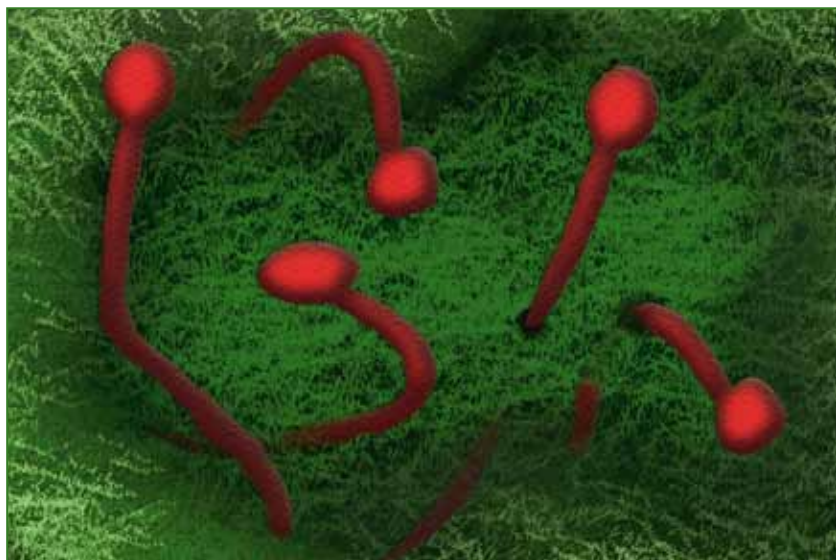


The image features a microscopic view of biological structures. The background is a dense, textured green field. Overlaid on this are several bright red, elongated, and branching structures that resemble fungal hyphae or yeast filaments. One prominent structure starts from the bottom left and branches upwards and to the right. Another smaller structure is located in the upper right corner, and a third is in the middle left area.

Kandydoza i przepuszczalność jelitowa

Kandydoza i przepuszczalność jelitowa



Redakcja naukowa

Dr hab. n. med. Tomasz Dangel

Redakcja językowa

Barbara Redzyńska

Okładka i ilustracje

Radosław Bućko

Łamanie

Wojciech Marciniak

© Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci

Warszawa 2014

Wydanie I

Nakład 6000 egz.

Wszystkie egzemplarze bezpłatne

ISBN 978-83-938474-0-2

Druk

Drukoba Sp. z o.o., 05-080 Mościska, ul. 3 Maja 76



Organizacja pożytku publicznego

ul. Agatowa 10, 03-680 Warszawa, tel. 22 678 16 11, fax 22 678 99 32

e-mail: poczta@hospicjum.waw.pl

www.hospicjum.waw.pl

Słownik

Arabinitol – inaczej arabitol – organiczny związek chemiczny z grupy alkoholi cukrowych; istnieje w postaci dwóch stereoizomerów – D-arabinitolu i L-arabinitolu; *Candida albicans* produkuje D-arabinitol.

Chromatografia – technika analityczna służąca do rozdzielania lub badania składu mieszanin związków chemicznych.

Cytostatyk – substancja chemiczna używana w chemioterapii nowotworów; działa toksycznie na komórki m.in. błon śluzowych.

D-glukoza – organiczny związek chemiczny, cukier prosty, podstawowy związek energetyczny dla większości organizmów, m.in. dla *Candida albicans*, która może metabolizować D-glukozę do D-arabinitolu.

Dysbakterioza – zaburzenie polegające na zakłóceniu stosunków ilościowych i jakościowych mikroflory fizjologicznej.

Immunosupresja – hamowanie procesu wytwarzania przeciwciał i komórek odpornościowych.

Ksenobiotyk – substancja chemiczna niebędąca naturalnym składnikiem żywego organizmu.

Laktuloza – organiczny związek chemiczny z grupy syntetycznych dwucukrów.

Mannitol – organiczny związek chemiczny z grupy alkoholi cukrowych; niektóre gatunki grzybów rodzaju *Aspergillus* (kropidlak) produkują D-mannitol.

Metabolit – produkt przemian chemicznych zachodzących w organizmach.

Translokacja – przemieszczenie, przeniesienie na inne miejsce.

Słowo wstępne

Kandydozę określa się mianem zakażenia oportunistycznego. Pojęcie to oznacza, że komensalny (nieszkodliwy), żyjący w przewodzie pokarmowym drobnoustroj *Candida* pokonuje bariery anatomiczne i immunologiczne, a następnie przedostaje się do organizmu człowieka i niszczy jego komórki. Można powiedzieć, że zakażenie oportunistyczne to takie, do którego dochodzi w określonych, sprzyjających okolicznościach wywołujących różnego rodzaju zaburzenia. Najważniejsze z nich to dysbakterioza i immunosupresja. Obydwa te zaburzenia mogą być spowodowane działaniem farmaceutyków.

Naszym celem jest popularyzacja wiedzy na temat związków między szkodliwymi działaniami farmaceutyków a kandydozą. Badanie, które przedstawiamy i komentujemy, dotyczyło dwóch metod diagnostycznych. Pierwsza z nich pozwala na ocenę aktywności metabolicznej *Candida* (przemiana D-glukozy w D-arabinitol) w organizmie człowieka. Druga metoda pozwala na określenie szczelności bariery, jaką stanowi błona śluzowa przewodu pokarmowego (szczelność jelit).

Pojęcie „**szczelność jelit**” należy rozumieć jako prawidłową funkcję tej bariery, która chroni organizm przed szkodliwymi czynnikami i równocześnie umożliwia wchłanianie substancji odżywczych. Można to sobie wyobrazić jako rodzaj bardzo skomplikowanego, biologicznego filtra. Nie jest to zatem szczelność całkowita, lecz wybiórcza, zapewniająca konieczne dla organizmu interakcje ze środowiskiem zewnętrznym. Z kolei pojęciem „**nieszczelność jelit**” określamy nieprawidłową przepuszczalność cząsteczek, toksyn, drobnoustrojów itp., które w stanie zdrowia nie powinny tej bariery penetrować. Używamy też znacznie szerszego określenia „**zespół nieszczelnego jelita**”. Zespół ten nie został dotychczas

precyzyjnie zdefiniowany i ostatecznie opisany. Obejmuje on zarówno wiele już znanych, jak i niepoznanych w pełni (i wciąż badanych) elementów. Mimo to koncepcja zespołu nieszczelnego jelita stanowi przydatny model ułatwiający zrozumienie, jak dochodzi do alergii pokarmowych, chorób autoimmunologicznych i zapewne wielu innych.

Tytuł broszury sugeruje związek między kandydozą a przepuszczalnością jelitową. Czy rzeczywiście taki związek istnieje? Z pewnością warto się nad tym zastanowić. Jesteśmy przekonani, że wiedza ta jest niezbędna każdemu człowiekowi, który pragnie być zdrowy i musi w tym celu dokonywać określonych wyborów, choćby dotyczących pożywienia, proponowanych mu terapii, metod profilaktycznych i prozdrowotnych. Aby tego typu decyzje podejmować w sposób najbardziej korzystny dla organizmu, potrzebne są wiarygodne i zrozumiałe informacje. Staramy się je tutaj przedstawić.

Zapraszamy do lektury.

Tomasz Dangel

Diagnostyka kandydozy i przepuszczalności jelitowej

Tomasz Dangel¹, Artur Januszaniec¹, Teresa Joanna Stradomska²,
Małgorzata Murawska¹, Magdalena Karkowska¹, Katarzyna Kozera¹

¹Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci.

²Zakład Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”.

Streszczenie

Stosowane dotychczas badania mikrobiologiczne w diagnostyce zakażeń *Candida* u pacjentów hospicjum domowego dla dzieci w świetle nowej wiedzy na temat nieszczelności jelit uznano za niewystarczające [1]. Dokonano oceny nowych metod diagnostycznych: badania wskaźnika stosunku D-arabinitolu do L-arabinitolu w moczu oraz testu absorpcji cukrów. Za pomocą tych badań rozpoznano inwazyjną kandydozę u 43% badanych, natomiast nieszczelność jelit u 46%. Wykazano też istotne statystycznie zależności między nieszczelnością jelit a wiekiem, antybiotykoterapią i stosowaniem mikstury oczyszczającej. Stwierdzono pozytywną zależność między dietą wysokowęglowodanową i kandydozą. Wykazano wreszcie, że obydwa badania są przydatne i mogą być wykonywane w warunkach domowych przez pielęgniarki hospicjum.

Oryginalna wersja artykułu jest dostępna na stronie:
[www.hospicjum.waw.pl/phocadownload/Zagadnienia_Kliniczne/
Diagnostyka-kandydozy.pdf](http://www.hospicjum.waw.pl/phocadownload/Zagadnienia_Kliniczne/Diagnostyka-kandydozy.pdf)

Prezentowana wersja została uzupełniona i zmodyfikowana w celu ułatwienia lektury i popularyzacji artykułu.

Wstęp

Kandydoza (drożdżycyca) jest zakażeniem oportunistycznym wywołanym grzybami z rodzaju *Candida*, najczęściej z gatunku *Candida albicans* (*C. albicans*). Badania mikrobiologiczne pozwalają na stwierdzenie obecności grzybów *Candida* (kolonizacja) tylko u niektórych badanych. Nie pozwalają natomiast rozpoznać zakażenia inwazyjnego. Istnieje zatem potrzeba wprowadzenia dodatkowych badań umożliwiających rozpoznawanie inwazyjnej kandydozy. Metodą taką jest badanie stosunku D-arabinitolu do L-arabinitolu w moczu (DLA).

