

# Ενδιαφέρουσα περίπτωση

Νέο είδος *Emericella* από νύχια χεριών ασθενούς με ονυχόλυση.  
Νέο ευκαιριακά παθογόνο;

Μ. Δρογκάρη-Απειρανθίτου<sup>1</sup>, Α. Τραυλός<sup>2</sup>, Α. Τσακρής<sup>3</sup>, Γ. Πετρίκος<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Λοιμώξεων, Δ' Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο "Αττικών", Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

<sup>2</sup> Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο "Λαϊκό", Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

<sup>3</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



## Περίληψη

Παρουσιάζεται περίπτωση ασθενούς με σημεία ονυχόλυσης στα περισσότερα νύχια των χεριών. Πρόκειται για άνδρα 38 ετών, κατά τα άλλα υγιή, χωρίς επιβαρυντικούς παράγοντες ή κάποια εμφανή ανοσοκαταστολή. Σε καλλιέργεια από ξέσματα των νυχιών σε Sabouraud άγαρ αναπτύχθηκε μύκητας ο οποίος μικροσκοπικά χαρακτηριζόταν από υφές και άφθονα Hülle cells. Στην ανακαλλιέργεια αναπτύχθηκε με τη μορφή αναμόρφου (ασπεργίλλου) με κονιδιοφόρους με διαφραγμάτια και κεφαλές με διπλή σειρά φιαλίδων. Μετά από περίπου 4 εβδομάδες παρατηρήθηκε στο καλλιέργημα πληθώρα κλειστοθηκών με ασκούς που περιείχαν ασκοσπόρια σε σχήμα αστέρα. Η αλληλούχιση των περιοχών ITS, β-τουμπουλίνης και καλμοντουλίνης του γονιδιώματος έδειξε 100% ομολογία με τον μύκητα *Emericella stella-maris*, ένα νέο είδος *Emericella* που περιγράφηκε μόλις πρόσφατα. Η παρούσα περίπτωση είναι η πρώτη κλινική περίπτωση από την οποία απομονώθηκε το καινούργιο αυτό είδος *Emericella*. Ο ρόλος ωστόσο του μύκητα αυτού ως παθογόνου παραμένει αδιευκρίνιστος.



### Λέξεις κλειδιά

ονυχόλυση, ονυχομυκητίαση,  
*Emericella stella-maris*

### Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Μ. Δρογκάρη-Απειρανθίτου  
Δ' Παθολογική Κλινική, Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»  
Ρίμνι 1, 12462 Χαϊδάρι  
Τηλ.: 210 5831989,  
Fax: 210 5326446

## Εισαγωγή

Η αιτιολογία της ονυχόλυσης ποικίλλει. Στη διαφορική διάγνωση περιλαμβάνονται κυρίως η ψωρίαση των ονύχων και η ονυχομυκητίαση. Η ονυχομυκητίαση είναι μία χρόνια νόσος που θεραπεύεται δύσκολα. Μπορεί να προκληθεί κυρίως από δερματόφυτα, αλλά και από ζυμομύκητες, όπως και από μη-δερματοφυτικούς υφομύκητες. Τα τελευταία χρόνια αναφέρονται όλο και περισσότερα περιστατικά από μη-δερματόφυτα. Η επίπτωση διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Στην Ελλάδα, το μεγαλύτερο ποσοστό των ονυχομυκητιάσεων των χεριών οφείλεται σε ζυμομύκητες (72-82,9%), ενώ τα δερματόφυτα και μη-δερματόφυτα ευθύνονται για το 10% και 1,9-5,6% αντίστοιχα.<sup>1,2</sup> Από τα μη-δερματόφυτα, οι πιό συνηθισμένοι μύκητες που έχουν ενοχοποιηθεί για ονυχομυκητίσεις είναι ο *Scopulariopsis brevicaulis*, είδη *Fusarium* και είδη *Aspergillus*. Τα είδη *Aspergillus* που απομονώνονται πιό συχνά είναι: *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. sydowii* και *A. unguis*.

