(3):315–9.
89. Saunte DML, Pereiro-Ferreirós M, Rodríguez-Cerdeira C, Sergeev AY, Arabatzis M, Prohić A, et al. Emerging antifungal treatment failure of dermatophytosis in Europe: take care or it may become endemic. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Jul;35(7):1582–6.
90. Jabet A, Normand AC, Brun S, Dannaoui E, Bachmeyer C, Piarroux R, et al. Trichophyton indotineae, from epidemiology to therapeutic. Vol. 33, *Journal of Medical Mycology*. 2023.
91. Castelli F, Sulis G. Migration and infectious diseases. *Clin Microbiol Infect*. 2017 May 1;23(5):283–9.
92. Do NA, Nguyen TD, Nguyen KL, Le TA. Distribution of Species of Dermatophyte Among Patients at a Dermatology Centre of Nghean Province, Vietnam, 2015-2016. *Mycopathologia*. 2017 Dec 1;182(11–12):1061–7.
93. Cañete-Gibas CF, Mele J, Patterson HP, Sanders CJ, Ferrer D, Garcia V, et al. Terbinafine-Resistant Dermatophytes and the Presence of Trichophyton indotineae in North America. *J Clin Microbiol*. 2023;61(8).
94. Ozkutuk A, Ergon C, Yulug N. Species distribution and antifungal susceptibilities of dermatophytes during a one year period at a university hospital in Turkey. *Mycoses*. 2007 Mar;50(2):125–9.

95. Bontems O, Fratti M, Salamin K, Guenova E, Monod M. Epidemiology of dermatophytoses in Switzerland according to a survey of dermatophytes isolated in Lausanne between 2001 and 2018. *Journal of Fungi*. 2020;6(2).
96. Carrascal-Correa DF, Zuluaga A, González A. Species distribution of the main aetiologic agents causing skin dermatophytosis in Colombian patients: A 23-year experience at a Mycological Reference Center. *Mycoses*. 2020;63(5).
97. Otašević S, Momčilović S, Golubović M, Ignjatović A, Rančić N, Đorđević M, et al. Species distribution and epidemiological characteristics of superficial fungal infections in Southeastern Serbia. *Mycoses*. 2019;62(5).
98. Arendrup MC, Jørgensen KM, Guinea J, Lagrou K, Chryssanthou E, Hayette MP, et al. Multicentre validation of a EUCAST method for the antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020 Jul 1;75(7):1807–19.
99. Astvad KMT, Hare RK, Jørgensen KM, Saunte DML, Thomsen PK, Arendrup MC. Increasing Terbinafine Resistance in Danish Trichophyton Isolates 2019-2020. *J Fungi (Basel)*. 2022 Jan 31;8(2).
100. Saunte DML, Hare RK, Jørgensen KM, Jørgensen R, Deleuran M, Zachariae CO, et al. Emerging Terbinafine Resistance in *Trichophyton* : Clinical Characteristics, Squalene Epoxidase Gene Mutations, and a Reliable EUCAST Method for Detection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Oct;63(10).
101. Bortoluzzi P, Prigitano A, Sechi A, Boneschi V, Germiniasi F, Esposito MC, et al. Report of terbinafine resistant *Trichophyton* spp. in Italy: Clinical presentations, molecular identification, antifungal susceptibility testing and mutations in the squalene epoxidase gene. *Mycoses*. 2023 Aug;66(8):680–7.
102. Moreno-Sabater A, Normand AC, Bidaud AL, Cremer G, Foulet F, Brun S, et al. Terbinafine Resistance in Dermatophytes: A French Multicenter Prospective Study. *J Fungi (Basel)*. 2022 Feb 23;8(3).

103. Bidaud AL, Schwarz P, Chowdhary A, Dannaoui E. In Vitro Antifungal Combination of Terbinafine with Itraconazole against Isolates of Trichophyton Species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022 Jan 18;66(1):e0144921.

Παραρτήματα

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1. Παγκόσμια επιβάρυνση από μυκητικές λοιμώξεις.

Εικόνα 2. Πολυτοπική φυλογενετική ταξινόμηση των δερματοφύτων.

Εικόνα 3. Ταξινόμηση των δερματοφύτων σύμφωνα με το βióτοπο και την οδό μετάδοσής τους.

Εικόνα 4. Λοιμογονικοί παράγοντες των δερματοφύτων που εμπλέκονται στην κερατινόλυση.

Εικόνα 5. Είδη δερματοφυτικής λοίμωξης (tinea) ανάλογα με το σημείο εντοπισμού της.