Wykazano, że D-arabinitol jest metabolitem *C. albicans*, a także *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis* i *Candida lusitaniae*. *Candida krusei* wytwarza śladowe ilości D-arabinitolu, natomiast *Candida glabrata* i *Candida neoformans* nie produkują D-arabinitolu [2, 3]. Brak danych na temat *Candida rugosa*. D-arabinitol można mierzyć w surowicy i w moczu. Przydatność DLA potwierdzono w badaniach klinicznych [3, 4, 5, 6]. Ponadto opracowano normy DLA na podstawie badania zdrowych polskich dzieci [7].

C. albicans zasiedla jelito grube człowieka, u niektórych także błonę śluzową dróg oddechowych, a u kobiet pochwę, gdzie jako komensalny drożdżak wchodzi w skład mikroflory fizjologicznej. W stanach patologicznych (np. obniżenia odporności) może jednak penetrować barierę (którą stanowi błona śluzowa) i powodować zakażenie oportunistyczne. **O ile uszkodzenia ciągłości skóry są łatwe do zauważenia, o tyle rozpoznanie nieszczelności błon śluzowych wymaga specjalnej diagnostyki.** Do oceny przepuszczalności bariery jelitowej u dzieci i dorosłych używa się testu absorpcji cukrów (TAC), który polega na wprowadzeniu do przewodu pokarmowego mannitolu i laktulozy, następnie oznaczeniu ich stężeń w porcji moczu (zebranej

w ciągu 5 godzin) i obliczeniu wskaźnika przepuszczalności jelitowej (stosunek stężeń laktuloza/mannitol) [8]. Dotychczas nie opublikowano pracy porównującej wyniki badań DLA i TAC. Przeprowadzenie obu badań w populacji chorych o wysokim ryzyku zapadalności na kandydozę i nieszczelność jelit pozwoliłoby zweryfikować w warunkach klinicznych hipotezę o współistnieniu obydwu schorzeń.

Niemiecki lekarz Wolfgang von Krause przeprowadził na sobie eksperyment, spożywając 10^{12} komórek *C. albicans*, które z przewodu pokarmowego przeniknęły do krwi i moczu [9]. Udowodnił w ten sposób, że *C. albicans* może penetrować barierę jelitową. Zjawisko to zostało następnie potwierdzone w badaniach eksperymentalnych na zwierzętach [10]. **Udowodniono, że *C. albicans*, powodując nieszczelność jelit, umożliwia przechodzenie obcego białka pokarmowego do układu krążenia** [11]. W badaniu *in vitro* wykazano, w jaki sposób *C. albicans* pokonuje kolejną barierę – śródbłonek naczyń krwionośnych [12]; dotyczy to również bariery krew–mózg [13].

Zjawisko przenikania drobnoustrojów przez barierę jelitową znane było od dawna. Początkowo używano określenia „**migracja przezścienna**” (*transmural migration*) [14], a następnie wprowadzono termin „**translokacja**” (*translocation*) [15]. Pojęcie to oznacza przedostawanie się mikroorganizmów z przewodu pokarmowego do kręzkowych węzłów chłonnych i następnie do innych narządów.

C. albicans nie jest jedynym drobnoustrojem, który potrafi przenikać barierę jelitową. Do bakterii mających dużą zdolność translokacji należą *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* i *Proteus mirabilis*. Według Berga translokacja jest spowodowana trzema czynnikami: **przerostem bakterii jelitowych, immunosupresją i zwiększeniem przepuszczalności lub uszkodzeniem błony śluzowej** [16].

Antybiotyki powodują zakłócenie stosunków ilościowych i jakościowych fizjologicznej mikroflory oraz selekcję szczepów opornych, co prowadzi do nadmiernego rozplemu niektórych gatunków (przerost bakterii jelitowych) [17]. Zjawisko to dotyczy szczególnie *Candida* [18]. Podawanie antybiotyków szerokowachlarzowych zwiększa populację drożdżaków w przewodzie pokarmowym od 10 do 100 razy. Zmienia się także gatunek drożdżaków kolonizujących przewód pokarmowy po terapii antybiotykowej z *C. albicans* na inne. Można zauważyć różnice dotyczące zarówno częstości kolonizacji, jak i gęstości komórek drożdżaków w przewodzie pokarmowym, w zależności od stosowanej terapii. Antybiotyki o aktywności wobec bakterii beztlenowych zwiększają zarówno częstość kolonizacji, jak i wielkość populacji drożdżaków, w porównaniu z lekami niemającymi takiej aktywności [17].

Autorzy pracy przeglądowej na temat nieszczelności jelitowej i związanych z nią chorób występujących u dzieci wymieniają wiele czynników prowadzących do tego zaburzenia, m.in. inhibitory syntezy prostaglandyn (niesteroidowe leki przeciwzapalne), gliadynę (składnik glutenu), estry sacharozy i kwasów tłuszczowych (E473 – emulgator i stabilizator produktów spożywczych, obecny w diecie przemysłowej dla dzieci), kaprynian sodu (używany do ułatwienia transportu leków przez barierę jelitową), enteropatogenną *Escherichia coli*, rotawirusy i zonulinę; pomijają jednak *C. albicans*. Autorzy wymieniają następujące choroby, które przebiegają z nieszczelnością jelit u dzieci: celiakia, cukrzyca typu 1, nieswoiste zapalenia jelit oraz choroby atopowe (np. astma oskrzelowa) [19].

Pomijanie roli *C. albicans* w patogenezie nieszczelności jelit i chorób powstających wskutek reakcji alergicznych na antygeny pokarmowe można zauważyć także w innych publikacjach [20]. Skutkiem tego jest pominięcie innych pierwotnych czynników,

które powodując dysbakteriozę, immunosupresję i patogenność (wirulencję) *C. albicans*, przyczyniają się do nieszczelności jelit. Wśród tych czynników należy wymienić: antybiotyki, steroidy, cytostatyki, żywienie dożylnie, hiperglikemię, niedożywienie, utrzymywanie cewnika w żyłę centralnej, długi pobyt na oddziale intensywnej terapii [21].

Do nieszczelności jelit może dochodzić wskutek różnych mechanizmów. Wykazano, że toksyna cholery ZOT (*zonulin occludens toxin*) [22] oraz ludzka zonulina, określana jako modulator ścisłych połączeń międzykomórkowych (*tight junctions*) [23], zwiększają w sposób odwracalny przepuszczalność jelitową. Fasano przypisuje zasadniczą rolę w powstawaniu chorób autoimmunologicznych i nowotworowych właśnie mechanizmowi związanemu z zonuliną i przechodzeniem makromolekuł przez ścisłe połączenia międzykomórkowe, które stają się nieszczelne pod wpływem zonuliny [24]. *C. albicans* penetruje barierę jelitową na kilka sposobów [25]. Jednym z nich jest niszczenie nabłonkowej kadheryny (białko ułatwiające przyleganie do siebie komórek) [26]. Dotychczas nie opisano interakcji między *C. albicans* i zonuliną.

Fasano zaczął od niedawna używać określenia „nieszczelne jelito” (*leaky gut*), uważanego za „nienaukowe” i opatrywanego cudzysłowem lub określeniami „tak zwany” lub „rzekomy” – jako synonimu „nadmiernej przepuszczalności jelitowej” (*intestinal hyperpermeability* lub *increased intestinal permeability*) [20]. Można zatem przypuszczać, że określenie „**zespół nieszczelnego jelita**” (ZNJ) (*leaky gut syndrome*), używane dotychczas głównie w medycynie naturalnej (alternatywnej) [27], zostanie zaakceptowane także w medycynie akademickiej (konwencjonalnej).

Koncepcja ZNJ zapewne pozwoli zrozumieć patogenezę wielu schorzeń uważanych dotychczas za „nieuleczalne”, „cywilizacyjne”, „o nieznannej etiologii”, „idiopatyczne” itd. Przyjęcie tej koncepcji nie będzie jednak łatwe, ponieważ znaczna część przyczyn ZNJ ma charakter jatrogenny (niekorzystne działania np. niesteroidowych leków przeciwzapalnych, steroidów, antybiotyków, inhibitorów pompy protonowej, diety przemysłowej, cytostatyków i innych), a toksyczne metody terapii są mocno zakorzenione w obecnym systemie farmaceutyczno-medycznym.

Zaburzenia odporności (np. immunosupresja) są zasadniczym czynnikiem prowadzącym do ZNJ. Stwierdzono, że pozytywny wpływ na układ immunologiczny ma witamina D, nasilając reakcję obronną w kandydozie [28]. Wykazano także związek między działaniem witaminy D a zachowaniem szczelności bariery jelitowej [29]. Opisano model patogenezы alergii pokarmowych u dzieci, w którym przyczyną pierwotną jest deficyt witaminy D, a ogniwami pośrednimi miejscowe zaburzenia immunologiczne, dysbakterioza i nieszczelność bariery jelitowej [30].

Cel pracy

Celem pracy jest ocena przydatności dwóch metod diagnostycznych – DLA i TAC. Wprowadzenie obydwu metod ma za zadanie umożliwienie rozpoznawania inwazyjnej kandydozy i nieszczelności jelit, identyfikację i ograniczenie czynników chorobotwórczych (szczególnie jatrogennych) oraz ocenę metod profilaktycznych i leczniczych.