Ασπέργιλλοι που εμφανίζουν και σεξουαλικές μορφές (τελειόμορφα) όπως ο *A. nidulans* (τελειόμορφο: *Emericella nidulans*) είναι σπάνιοι<sup>3</sup>, ενώ μόνο μία περίπτωση ονυχομυκητίασης από *Emericella quadrilineata* (ανάμορφο: *Aspergillus tetrazonus*) έχει δημοσιευθεί.<sup>4</sup>

Παρουσιάζεται περίπτωση ασθενούς με ονυχό-

λυση και θετικές καλλιέργειες υφομύκητα βραδείας ανάπτυξης. Η αλληλούχιση του DNA του μύκητα αυτού έδειξε 100% ομολογία με *Emericella stellamaris*, ένα νέο είδος *Emericella* που περιγράφηκε και δημοσιεύθηκε από τους Zalar et al. το 2008.<sup>5</sup> Η παρούσα περίπτωση είναι η πρώτη κλινική περίπτωση διεθνώς από την οποία απομονώθηκε αυτό το καινούργιο είδος *Emericella*.

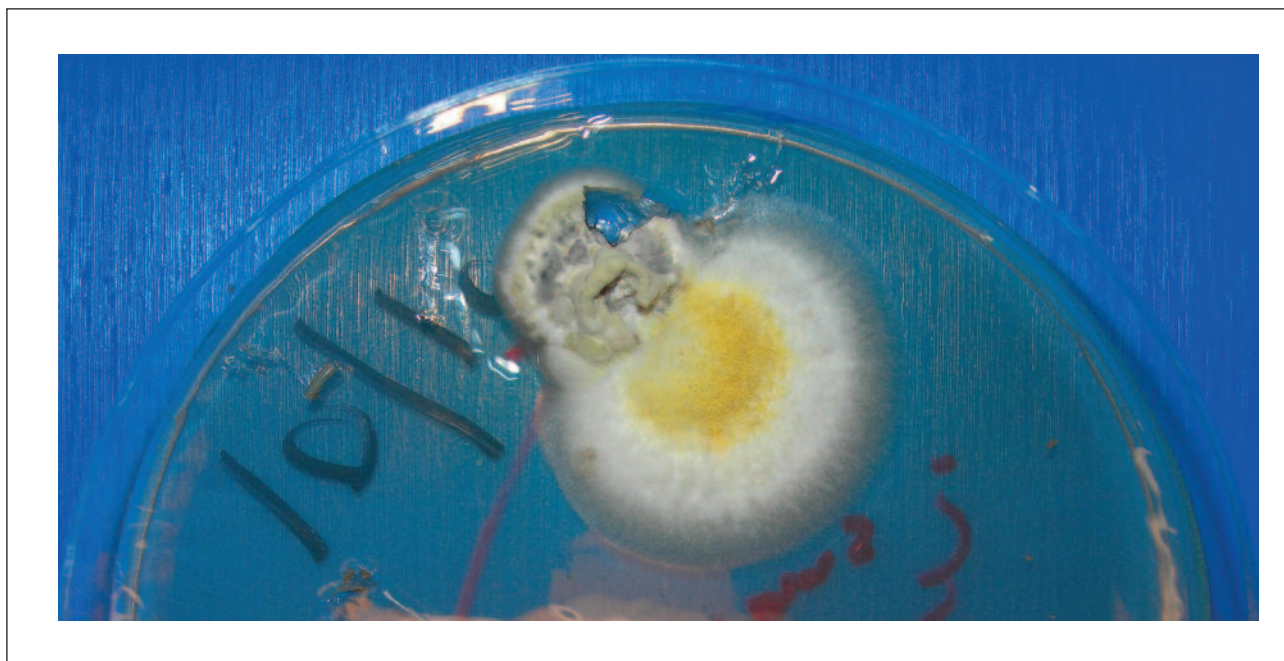
## Περιγραφή περίπτωσης

Ο ασθενής, άνδρας 38 ετών, βιοτέχνης, εμφάνιζε τυπικά σημεία ονυχόλυσης στα περισσότερα δάκτυλα των χεριών (Εικόνα 1), κλινική εικόνα παρόμοια με αυτή της περιφερικής υπωνύχιας ονυχομυκητίασης. Οι βλάβες εμφανίστηκαν πριν μερικούς μήνες. Κατά τα άλλα ήταν υγιής, χωρίς επιβαρυντικούς παράγοντες ή κάποια εμφανή ανοσοκαταστολή. Δεν εμφάνιζε άλλα σημεία δερματοπάθειας. Ο θεράπων ιατρός του έκανε λήψη ξεσμάτων από τα νύχια και του συνέστησε θεραπεία με τερμπιναφίνη.