Εικόνα 6. Κλινικές εκδηλώσεις δερματοφυτιών. Από αριστερά προς τα δεξιά: τριχωτό κεφαλής παιδιατρικού ασθενούς με tinea capitis, ερυθματώδεις, φολιδωτές βλατίδες στο πρόσωπο παιδιατρικού ασθενούς με tinea facialis, περιφερική-άπω πλάγια tinea unguium.

Εικόνα 7. Επιδράσεις της κλιματικής αλλαγής και διαφόρων κοινωνικοοικονομικών παραμέτρων στην επίπτωση των μυκητικών λοιμώξεων.

Εικόνα 8. Άμεση μικροσκοπική εξέταση ξεσμάτων όνυχος μετά την κατεργασία τους με διάλυμα χρωστικής Blankophor P (ΚΟΗ 20%). Στις καλλιέργειες των δειγμάτων απομονώθηκαν *Trichophyton* spp. (εικόνες από τη συλλογή του Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»).

Εικόνα 9. Αλλαγή του χρώματος του DTM από κίτρινο σε ερυθρό κατόπιν της ανάπτυξης *Trichophyton* spp. στο μεσαίο και το δεξί φιαλίδιο. Μη ενοφθαλμισμένο φιαλίδιο στα αριστερά.

Εικόνα 10. Μακροσκοπική μορφολογία αποικιών *Trichophyton* spp. σε τρυβλία άγαρ γλυκόζης Sabouraud με χλωραμφενικόλη και γενταμικίνη (Sabouraud glucose agar with chloramphenicol and gentamicin, SCG) (πρόσθια [αριστερά] και οπίσθια [δεξιά] επιφάνεια, εικόνες από τη συλλογή του Τμήματος Μυκητολογίας, Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, Π.Γ.Ν. «Αττικόν»).

Εικόνα 11. Μορφολογία α) μικροκονιδίων και β) μακροκονιδίων ειδών του γένους *Microsporum*, *Trichophyton* και *Epidermophyton*.

Εικόνα 12. Σχηματική αναπαράσταση της σύστασης της κυτταρικής μεμβράνης και του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων, καθώς και των στόχων των αντιμυκητικών φαρμάκων.

Εικόνα 13. Προτεινόμενα σχήματα συστηματικής θεραπείας δερματοφυτιών.

Εικόνα 14. Μηχανισμοί που προάγουν την εμφάνιση αντοχής στα δερματόφυτα.

Εικόνα 15. Η εμφάνιση και η παγκόσμια εξάπλωση του *T. indotineae*.

Εικόνα 16. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την απομόνωση DNA με στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini.

Εικόνα 17. ITS περιοχή του πυρηνικού rDNA.

Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για τον καθαρισμό των προϊόντων της αντίδρασης PCR με τη δοκιμασία NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up.

Εικόνα 19. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της αντίδρασης PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 2% w/v.

Εικόνα 20. Αλληλουχία αναγνώρισης της περιοριστικής ενδονουκλεάσης MvaI.

Εικόνα 21. Αποστείρωση θρεπτικού υλικού RPMI με φιλτράρισμα.

Εικόνα 22. Σχηματική απεικόνιση της ροής εργασίας για την πραγματοποίηση κατά ISO αραιώσεων stock διαλύματος αντιμυκητικού που διαλύεται σε οργανικό διαλύτη, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 0,008-8 mg/L.

Εικόνα 23. Σχηματική αναπαράσταση της ροής εργασίας για την παρασκευή διαλυμάτων εργασίας αντιμυκητικού, με επιθυμητό εύρος τελικών εξεταζόμενων συγκεντρώσεων 2-8 mg/L.

Εικόνα 24. Σχηματική απεικόνιση της διάταξης της πλάκας μικροτιτλοδότησης 96-βοθρίων που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη.

Εικόνα 25. Οπτική παρατήρηση πλάκας μικροτιτλοδότησης με τη βοήθεια ανάστροφου καθρέφτη.

Εικόνα 26. Ετήσια συχνότητα εμφάνισης περιστατικών δερματοφυτιάς στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν».

Εικόνα 27. Κατανομή *Trichophyton* spp. στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν».

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1. Συστατικά της αντίδρασης PCR και απαιτούμενοι όγκοι τους για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2.

Πίνακας 2. Πρόγραμμα της αντίδρασης PCR για την ενίσχυση της περιοχής ITS1-5.8S-ITS2.

Πίνακας 3. Επιδημιολογία των δερματοφυτιών στην Ελλάδα όπως περιγράφεται σε διάφορες μελέτες, οι οποίες παρουσιάζονται με χρονολογική σειρά.

Πίνακας 4. Προφίλ της *in vitro* ευαισθησίας των στελεχών *Trichophyton spp.* στα αντιμυκητικά.