Materiał i metody

Opracowano procedury obydwu badań (załączniki 1. i 2.) oraz informację dla rodziców pacjentów Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci (WHD) na temat TAC w celu uzyskania świadomej zgody na badanie (załączniki 3. i 4.). Uzyskano zgodę rodziców na badanie TAC u 24 pacjentów. Dla tych pacjentów zamówiono roztwór laktulozy i mannitolu w Farmaceutycznym Zakładzie Naukowo-Produkcyjnym „Biochefa” w Sosnowcu. Wszystkie badania z udziałem pacjentów zostały przeprowadzone w ich domach przez zespół pielęgniarzy WHD (ryc. 1.).

Badania chromatograficzne DLA i TAC (a także badanie stężenia 25(OH)D w surowicy – witaminy D₃) wykonywano w Pracowni Badań Radioimmunologicznych i Biochemii – Zakładu Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”.

Stężenia D-/L-arabinitolu oznaczano w jednorazowych porcjach moczu. Próbkę przechowywano w temperaturze < -20°C. Stężenia DLA w moczu (próbka 10–20 ml) oznaczano jako pochodne trójfluorooctowe metodą chromatografii gazowej, zgodnie z procedurą opisaną wcześniej [7].

Oznaczenia stężeń mannitolu i laktulozy wykonywano w moczu zbieranym zgodnie z opisaną procedurą (załącznik 1.). Próbkę przechowywano w temperaturze < -20°C. Do analizy pobierano 100 µl moczu. Mannitol i laktulozę przeprowadzano w pochodne trójmetylosililowe i jako takie separowano i oznaczano metodą chromatografii gazowej, stosując zmodyfikowaną procedurę [31].



Ryc. 1. Test absorpcji cukrów (TAC). A. Podanie roztworu laktulozy i mannitolu do żołądka przez gastrostomię. B. Pobranie moczu wydzielonego przez 5 godzin przez cewnik wprowadzony do pęcherza moczowego

Przyjęto następujące normy dla badania DLA w 6 grupach wiekowych:

≤ 1. roku życia	3,5 [7]
> 1 ≤ 3 lat	3,3 [7]
> 3 ≤ 7 lat	3,0 [7]
> 7 ≤ 10 lat	2,7 [7]
> 10 ≤ 18 lat	2,4 [7]
> 18 lat	2,6 [4]

Wobec braku norm testu TAC dla dzieci, na podstawie wyników badań innych autorów [8, 32, 33], przyjęto za wartości graniczne **0,029/0,03**, służące do interpretacji wyników u badanych dzieci (≥ 1. roku życia). Z powodu braku w piśmiennictwie norm TAC u niemowląt z badania wyłączono dzieci poniżej 1. roku życia.

Do koordynacji badań, w tym utrzymywania stałego kontaktu z pracownią chromatografii, oddelegowano dwie pielęgniarki WHD. Wyniki badań, po omówieniu na odprawie zespołu WHD, wprowadzono do odpowiednio przygotowanych arkuszy, które pozwalają na analizę z uwzględnieniem badań mikrobiologicznych oraz obserwacji klinicznych.

Badania DLA i TAC przeprowadzono w okresie grudzień 2012 r. – kwiecień 2013 r. Koszt jednego badania DLA wynosił 90 zł, koszt badania TAC – 320 zł (w tym koszt roztworu laktulozy i manitolu – 60 zł), a koszt badania 25(OH)D – 60 zł. Badania zostały sfinansowane przez Fundację WHD. Badania mikrobiologiczne w kierunku *Candida* (BMC) wykonywano w Pracowni Diagnostyki Mikrobiologicznej Zakładu Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”.

Witaminę D (Devikap) podawano w stałej codziennej dawce (z wyjątkiem okresów ekspozycji na słońce), starając się uzyskać stężenie 25(OH)D w surowicy w granicach 50–80 ng/ml. Zakres ten przyjęto na podstawie własnych badań osteoporozy i ryzyka złamań u pacjentów WHD, przeprowadzonych wcześniej.

Pacjenci otrzymywali albo diety wysokowęglowodanowe – dietę własną rodziców lub dietę przemysłową (pod kontrolą lekarza WHD lub Poradni Żywnościowej Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”), albo zbilansowaną dietę niskowęglowodanową (u dzieci z padaczką była to dieta ketogenna) zaprojektowaną przez lekarza WHD (tab. 1. i 2.). Tylko jedno niemowlę otrzymywało pokarm matki.

Badano zależności statystyczne między wynikami testów DLA i TAC oraz antybiotykoterapią, dietą, miksturą oczyszczającą [34] (skład: olej lniany, ekstrakt z aloesu [35], sok z cytryny, woda) i lejem kokosowym [36, 37]. Mikstura oczyszczająca była proponowana wszystkim pacjentom i zastosowana (po uzyskaniu zgody) łącznie u 16 na 40 badanych. W celu przeprowadzenia analizy statystycznej działania mikstury oczyszczającej pacjentów podzielono na dwie grupy pod względem czasu jej przyjmowania: (1) 0–39 dni ($n = 28$) i (2) ≥ 80 dni ($n = 12$). Standardowy skład mikstury oczyszczającej (10 ml oleju lnianego, 10 ml ekstraktu z aloesu, 10 ml soku z cytryny, 10 ml wody) tylko w trzech przypadkach wymagał zmniejszenia objętości (np. 4 x 2,5 ml albo 4 x 5 ml). W analizie liczebności wykorzystano funkcję χ^2 (chi-kwadrat) w postaci logarytmicznej (tzw. funkcja G). Poziom $p \leq 0,05$ przyjęto we wszystkich analizach za istotny.

Wyniki

Wyniki uzyskane u 24 pacjentów, u których wykonano obydwie badania (TAC i DLA) przedstawiono w tabeli 1. Ponadto u 16 innych pacjentów wykonano badanie DLA (bez testu TAC) (tab. 2.).

Tabela 1. Zestawienie wyników testu absorpcji cukrów (TAC), wskaźnika arabinitolu (DLA), badań mikrobiologicznych (BMC), witaminy D (25(OH)D) oraz danych klinicznych – grupy 1, 2, 3 i 4

Lp.	Pacjent	Rozpoznanie ICD-10	Wiek (lata)	TAC	DLA				BMC	Dieta	25(OH)D (ng/ml)	Uwagi
Grupa 1 – nieszczelne jelito i kandydoza												
1	BD	G80	13	0,03	3,94	0,9	0,96	0,8	<i>C. tropicalis</i> ¹	RDZ	62,8	<i>Aspergillus</i>
2	NN	E78.72	1	0,064	0,06	4,2		1,32	–	PRZ	49,4	Zgon
3	SM	Q92	3	0,08	3,67	4,81	3,43		<i>C. parapsilosis</i> ¹	PRZ	36,9	
Grupa 2 – szczelne jelito i kandydoza												
4	GH	P27.1	1	0,02	3,44				–	PRZ	35,7	Alergia
5	SB	Q93.5	7	0,005	0,01	2,56	3,41	2,89	<i>C. albicans</i> ¹	NW	27,1	Alergia, <i>Aspergillus</i>
6	NŁ	G12.0	15	0,01	2,98		2,09		<i>C. albicans</i> ^{1,2}	RDZ	44,5	
7	TJ	Q03.1	11	0,02	2,35		3,3		–	NW	70,6	<i>Aspergillus</i>
Grupa 3 – szczelne jelito i bez kandydozy												
8	BW	P91.63	1	0,012	0,01	1,13	1,09		–	PRZ	65,4	Alergia
9	JA	G80.9	4	0,01	0,02	0,56	0,65		–	NW	39,0	Zgon
10	JB	Q98.8	7	0,02	1,94		2,27		–	RDZ	99,6	
11	KA	P91.63	4	0,01	1,34	0,43	0,5		<i>C. glabrata</i> ¹	NW	60,2	
12	MJ	E75.4	13	0,014	0,01	0,48	0,5		<i>C. glabrata</i> ¹	NW	76,3	
13	PF	G09	3	0,008	0,01	1,78	1,84		–	PRZ	49,0	Alergia
14	SK	G80	18	0,009	0,02	2,2	1,53		<i>C. glabrata</i> ¹	NW	70,9	<i>Aspergillus</i>
15	ZM	G23.0	20	0,025	2,11		1,47		–	NW	85,7	
16	WA	P91.63	3	0,02	1,96				–	PRZ	22,0	
Grupa 4 – nieszczelne jelito i bez kandydozy												
17	BH	Q91.3	2	0,082	1,55	1,55			–	RDZ	35,6	
18	J-ZJ	Q92.7	2	0,03	0,76	1,01			<i>C. albicans</i> ^{1,2}	PRZ	31,1	
19	KA	Q92.8	1	0,03	0,91	2,78			<i>C. albicans</i> ¹	PRZ	Brak danych	
20	KP	I60.8	1	0,029	0,03	0,49	0,27		<i>C. lusitaniae</i> ²	PRZ	97,9	
21	KM	G80	17	0,044	0,47	0,53			–	NW	48,7	
22	SI	P91.63	1	0,09	0,73	1,94			<i>C. albicans</i> ^{1,2}	PRZ	84,0	
23	ŚM	P35.1	2	0,095	0,08	2,7	1,53		<i>C. rugosa</i> ¹	PRZ	29,0	
24	TM	G80	11	0,03	1,57	2,3			<i>C. albicans</i> ¹	NW	55,5	<i>Aspergillus</i>