Η άμεση εξέταση με KOH 20% ήταν αρνητική. Τα δείγματα από νύχια καλλιεργήθηκαν σε Sabouraud dextrose agar (SDA) με χλωραφενικόλη χωρίς ακτιδίωνη και μετά από 10 μέρες αναπτύχθηκε μια μικρή καφέ-πράσινη αποικία βελούδινης υφής, μαζί με μία αποικία *Aspergillus flavus* (Εικόνα 2).

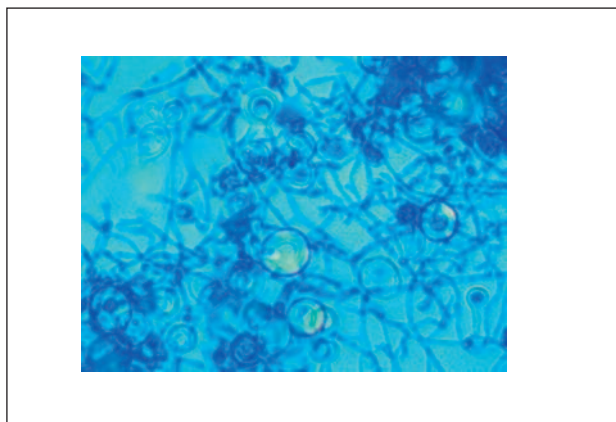


**Εικόνα 1.** Ο ασθενής, άνδρας 38 ετών, εμφάνιζε σημεία ονυχόλυσης, παρόμοια με αυτά περιφερικής υπωνύχιας ονυχομυκητίασης ή ψωρίασης.



**Εικόνα 2.** Μετά από 10 μέρες αναπτύχθηκε μια μικρή καφέ-πράσινη αποικία βελουδίνης υφής στο Sabouraud, μαζί με μία αποικία *Aspergillus flavus* (μεγάλη, ασπρο-κίτρινη αποικία).

Στη μικροσκοπική εξέταση της αποικίας παρατηρήθηκαν υφές και πολυάριθμα Hülle cells (Εικόνα 3). Μετά από ανακαλλιέργειες αναπτύχθηκαν κονιδιοφόροι με διαφραγμάτια και κονιδιακές κεφαλές διπλής σειράς (Εικόνα 4) και αποφασίστηκε η μοριακή ταυτοποίηση του μύκητα εφόσον δεν πληρούσε τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των μέχρι τώρα γνωστών ασπεργίλλων που παράγουν Hülle cells. Οι ανακαλλιέργειες έγιναν σε SDA, Czapek-Dox agar, malt extract agar (MEA) και potato dextrose agar (PDA). Ακολούθησε έλεγχος της ευαισθησίας σε αντιμυκητιακά με Etest (bioMérieux, Marcy l' Etoile, France) και τεστ μικρορραιώσεων ζωμού για τον καθορισμό των MIC, σύμφωνα με τις συστάσεις του EUCAST.<sup>6</sup>

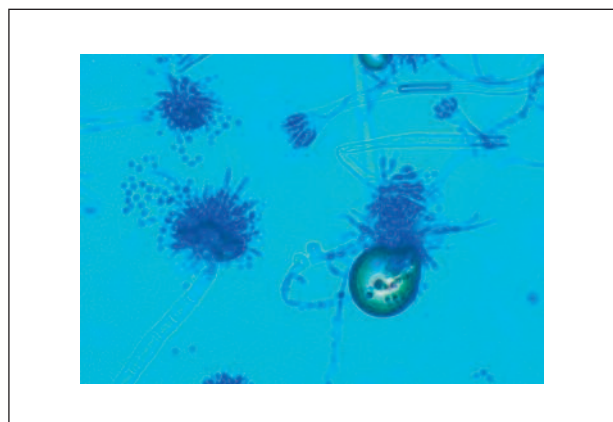


**Εικόνα 3.** Στη μικροσκοπική εξέταση της αποικίας παρατηρήθηκαν υφές και πολυάριθμα Hülle cells (lactophenol-cotton blue x 400).

Η απομόνωση του μυκητιακού DNA έγινε από το MEA και σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Möller *et al.*<sup>7</sup> Μετά από αλληλούχιση της περιοχής ITS (Internal Transcribed Spacer) και μέρη από τα γονίδια της β-τουμπουλίνης και καλμοντουλίνης, έγινε σύγκριση αλληλουχιών με BLAST η οποία έδειξε 100% ομολογία με *Emericella stella-maris*.