Rodzaje diety: PRZ – przemysłowa, RDZ – rodziców, NW – niskowęglowodanowa
 BMC: ¹ – materiał pobrany z odbytu; ² – materiał pobrany z gardła

Tabela 2. Zestawienie wyników wskaźnika arabinitolu (DLA), badań mikrobiologicznych (BMC), witaminy D (25/OH/D) oraz danych klinicznych – grupy 5 i 6

Lp.	Pacjent	Rozpoznanie ICD-10	Wiek (lata)	DLA		BMC	Dieta	25(OH)D (ng/ml)	Uwagi	
Grupa 5 – kandydoza										
25	GF	E83.0	2	4,3	4,03	3,39	<i>C. albicans</i> ¹	PRZ	50,3	Alergia
26	GA	G12.0	3/12		3,84		–	PRZ	Brak danych	Zgon
27	AO	E75.2	1		4,3		–	PRZ	Brak danych	
28	PO	Q89.8	6/12		3,6		<i>C. albicans</i> ¹	PRZ	Brak danych	
29	TR	Q25.2	6/12		4,2		–	PRZ	Brak danych	
30	KM	Q20.6	9/12	4,64		4,59	–	PRZ	Brak danych	
31	KJ	Q05.4	11/12		3,88		<i>C. parapsilosis</i> ¹	PRZ	Brak danych	Alergia
32	OR	Q21	3		4,42		–	PRZ	Brak danych	Zgon
33	PM	Q89.8	3/12		3,77		–	PM/PRZ	Brak danych	
34	RS	G12.0	1,5	3,37		3,05	<i>C. albicans</i> ^{1,2}	RDZ	62,9	
35	BK	Q91.3	15	2,2		3,25	<i>C. parapsilosis</i> ¹	PRZ	76,1	
36	ŁG	G71.0	37	2,29		3,18	<i>C. albicans</i> ^{1,2}	RDZ	39,5	
Grupa 6 – bez kandydozy										
37	KS	N18.0	2/12			1,09	Brak danych	PRZ	Brak danych	
38	OM	Q05.2	2,5	0,93		1,53	–	NW	83,8	
39	SE	G23.0	14	1,72		1,64	<i>C. parapsilosis</i> ^{1,2}	RDZ	71,1	
40	WA	Q89.7	16		0,44		–	NW	30,0	Zgon

Rodzaje diety: PRZ – przemysłowa, RDZ – rodziców, NW – niskowęglowodanowa, PM – pokarm matki

BMC: ¹ – materiał pobrany z odbytu; ² – materiał pobrany z gardła

- Pozytywny wynik testu TAC (nieszczelność jelit) uzyskano u 11 pacjentów, a negatywny (szczelne jelita) u 13 ($n = 24$). Pozytywny wynik badania DLA (inwazyjna kandydoza) uzyskano u 19 pacjentów, a wynik negatywny (bez inwazyjnej kandydozy) u 21 ($n = 40$).
- U 9 pacjentów ($n = 24$) za pomocą testów TAC i DLA wykluczono obydwa schorzenia, jednak u 3 spośród nich wyhodowano *Candida glabrata*, która nie produkuje D-arabinitolu (tzn. inwazyjnej kandydozy wywołanej tym gatunkiem nie można rozpoznać badaniem DLA) (tab. 1., grupa 3.). Ta sama wątpliwość dotyczy pacjenta nr 23 (tab. 1.), u którego stwierdzono *Candida rugosa*.

- U 5 pacjentów w badaniu chromatograficznym rozpoznano przypadkowo zakażenie *Aspergillus* (kropidlak – grzyb powodujący aspergilozę; produkuje mannitol), co następnie potwierdzono wizją lokalną, podczas której stwierdzono zagrzebienie mieszkań (tab. 1.).
- Pozytywne wyniki BMC uzyskano u 20 pacjentów (51%, $n = 39$), wyodrębniając następujące gatunki drożdżaków: *C. albicans* ($n = 10$), *Candida parapsilosis* ($n = 4$), *Candida glabrata* ($n = 3$), *Candida lusitaniae* ($n = 1$), *Candida rugosa* ($n = 1$) i *Candida tropicalis* ($n = 1$).
- W grupie 19 pacjentów, u których podwyższony wynik DLA wskazywał na kandydozę inwazyjną, tylko u 10 wyhodowano *Candida* produkujące D-arabinitol. Oznacza to, że BMC ma tylko pomocnicze (a nie decydujące) znaczenie w rozpoznawaniu zakażenia inwazyjnego.
- W grupie 19 pacjentów, u których wykluczono inwazyjną kandydozę badaniem DLA i przeprowadzono BMC, u 6 wyhodowano *Candida* produkujące D-arabinitol. Oznacza to, że u tych 6 chorych stwierdzono kolonizację bez zakażenia inwazyjnego.
- W grupie 11 pacjentów, u których rozpoznano nieszczelność jelit badaniem TAC, *Candida* wyhodowano u 8.
- U pacjenta nr 23 (tab. 1.), u którego wyhodowano *Candida rugosa*, wynik badania DLA był ujemny, a wynik TAC dodatni.
- U 28 pacjentów, u których określono stężenie 25(OH)D w surowicy (witamina D₃), wynosiło ono średnio 56,4 ng/ml (SD 21,856; zakres 22–99,6 ng/ml).

Wyniki badań DLA i TAC w grupach wiekowych przedstawiono w tabelach 3. i 4. Rozkład wartości badań DLA i TAC w zależności od wieku przedstawiono na rycinach 2. i 3. Stwierdzono znamienne wyższe wartości TAC u młodszych dzieci (≤ 3 lat) (tab. 5).

Tabela 3. Wyniki DLA w grupach wiekowych

	≤ 1 r.ż.			$> 1 \leq 3$ lat			$> 3 \leq 7$ lat			$> 10 \leq 18$ lat			> 18 lat		
	$< 3,5$	$> 3,5$	Średnia (SD)	$< 3,3$	$> 3,3$	Średnia (SD)	$< 3,0$	$> 3,0$	Średnia (SD)	$< 2,4$	$> 2,4$	Średnia (SD)	$< 2,6$	$> 2,6$	Średnia (SD)
DLA	5	9	3,09 (1,370)	6	3	2,75 (1,384)	3	1	1,92 (1,196)	6	4	2,12 (1,286)	1	1	2,65 (0,757)

W grupie $> 7 \leq 10$ lat nie było pacjentów.

Tabela 4. Wyniki TAC w grupach wiekowych

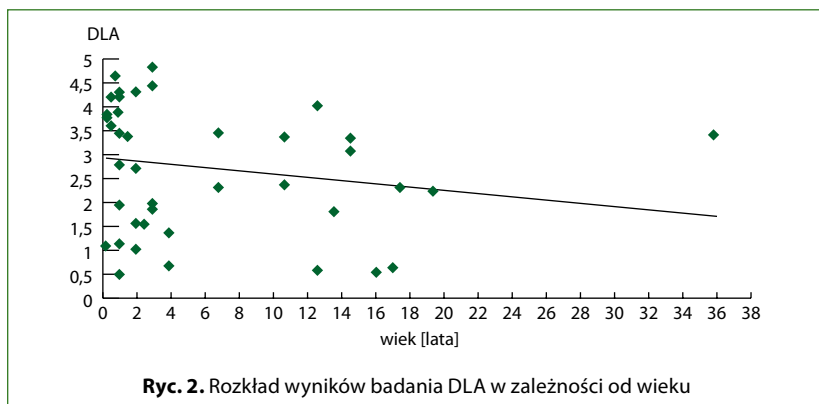
	$> 1 \leq 3$ lat			$> 3 \leq 7$ lat			$> 10 \leq 18$ lat			> 18 lat		
	$< 0,03$	$\geq 0,03$	Średnia (SD)	$< 0,03$	$\geq 0,03$	Średnia (SD)	$< 0,03$	$\geq 0,03$	Średnia (SD)	$< 0,03$	$\geq 0,03$	Średnia
TAC	4	8	0,05 (0,033)	4	0	0,02 (0,006)	4	3	0,02 (0,012)	1	0	0,03

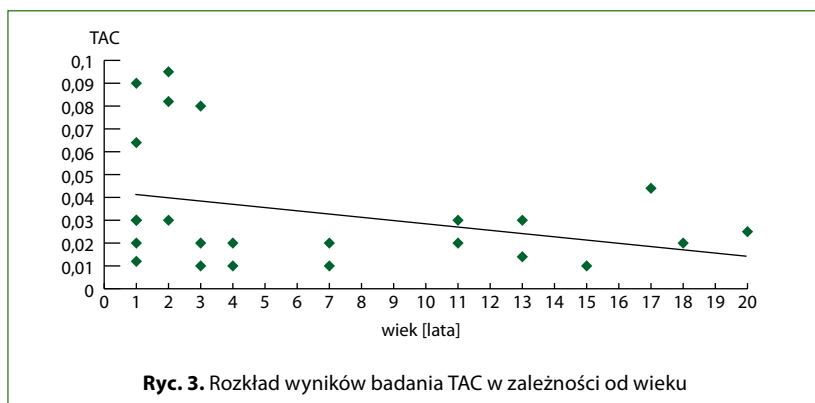
W grupach ≤ 1 r.ż. i $> 7 \leq 10$ lat nie było pacjentów.

Tabela 5. Zależność między wynikami badania TAC a wiekiem

	≤ 3 lat		> 3 lat		G
	n	Średnia (SD)	n	Średnia (SD)	
TAC	12	0,05 (0,033)	12	0,02 (0,01)	4,33*

* Różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$.