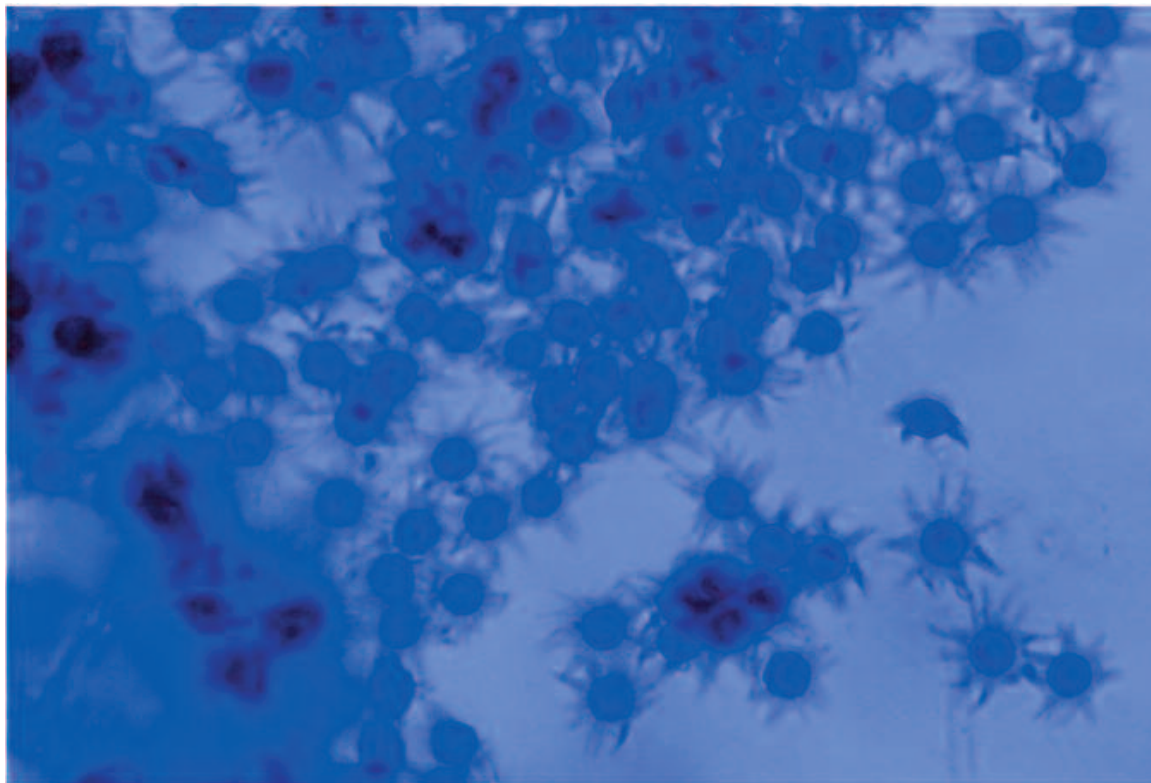
Στις καλλιέργειες σε κεκλιμένο PDA μετά από 4-5 εβδομάδες παρατηρήθηκε πληθώρα κλειστοθηκίων με ασκούς γεμάτους από ασκοσπόρια σε σχήμα αστέρα. (Εικόνα 5).

Ένα μήνα μετά την πρώτη επίσκεψη, ο ασθενής δεν έδειξε βελτίωση, αλλά η συμμόρφωσή του με τη θεραπεία ήταν ελλιπής. Από νέα λήψη δείγματος



**Εικόνα 4.** Μετά από ανακαλλιέργεια, αναπτύχθηκαν κονιδιοφόροι με διαφραγμάτια και κονιδιακές κεφαλές διπλής σειράς (lactophenol-cotton blue x 400).





**Εικόνα 5.** Σε καλλιέργειες σε κεκλιμένο PDA μετά από 4-5 εβδομάδες παρατηρήθηκε πληθώρα κλειστοθηζίων με ασκούς γεμάτους από ασκοσπόρια σε σχήμα αστέρια.