Średnie wartości wskaźników DLA i TAC były wyższe w grupie żywionej dietą wysokowęglowodanową w porównaniu z grupą na diecie niskowęglowodanowej (tab. 6.). Tylko w przypadku wyników DLA różnica była statystycznie istotna.

Tabela 6. Zależność między rodzajem diety a wynikami badań DLA i TAC

	Dieta wysokowęglowodanowa		Dieta niskowęglowodanowa		G
	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	
DLA	12/17	2,99 (1,244)	9/2	1,66 (0,975)	5,58*
TAC	6/9	0,04 (0,031)	7/2	0,02 (0,011)	3,38

* Różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$.

Wykazano istotny statystycznie związek między antybiotykoterapią, stosowaną w ciągu 3 miesięcy poprzedzających badanie TAC, a nieuszczelnością jelit (tab. 7.). Nie wykazano takiej zależności w odniesieniu do badania DLA.

Tabela 7. Zależność między antybiotykoterapią a wynikami badań DLA i TAC

	Antybiotyk		Bez antybiotyku		G
	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	
DLA	5/6	3,12 (1,194)	16/13	2,43 (1,351)	0,3
TAC	1/5	0,05 (0,036)	12/6	0,03 (0,023)	4,78*

* Różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$.

Nie wykazano korelacji wyników obydwu testów DLA i TAC (tab. 8.).

Tabela 8. Zależność między szczelnością jelit (TAC) a wynikami badania DLA

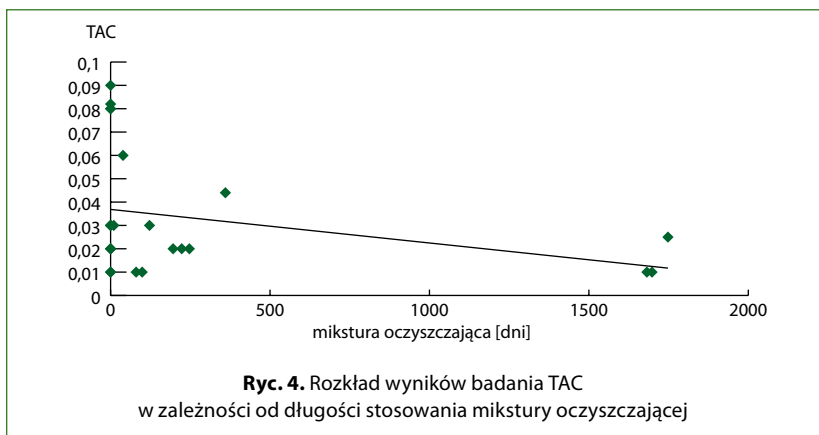
	Nieszczelne jelita (TAC+)		Szczelne jelita (TAC-)		G
	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	
DLA	8/3	2,39 (1,472)	9/4	2,09 (1,001)	0,04

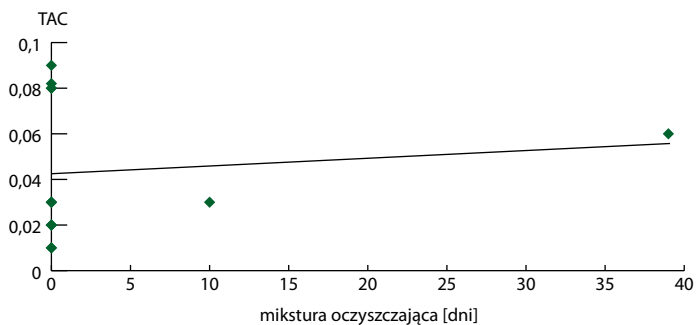
Potwierdzono pozytywny związek między stosowaniem mikstury oczyszczającej a szczelnością jelit (tab. 9., ryc. 4., 5. i 6.).

Tabela 9. Zależność między podawaniem mikstury oczyszczającej [34] a wynikami badań DLA i TAC

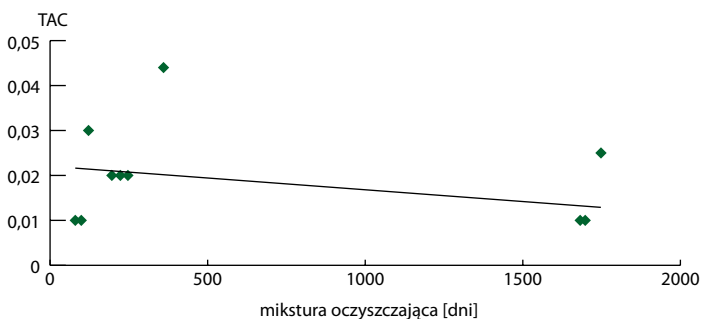
	Mikstura oczyszczająca		Bez mikstury oczyszczającej		G
	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	
DLA	8/4	1,96 (1,168)	13/15	2,91 (1,313)	1,4
TAC	9/1	0,02 (0,01)	5/9	0,04 (0,03)	8,52*

* Różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$.





Ryc. 5. Rozkład wyników badania TAC w zależności od długości stosowania miksury oczyszczającej; grupa 1 (0–39 dni)



Ryc. 6. Rozkład wyników badania TAC w zależności od długości stosowania miksury oczyszczającej; grupa 2 (≥ 80 dni)

Związek między stosowaniem oleju kokosowego a wynikami badań DLA i TAC przedstawiono w tabeli 10. (różnice statystycznie niezamienne).

Tabela 10. Zależność między podawaniem oleju kokosowego a wynikami badań DLA i TAC

	Olej kokosowy		Bez oleju kokosowego		G
	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	Wynik prawidłowy/ nieprawidłowy	Średnia (SD)	
DLA	9/4	2,19 (1,276)	12/15	2,83 (1,329)	2,21
TAC	5/2	0,03 (0,024)	8/9	0,04 (0,036)	1,22

Omówienie wyników

Potwierdzenie występowania inwazyjnej kandydozy u 43% pacjentów WHD ($n = 40$) i nieszczelności jelit u 46% ($n = 24$) wskazuje na wysoką chorobowość w tej populacji. Można z dużym prawdopodobieństwem przyjąć, że obydwa schorzenia mają wpływ także na umieralność. W czasie prowadzenia badań zmarło 5 pacjentów, u 3 z nich rozpoznano inwazyjną kandydozę.

Współistnienie obydwu schorzeń udało się wykazać tylko u 3 pacjentów w grupie 24 badanych obydwu metodami (tab. 1., grupa 1.). Brak istotnego statystycznie związku między wynikami DLA i TAC (tab. 8.) oznacza, że do inwazyjnej kandydozy dochodzi także w inny sposób, np. przez penetrację błony śluzowej dróg oddechowych. Nie można też wykluczyć, że pierwotna penetracja bariery jelitowej przez *Candida* nie zawsze musi prowadzić do inwazyjnej kandydozy. Z drugiej strony wiadomo, że nieszczelność jelit może być spowodowana czynnikami innymi niż *Candida* produkujące D-arabinitol, np. patogennymi bakteriami, rotawirusami, gliadyną, niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi lub E473. Zdiagnozowanie kandydozy i nieszczelności jelit u 3 pacjentów w badanej grupie ($n = 24$) potwierdza wstępną hipotezę o związku obydwu schorzeń.

Kolejny pacjent (nr 23, tab. 1.) był zakażony *Candida rugosa* (gatunek prawdopodobnie nie produkuje D-arabinitolu). Odnotowano u niego najwyższy (!) wynik TAC (0,095). Ponadto w grupie 4 (tab. 1.) – 8 pacjentów z nieprawidłowym wynikiem TAC i prawidłowym DLA – uzyskano dodatnie wyniki BMC w 6 przypadkach. Połączenie badań DLA i BMC pozwala rozpoznać kandydozę (co najmniej w fazie kolonizacji) u 9 spośród 11 badanych z nieprawidłowym wynikiem TAC; stanowi to 82%.

Gatunek *Candida glabrata*, który nie produkuje D-arabinitolu, wyhodowano u 3 pacjentów (tab. 1., pacjenci 11, 12 i 14). U wszystkich trzech badania TAC i DLA dały wyniki negatywne. Objawy alergii obserwowano u 6 pacjentów; wyniki DLA u 4 z nich wskazywały na inwazyjną kandydozę.

Pomimo małej liczebności badanej grupy wykazano negatywny związek statystyczny (wartości zmieniają się w przeciwnym kierunku) między nieuszczelnością jelit a wiekiem (co jest zgodne z obserwacjami innych autorów) (tab. 5.) oraz pozytywny (wartości zmieniają się w tym samym kierunku) między nieuszczelnością jelit a stosowaniem antybiotyku w ciągu 3 miesięcy poprzedzających badanie (tab. 7.). Ponadto potwierdzono pozytywny wpływ mikstury oczyszczającej na szczelność jelit (tab. 9., ryc. 4., 5. i 6.). Stwierdzono też pozytywną zależność (wartości zmieniają się w tym samym kierunku) między dietą wysokowęglowodanową i kandydozą (tab. 6.).

Reasumując, uzyskane wyniki wskazują, że 63–75% dzieci po zakończonym leczeniu szpitalnym i przekazaniu do dalszego leczenia w domu przez hospicjum ma zakażenia *Candida* lub ZNJ. Badania TAC, DLA i BMC pozwalają na ustalenie rozpoznania oraz wprowadzenie i monitorowanie metod mających na celu uszczelnienie bariery jelitowej. Podejmowanie leczenia przeciwgrzybiczego bez spełnienia tego warunku może przynieść tylko doraźny efekt.