αναπτύχθηκε πάλι μύκητας, ο οποίος μικροσκοπικά χαρακτηριζόταν από υφές και κονιδιακές κεφαλές, όμοιες με αυτές από την ανακαλλιέργεια της πρώτης απομόνωσης (Εικόνα 4). Το άμεσο παρασκεύασμα ήταν αρνητικό. Τα δύο στελέχη από τις δύο δειγματοληψίες είχαν το ίδιο προφίλ ευαισθησίας: ήταν ανθεκτικά στην αμφοτερικίνη Β (1.5 µg/ml), κασποφουγκίνη (4 µg/ml), και φλουκοναζόλη (>256 µg/ml). Οι MICs για την ιτρακοναζόλη, ποσακοναζόλη και ανιντουλαφουγκίνη ήταν 0.75, 0.19 and 0.02 µg/ml αντίστοιχα. Ο έλεγχος της ευαισθησίας στην τερπιναφίνη δεν κατέστη δυνατός. Συστήθηκε η εξέταση του ασθενούς από δερματολόγο για διερεύνηση πιθανής ψωρίασης, καθώς και τρίτη λήψη δείγματος μετά από ένα μήνα. Σε πιάο ενδελεχή λήψη οικογενειακού ιστορικού ο ασθενής ανέφερε πιθανή ψωρίαση του πατέρα του.

Το τρίτο δείγμα ήταν αρνητικό και ως προς την άμεση εξέταση και ως προς την καλλιέργεια, ενώ η κλινική εικόνα παρέμεινε αμετάβλητη. Ο ασθενής δεν είχε επισκεφθεί ακόμη τον δερματολόγο και κατόπιν χάθηκε στο follow up.

### Συζήτηση - Συμπεράσματα

Η *E. stella-maris* έχει απομονωθεί από νερό αλυκής στην Αδριατική ακτή στη Σλοβενία και απορρίματα φύλλων ευκαλύπτου στην Τυνησία και περιγράφηκε πρόσφατα σαν νέο είδος *Emericella*.<sup>3</sup> Τα είδη *Emericella* φαίνεται να προτιμούν ξηρά υποστρώματα και ξηρά και ζεστά κλίματα. Δεν είναι γνωστό πώς μπορεί να αποικίστηκε ο ασθενής μας. Στο ιστορικό του ανέφερε σαν χόμπυ το ψάρεμα, πράγμα που καθιστά πιθανό το θαλασσινό νερό σαν πηγή της μόλυνσης, εφόσον αυτό το είδος μύκητα μπορεί και επιζεί σε αλμυρό περιβάλλον.

Η κλινική εικόνα της ονυχομυκητίασης είναι δύσκολο να διακριθεί από αυτήν της ψωρίασης των ονύχων. Η ονυχομυκητίαση των χεριών συνήθως οφείλεται σε *Candida*, ενώ οι υπομύκητες προσβάλλουν πιάο συχνά τα νύχια των ποδιών. Ο ασθενής μας δεν είχε βλάβες στα νύχια των ποδιών, ενώ η ταυτόχρονη προσβολή πολλών ονύχων στα χέρια και σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα ολίγων μηνών είναι ένα σημείο που καθιστά πιάο πιθανή διάγνωση την ψωρίαση. Η ανάπτυξη μυκήτων ευνοείται από το ψωριασικό υπόστρωμα και συχνά απομονώνονται μη-δερματόφυτα

από ψωριασικά νύχια.<sup>8</sup> Η αρνητική άμεση εξέταση με ΚΟΗ 20%, όπως στην παρούσα περίπτωση, συνήθως υποδηλώνει ότι δεν πρόκειται για λοίμωξη αλλά μάλλον για σαπροφυτία. Δυστυχώς ο ασθενής δεν επαλήθευσε και η ακριβής διάγνωση και μετέπειτα πορεία του παραμένουν άγνωστες.

Συμπερασματικά, η *E. stella-maris* είναι μύκητας ο οποίος υπάρχει στο περιβάλλον της χώρας μας και μπορεί εύκολα να απομονωθεί στο εργαστήριο. Σαν νέο είδος που περιγράφηκε μόλις πρόσφατα, δεν είναι γνωστό εάν μπορεί να προκαλέσει ασθένεια στον άνθρωπο. Ο ασθενής μας αποτελεί την πρώτη κλινική περίπτωση από την οποία απομονώθηκε *E. stella-maris*, πλην όμως δεν κατέστη δυνατόν να ενοχοποιηθεί ο μύκητας αυτός για την κατάστασή του.

Σε ένα περιβάλλον που μεταβάλλεται συνεχώς και στην εποχή της εξέλιξης και εξάπλωσης της εφαρμογής των μοριακών τεχνικών για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των μικροοργανισμών, όλο και περισσότερα είδη μυκήτων θα αναδύονται, πολλά από τα οποία

μπορεί να είναι ευκαιριακά παθογόνα για τον άνθρωπο, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις ανοσοκαταστολής. Για τη συσχέτισή τους με νόσο και πριν την απόφαση χορήγησης αντιμυκητιακών, απαιτείται προσεκτική εκτίμηση της κλινικής κατάστασης του ασθενούς δεδομένης της τοξικότητας των φαρμάκων αυτών.

Το στέλεχος έχει κατατεθεί στη συλλογή του CBS, Utrecht, the Netherlands. Accession Number: CBS 124670.

### Ευχαριστίες

Η μοριακή ταυτοποίηση του μύκητα πραγματοποιήθηκε στο Κέντρο Καλλιεργειών Μυκήτων CBS (Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Ουτρέχτη, Ολλανδία) από έναν από εμάς (Μ. Δ-Α). Ευχαριστούμε θερμά τον καθηγητή Sybren De Hoog και τους συνεργάτες του Grit Walther και Janos Varga για την φιλοξενία στο εργαστήριό τους και την εξαιρετική συνεργασία.



## Summary

### New *Emericella* species from the nails of a patient with onycholysis. A new opportunist?

M. Drogari-Apiranthitou<sup>1</sup>, A. Travlos<sup>2</sup>, A. Tsakris<sup>3</sup>, G. Petrikkos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 4<sup>th</sup> Dpt of Internal Medicine, University General Hospital "Attikon", National and Kapodistrian University of Athens

<sup>2</sup> 1<sup>st</sup> Dpt of Propaedeutic Medicine, General Hospital "Laiko", National and Kapodistrian University of Athens

<sup>3</sup> Dpt of Microbiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens

We present a case of a 38 year old individual with signs of onycholysis in most of his fingernails. He had no other complaints and no risk factors or an apparent immune deficiency. A fungus that was microscopically characterized by hyphae and Hülle cells, grew from the culture of nail clippings on Sabouraud agar. After subculture, it grew with the form of the anamorph (*Aspergillus*) with septate conidiophores and conidial heads with biseriolate phialides. After 4 weeks in culture, a plethora of cleistothecia was observed, with asci full of ascospores in the form of a star. Partial sequencing of the ITS, beta-tubulin and calmodulin genes showed 100% homology with *Emericella stella-maris*, a new species of *Emericella* described only recently. The presented case is the first clinical case from which this newly described fungus was isolated. However, the role of this fungus as a human pathogen remains to be defined.



### Key words

onycholysis, onychomycosis, *Emericella stella-maris*

## Βιβλιογραφία

---

1. Ioannidou DJ, Maraki S, Krasagakis SK, Tosca A, Tselentis Y. The epidemiology of onychomycoses in Crete, Greece, between 1992 and 2001. *Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; 20: 170-174.
2. Koussidou T, Devliotou-Panagiotidou D, Karakatsanis G, Minas A, Mourellou O, Samara KF. Onychomycosis in Northern Greece during 1994-1998. *Mycoses* 2002; 45: 29-37.
3. López-Jodra O, Torres-Rodríguez JM. Unusual fungal species causing onychomycosis *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: S11-S15.
4. Gugrani HC, Vijayan VK, Tyagi P, Sharma S, Stchigel AM, Guarro J. Onychomycosis due to *Emericella quadrilineata*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 914-916.
5. Zalar P, Frisvad, JC, Gunde-Cimerman, N, Varga, J, Samson, RA. Four new species of *Emericella* from the Mediterranean region of Europe. *Mycologia* 2008; 100: 779-795.
6. EUCAST DEFINITIVE DOCUMENT E.DEF 9.1, 2008: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds. [http://www.escmid.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID\\_Library/3Publications/EUCAST\\_Documents/Other\\_Documents/EUCAST\\_moulds\\_DEFINITIVE\\_document\\_V\\_ISO\\_April\\_08%20final.pdf](http://www.escmid.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3Publications/EUCAST_Documents/Other_Documents/EUCAST_moulds_DEFINITIVE_document_V_ISO_April_08%20final.pdf) (3 September 2013, date last accessed).
7. Möller EM, Bahnweg G, Sandermann H, Geiger HHA. Simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *NAR* 1992; 20: 6115-6116.
8. Szepietowski JC, Salomon J. Do fungi play a role in psoriatic nails? *Mycoses* 2007; 50: 437-442.