Wnioski

1. Dzieci kierowane do hospicjów domowych po zakończeniu leczenia szpitalnego stanowią populację charakteryzującą się wysokim ryzykiem kandydozy i nieszczelności jelit.
2. Rozpoznanie nieszczelności jelit powinno spowodować określone decyzje kliniczne (np. włączenie mikstury oczyszczającej, ochrona dziecka przed antybiotykami).
3. Dieta niskowęglowodanowa powinna być stosowana w leczeniu inwazyjnej kandydozy i w jej zapobieganiu.
4. Badania DLA i TAC wnoszą bardzo wartościowe informacje, modyfikujące postępowanie lekarza hospicjum i chroniące pacjenta przed niebezpiecznymi terapiami.
5. Badania DLA i TAC mogą być wykonywane w warunkach domowych przez odpowiednio wyszkolone pielęgniarki hospicjum domowego.
6. Badania BMC nadal zachowują swoją wartość, ponieważ nie wszystkie gatunki *Candida* produkują D-arabinitol; ponadto pozwalają rozpoznać fazę kolonizacji i określić wrażliwość na leki.

Podziękowania

Autorzy dziękują p. Józefowi Słoneckiemu [34] za inspirację, a Fundacji Warszawskie Hospicjum dla Dzieci za sfinansowanie badań.

Piśmiennictwo

1. Dzierżanowska D., Semczuk K., Garczewska D., et al. Zakażenia u pacjentów Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci – zasady antybiotykoterapii. Opieka paliatywna nad dziećmi. Dangel T. (red.). Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci, Warszawa 2006; 199–206; http://www.hospicjum.waw.pl/phocadownload/Zagadnienia_Kliniczne/ZakazeniaUPacjentowWHD-ZasadyAntybiotykoterapii_2006.pdf.
2. Bernard E.M., Christiansen K.J., Tsang S.F., et al. Rate of arabinitol production by pathogenic yeast species. *J Clin Microbiol* 1981; 14: 189–194.
3. Larsson L., Pehrson C., Wiebe T., et al. Gas chromatographic determination of d-arabinitol/l-arabinitol ratios in urine: a potential method for diagnosis of disseminated candidiasis. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1855–1859.
4. Lehtonen L., Anttila V.J., Ruutu T., et al. Diagnosis of disseminated candidiasis by measurement of urine d-arabinitol/l-arabinitol ratio. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2175–2179.
5. Stradomska T.J., Bobula-Milewska B., Bauer A., et al. Urinary d-arabinitol/l-arabinitol levels in infants undergoing long-term antibiotic therapy. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5351–5354.
6. Stradomska T.J., Sobielarska D., Mielniczuk Z., et al. Determination of urinary D-/L-arabinitol ratios as a biomarker for invasive candidiasis in children with cardiac diseases. *J Med Microbiol* 2010; 59: 1490–1496.
7. Stradomska T.J., Mielniczuk Z. Gas chromatographic determination of D-/L-arabinitol ratio in healthy Polish children. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; 773: 175–181.
8. Celli M., D'Eufemia P., Dommarco R., et al. Rapid gas-chromatographic assay of lactulose and mannitol for estimating intestinal permeability. *Clin Chem* 1995; 41: 752–756.

9. Krause W., Matheis H., Wulf K. Fungaemia and funguria after oral administration of *Candida albicans*. *Lancet* 1969; 293: 598–599.
10. Andrutis K.A., Riggle P.J., Kumamoto C.A., et al. Intestinal lesions associated with disseminated candidiasis an experimental animal model. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2317–2323.
11. Yamaguchi N., Sugita R., Miki A., et al. Gastrointestinal *Candida* colonization promotes sensitization against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice. *Gut* 2006; 55: 954–960.
12. Filler S.G., Swerdloff J.N., Hobbs C., et al. Penetration and damage of endothelial cells by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1995; 63: 976–983.
13. Jong A.Y., Stins M.F., Huang S.H., et al. Traversal of *Candida albicans* across human blood-brain barrier in vitro. *Infect Immun* 2001; 69: 4536–4544.
14. Schweinburg F.B., Seligman A.M., Fine J. Transmural migration of intestinal bacteria; a study based on the use of radioactive *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 1950; 242: 747–751.
15. Wolochow H., Hildebrand G.J., Limanna C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat: effect of microbial size and concentration. *J Infect Dis* 1966; 116: 523–528.
16. Berg R.D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol* 1995; 3: 149–154.
17. Dzierżanowska D. Mikroflora fizjologiczna człowieka. Opieka paliatywna nad dziećmi. Dangel T. (red.). Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci, Warszawa 2009; 157–161; http://www.hospicjum.waw.pl/phocadownload/Zagadnienia_Kliniczne/MikrofloraFizjologicznaCzlowieka_2009.pdf.
18. Huang M.Y., Wang J.H. Impact of antibiotic use on fungus colonization in patients hospitalized due to fever. *J Microbiol Immunol Infect* 2003; 36: 123–128.

19. Liu Z., Li N., Neu J. Tight junctions, leaky intestines, and pediatric diseases. *Acta Paed* 2005; 94: 386–393.
20. Fasano A. Leaky gut and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42: 71-78.
21. Pfaller M.A., Diekema D.J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133–163.
22. Fasano A., Baudry B., Pumplun D.W., et al. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5242–5246.
23. Wang W., Uzzau S., Goldblum S.E., et al. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J Cell Sci* 2000; 113: 4435–4440.
24. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011; 91: 151–175.
25. Yan L., Yang C., Tang J. Disruption of the intestinal mucosal barrier in *Candida albicans* infections. *Microbiol Res* 2013; 168: 389–395.
26. Villar C.C., Kashleva H, Nobile C.J., et al. Mucosal tissue invasion by *Candida albicans* is associated with E-cadherin degradation, mediated by transcription factor Rim101p and protease Sap5p. *Infect Immun* 2007; 75: 2126–2135.
27. Kiefer D., Ali-Akbarian L. A brief evidence-based review of two gastrointestinal illnesses: irritable bowel and leaky gut syndromes. *Altern Ther Health Med* 2004; 10: 22–30.
28. Khoo A.L., Chai L.Y.A., Koenen H.J.P.M., et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ modulates cytokine production induced by *Candida albicans*: impact of seasonal variation of immune responses. *J I D* 2011; 203: 122–130.

29. Kong J., Zhang Z., Musch M.W., et al. Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G208–G216.
30. Vassallo M.F., Camargo C.A. Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 217–222.
31. van Elburg R.M., Uil J.J., Kokke T.M., et al. Repeatability of the sugar-absorption test, using lactulose and mannitol, for measuring intestinal permeability for sugars. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 184–188.
32. Kalach N., Rocchiccioli F., de Boissieu D., et al. Intestinal permeability in children: variation with age and reliability in the diagnosis of cow's milk allergy. *Acta Paediatr* 2001; 90: 499–504.
33. Quadro L., Gamble M.V., Vogel S., et al. Retinol and retinol-binding protein: gut integrity and circulating immunoglobulins. *J I D* 2000; 182: S97–S102.
34. Słonecki J. *Zdrowie na własne życzenie. Tom I.* Wydawnictwo BIOSŁONE 2010. <http://portal.bioslone.pl/oczyszczanie/mikstura>.
35. Bernardes I., Felipe Rodrigues M.P., Bacelli G.K., et al. Aloe vera extract reduces both growth and germ tube formation by *Candida albicans*. *Mycoses* 2012; 55: 257–261.
36. Huang C.B., Altimova Y., Myers T.M., et al. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch Oral Biol* 2011; 56: 650–654.
37. Ogbolu D.O., Oni A.A., Oloko A.P. In vitro antimicrobial properties of coco nut oil on *Candida* species in Ibadan, Nigeria. *J Med Food* 2007; 10: 384–387.

Komentarz eksperta

Z ogromną radością, ale i obawą, przyjąłem propozycję napisania komentarza popularyzującego wyniki tej pracy badawczej. Nie jest łatwo przełożyć terminy naukowe na nasz język potoczny. Niech mi statystycy wybaczą uproszczenia i odwrócenie sensu odrzucania hipotezy zerowej.

Jak piszą Autorzy, celem prezentowanej pracy była weryfikacja przydatności metod diagnostycznych DLA i TAC w ocenie stanu zdrowia. Uzyskane wyniki pozwalają na wyciągnięcie wniosków natury ogólnej, wykraczających znacznie poza zakres *stricte* badawczy. Bez przesady można stwierdzić, że mamy do czynienia z pracą przełomową, otwierającą nowy, obiecujący obszar badawczy.

W skrócie, obie metody polegały na badaniu stężenia specyficznych cukrów w moczu. Pozwalało to na wykrycie inwazyjnej kandydozy (DLA) oraz nieszczelności jelit (TAC). W przypadku metody TAC przed badaniem podawano wcześniej mieszaninę cukrów, takich jak mannitol i laktuloza. Zaletą obu metod jest łatwość wykonania badań i obiektywizacja wyników dzięki pomiarom z wykorzystaniem techniki chromatograficznej. Równolegle, dla porównania wyników, wykonywano badania mikrobiologiczne obecności grzybów. Badano również w osoczu poziom 25(OH)D (forma witaminy D).

Statystyczna analiza wyników ujawniła istotne zależności między kandydozą i nieszczelnością jelit a wiekiem, sposobem żywienia, przyjmowaniem mikstury oczyszczającej i stosowaniem niektórych leków oraz suplementów.

Dla pacjentów i ich opiekunów najważniejsze są oczywiście wnioski praktyczne wynikające z tych badań:

1. Żywienie niskowęglowodanowe wyraźnie wpływa na ograniczenie kandydozy i jako takie powinno towarzyszyć ewentualnym terapiom przeciwgrzybiczym.
2. Mikstura oczyszczająca, składająca się z oleju lnianego, soku z aloesu, soku z cytryny i wody, zmniejsza nieszczelność jelit.
3. Nie szczelność jelit pojawia się po zastosowaniu terapii antybiotykowej oraz niektórych innych leków.
4. Im młodsze dziecko, tym większa nie szczelność jelit, zatem tym bardziej należy je chronić przed ksenobiotykami oraz substancjami mogącymi powodować alergię i nietolerancję.

Takie są twarde wnioski wynikające z rygorystycznej analizy statystycznej. Założony i osiągnięty w pracy poziom istotności $p \leq 0,05$ oznacza, że prawdopodobieństwo, iż ww. wyniki są fałszywe, jest mniejsze lub równe 5% (od tab. 5. do tab. 10.). Inaczej mówiąc, **otrzymane wyniki można przyjąć za spełniające kryterium naukowej wiarygodności z prawdopodobieństwem 95%**. Przekładając prezentowane w pracy wyniki, skądinąd nienaganne pod względem rzetelności naukowej, na potoczny język, można znękanym rodzicom przedstawić pakiet zaleceń, które zmniejszą dolegliwości ich chorych dzieci, a i samym rodzicom mogą poprawić stan zdrowia.

Ponieważ u prawie połowy badanych występowała inwazyjna kandydoza i blisko u połowy nie szczelność jelit, praktyczny wniosek dla opiekunów jest taki, że niezależnie od wykonanych indywidualnie badań wskazane jest wprowadzenie żywienia niskowęglowodanowego, które nie tylko ogranicza kandydozę, ale również, co oczywiste, zapobiega jej rozwojowi. Żywienie niskowęglowodanowe nie jest jakąś szczególną dietą wyłącznie dla chorych, ale raczej, jak wynika z doświadczenia i wielu publikacji, jest **prawidłowym sposobem**

żywienia, który można polecić również opiekunom i członkom rodziny chorego. Osiągnięte w ten sposób korzyści daleko wykraczają poza ograniczenie kandydozy. Żywnienie niskowęglowodanowe polepsza bowiem w ogóle kondycję zdrowotną oraz samopoczucie i przynosi poprawę w tak odległych od siebie chorobach, jak migreny, depresje, cukrzyca, refluks, stany zapalne jelit, choroby reumatyczne itd. Co więcej, to żywnienie jest oparte na wartościowych produktach zwierzęcych z ograniczeniem owoców i przetworów roślinnych typu pieczywa, makarony, soki. Jest tak wartościowe i smaczne, że nie wymaga żadnych wyrzeczeń kulinarnych, a otyła osoba otrzymująca jadłospis niskowęglowodanowy wykrzykuje ze zdziwieniem: „nigdy tak dobrze nie jadłam i chudnę”. Oczywiście schorowane dzieci potrzebują innego jadłospisu niż osoby odchudzające się, ale zasada ograniczenia węglowodanów na korzyść wartościowych produktów zwierzęcych obowiązuje również tu i przynosi profity.

Jak wykazali Autorzy tej pracy, mikstura oczyszczająca przynosi ewidentną korzyść w przypadku nieszczelnych jelit, czyli także wówczas, gdy choremu podawano takie środki, jak antybiotyki, steroidy, cytostatyki, niesteroidowe leki przeciwzapalne, gliadynę (składnik glutenu), estry sacharozy i kwasów tłuszczowych (E473 – emulgator i stabilizator produktów spożywczych, obecny w diecie przemysłowej dla dzieci), kaprynian sodu i inne, cytowane w niniejszej pracy. Autorzy wymieniają następujące choroby, które przebiegają z nieszczelnością jelit u dzieci: celiakię, cukrzycę typu 1, nieswoiste zapalenia jelit oraz choroby atopowe (np. astmę oskrzelową); ponadto czynniki jej sprzyjające: hiperglikemię, niedożywienie, żywienie dożyłne, utrzymywanie cewnika w żyłę centralnej, długi pobyt na oddziale intensywnej terapii. Wykazują, że mikstura oczyszczająca, będąca naturalnym uzupełnieniem żywienia, może być stosowana jako środek profilaktyczny, zapobiegający powstawaniu nieszczelności jelit, również u pozostałych członków rodziny.

Ważnym wnioskiem badaczy jest potwierdzenie, że im młodsze dziecko, tym większa nieszczelność jelit. Od dawna wiadomo, że noworodek otrzymuje z mlekiem matki przeciwciała (immunoglobuliny) chroniące przed różnymi chorobami. Są to kompleksy białkowe, które przewód pokarmowy dorosłego człowieka rozkłada do aminokwasów. Żeby te kompleksy dotarły nienaruszone do krwioobiegu noworodka lub niemowlęcia w formie natywnej (aktywnej biologicznie), jego układ trawienny musi być nieszczelny, a odczyn pH w żołądku obojętny, niepowodujący denaturacji białek. Łamanie tego mechanizmu przez zbyt wczesne wprowadzanie sztucznych odżywek, zawierających obce gatunkowo białka z mleka krowiego i pszenicy, które są wchłaniane bezpośrednio do krwioobiegu, zamiast białek ludzkiego mleka, musiało zaowocować epidemią nietolerancji pokarmowych i celiakii. Potwierdzenie takiego mechanizmu powstawania nietolerancji znajdujemy w Japonii. Tam występuje częsta nietolerancja ryżu jako następstwo wczesnego karmienia niemowląt odżywkami z ryżem. W Europie nietolerancja ryżu jest rzadko spotykana, natomiast często pszenicy i białka krowiego, ponieważ odżywki dla niemowląt europejskich oparte są na pszenicy i mleku krowim.

Stosując ściśle kryteria statystyczne, nie wykazano następujących zależności:

1. Nie wykazano ścisłego związku między wynikami DLA (kandydozą) i TAC (nieszczelnością jelit).
2. Nie wykazano ścisłego związku między wynikami DLA (kandydozą) a antybiotykoterapią.
3. Nie udowodniono ścisłego związku między wynikami TAC (nieszczelnością jelit) a żywieniem niskowęglowodanowym.
4. Nie udowodniono, że mikstura oczyszczająca zmniejsza kandydozę.
5. Nie wykazano jakiegos szczególnie korzystnego wpływu oleju kokosowego.

Szczegółowa analiza wyników wskazuje jednak, że niektóre z tych zależności są bardzo blisko istotnych statystycznie. Być może, gdyby była możliwość przebadania większej grupy chorych, ujawniłyby się następne korelacje.

Ad 1. Nie wykazano ścisłego związku między wynikami DLA (kandydozą) i TAC (nieszczelnością jelit). Gdyby połączono obie metody diagnozowania kandydozy: DLA (badanie biochemiczne) oraz BMC (badanie mikrobiologiczne), mogłoby się okazać, że nieszczelność jelit zazwyczaj współlistnieje z kandydozą. Udowodnienie tego wymagałoby jednak szeroko zakrojonych badań, ponieważ uzyskany w omawianej pracy współczynnik zależności jest bardzo niski ($G = 0,04$). Minimalna wartość tego współczynnika powinna wynosić co najmniej 3,841. Wszystkie pozostałe korelacje zbliżają się lub przekraczają tę liczbę, a tylko zależność DLA/TAC jest bliska zeru. Być może taki związek nie istnieje, jednak otwiera to pole do kolejnych badań: jaki jest mechanizm powstawania nieszczelności, czy uczestniczą w nim inne grzyby nieprodukujące D-arabinitolu, czy może niedobór symbiotycznych pałeczek kwasu mlekowego uniemożliwia prawidłową pracę enterocytów, czy może wreszcie rozwijają się zjadliwe szczepy bakteryjne odporne na antybiotyki i jednocześnie odporne na mechanizmy obronne organizmu?

Ad 2. Nie wykazano ścisłego związku między wynikami DLA (kandydozą) a antybiotykoterapią. Jest to zaskakujące odkrycie, ponieważ zazwyczaj uznaje się, że antybiotyki powodują rozwój grzybic na skutek zniszczenia flory bakteryjnej. Być może w wyniku antybiotykoterapii rozwijają się kolonie innych grzybów niż *Candida*, nieprodukujące D-arabinitolu, więc niewykrywane metodą DLA. Otwiera się tutaj pole do dalszych interesujących badań.

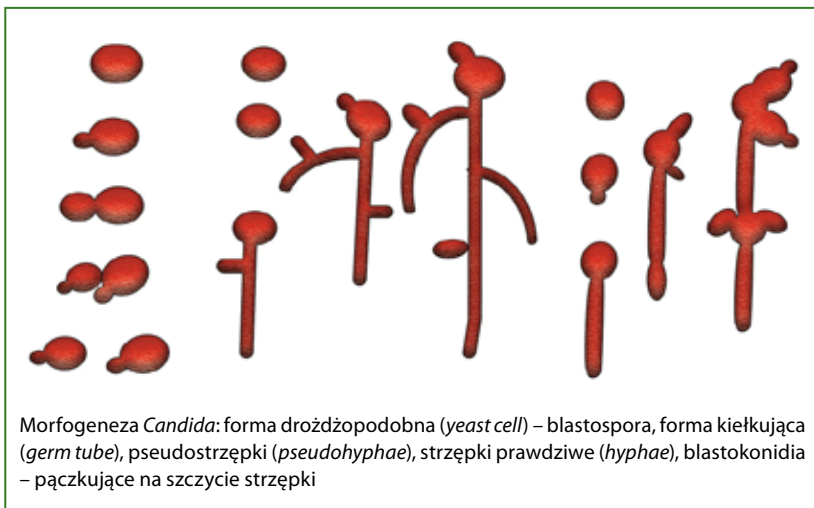
Ad 3. Nie udowodniono ścisłego związku między wynikami TAC (nieszczelnością jelit) a żywieniem niskowęglowodanowym. Jak wykazano w pracy, żywienie niskowęglowodanowe zdecydowanie zmniejsza kandydozę, natomiast nie zmniejsza nieszczelności jelit. Jednak niezupełnie. Zależność między TAC (nieszczelnością) i żywieniem niskowęglowodanowym wynosi $G = 3,38$. To jedyna hipoteza, spośród odrzuconych, bardzo zbliżona do istotności statystycznej $G = 3,841$. Jest bardzo prawdopodobne, że gdyby przebadano większą grupę, ujawniłby się pozytywny związek między szczelnością jelit a żywieniem niskowęglowodanowym.

Ad 4. Nie udowodniono, że mikstura oczyszczająca zmniejsza kandydozę. Zgodnie z wynikami mikstura oczyszczająca jest bardzo skuteczna w uszczelnianiu jelit, natomiast kandydozę ogranicza żywienie niskowęglowodanowe, które wykazuje także słabe działanie uszczelniające, nieco poniżej istotności statystycznej.

Ad 5. Nie wykazano jakiegoś szczególnie korzystnego wpływu oleju kokosowego. Badanie dotyczyło wpływu oleju na kandydozę i nieszczelność jelit. W tym zakresie olej nie okazał się przydatny. Jednak olej kokosowy, który zawiera tłuszcze nasycone w stopniu znacznie większym niż nawet łój wołowy, jest źródłem skondensowanej energii, naturalnym dla zwierząt, zatem łatwo metabolizowanym przez tkanki, bez nadmiernego obciążania wątroby. Z tego powodu może być stosowany jako źródło energii.

Jakie są praktyczne wnioski z tej pracy dla chorych oraz ich rodzin? Niezależnie od przeprowadzenia lub nieprzeprowadzenia badań chorego metodą DLA oraz TAC, na podstawie wyników niniejszej pracy można uznać, że **żywienie niskowęglowodanowe i mikstura oczyszczająca wspólnie mogą skutecznie wspomagać proces leczenia chorych, a także zapobiegać kandydozie i nieszczelności jelit, zarówno u chorego, jak i u osób zdrowych.** W przeciwieństwie do diet preferujących postną owsiankę żywienie niskowęglowodanowe jest smaczne, oparte na wartościowych produktach zwierzęcych i z pożytkiem, bez szczególnych wyrzeczeń, może być stosowane przez wszystkich członków rodziny, co rozwiązuje problem przygotowywania posiłków.

Witold Jarmolowicz
Akademia Zdrowia Dan-Wit
www.dobradieta.pl



Komentarz eksperta

Publikacja naukowa to pisarskie ujęcie przebiegu i wyników badań naukowych. Zazwyczaj jest ona ogłaszana drukiem jako praca naukowa bądź jako artykuł w czasopiśmie naukowym. Publikacja naukowa jest uwieńczeniem badań naukowych podjętych w związku z określonym problemem naukowym. Opublikowanie wyników badań naukowych może mieć dwojakie znaczenie – teoretyczne i praktyczne.

W ujęciu teoretycznym ogłoszenie publikacji naukowej ma na celu udostępnienie osiągnięć naukowych specjalistom w danej dziedzinie i uutorowanie drogi do dalszych badań. Niestety, w dziedzinie farmaceutyczno-medycznej praktycznie nie ma mecenasów sponsorujących obiektywne badania naukowe, a więc mające na celu odkrycie prawdy. Badania te są oparte na grantach, które przyznawane są wnioskowi rokującym co najmniej zwrot poniesionych kosztów, a jeszcze lepiej – zyski. Wnioskowi, które miałyby obalić konieczność czy nawet potrzebę zakupu leków i usług medycznych, grantów się nie przyznaje.

W ujęciu praktycznym ogłoszenie publikacji naukowej ma na celu skłonienie do podjęcia decyzji o wdrożeniu w życie wniosków z przeprowadzonych badań. Szkopuł w tym, że ludzie wierzą we wszystko, co podają media, a jeśli potwierdzają to badania naukowe, są gotowi uwierzyć w każdą głupotę. To pokazuje, jak wielka odpowiedzialność ciąży na badaczach ogłaszających wyniki swoich badań.

Publikacje naukowe pisane są hermetycznym żargonem naukowym, absolutnie niezrozumiałym dla zwykłego zjadacza chleba. Ci, którzy rozumieją ów język, a więc naukowcy, nie podważają ani metodyki badań, ani wysnutych wniosków, ponieważ między naukowcami istnieje niepisana umowa, że nie krytykuje się publikacji innych

naukowców (żeby naszych też nikt nie krytykował), wskutek czego publikacje naukowe bądź są przez innych naukowców wykorzystywane do pozyskania grantów na dalsze badania (by dorobić do skromnej pensji naukowca), bądź są zbywane milczeniem.

Dla zwykłego zjadacza chleba, nierozumiejącego żargonu naukowego, istotne są zawarte w każdej publikacji naukowej wnioski, które, o dziwo, pisane są językiem prostym, a więc zrozumiałym dla każdego. Niestety, wnioski te nie odzwierciedlają metodyki badań, z których zostały wysnute.

Diagnostyka kandydozy i przepuszczalności jelitowej

Badania, których zwieńczeniem jest niniejsza publikacja, zostały sfinansowane przez niezależną od rządu i farmaceutyczno-medycznego biznesu organizację non profit, jaką jest Fundacja Warszawskie Hospicjum dla Dzieci, co gwarantuje, że ich celem było tylko i wyłącznie odkrycie prawdy. Autorzy sformułowali to tak: „Celem pracy jest ocena przydatności dwóch metod diagnostycznych – DLA i TAC”. I bardzo dobrze się stało, że badacze, jako pierwsi, poddali ocenie zastosowanie obu tych metod diagnostycznych jednocześnie, ponieważ badanie kandydozy inwazyjnej bez zbadania szczelności jelit jest obarczone istotną niejednoznacznością.

Test DLA

Podmiotem badania DLA jest D-arabinitol, który jest metabolitem niektórych gatunków grzybów *Candida*, w tym *Candida albicans*. Pojawienie się owego metabolitu w moczu ma świadczyć o kandydozie inwazyjnej, czyli o tym, że grzyb wtargnął do organizmu i wydała swoje metabolity do krwiobiegu. Tak może być, ale niekoniecznie, jeśli bowiem patologicznemu przerostowi

nieinwazyjnych drożdżaków *Candida albicans* w jelicie grubym towarzyszy nieszczelność śluzówki jelita grubego, to ich metabolity przenikną do krwiobiegu i, siłą rzeczy, pojawią się w moczu. W tym przypadku nie mamy do czynienia z kandydozą inwazyjną, mimo to test DLA wykaże, iż mamy. Co zrobi lekarz w takim wypadku? Ani chybi przepisze antybiotyk grzybobójczy, a należało wdrożyć dietę niskowęglowodanową i/lub odstąpić od podawania antybiotyków bakteriobójczych. Tę niejednoznaczność testu DLA (z założenia) powinien rozwiązać test TAC. Ale czy rozwiewa?

Test TAC

Badanym podaje się do wypicia roztwór laktulozy. Jest to syntetyczny dwucukier powstały z połączenia galaktozy i fruktozy, który nie podlega trawieniu w jelicie cienkim, w związku z czym nie jest wchłaniany przez szczelny nabłonek jelita cienkiego. Po pokonaniu bariery jelitowej i przeniknięciu do krwiobiegu, co ma miejsce w przypadku nieszczelności nabłonka jelita cienkiego, laktuloza nie jest metabolizowana, w związku z czym w postaci niezmienionej jest wydalana z moczem. Szkopuł w tym, że laktuloza jest lekiem przeczyszczającym, a jej specyfika polega na tym, że w postaci niezmienionej dociera do jelita grubego, gdzie pod wpływem flory bakteryjnej zostaje rozłożona do dwutlenku węgla i kwasów organicznych, które na drodze osmotycznej zwiększają ilość wody w jelicie grubym, pobudzając jego perystaltykę. Problemem nie jest to, że laktuloza wywołuje efekt przeczyszczający, tylko to, że po dotarciu do jelita grubego przestaje być laktulozą, a to oznacza, że test TAC odzwierciedla tylko szczelność jelita cienkiego, nie zaś jelit w ogóle.

Test TAC nie rozwiewa więc niejednoznaczności testu DLA, gdyż nie kontroluje szczelności śluzówki jelita grubego. Jest to poważny mankament, ale łatwy do usunięcia dzięki zastosowaniu substancji

bardziej trwałej od laktulozy, która nie będzie trawiona nie tylko przez ludzki przewód pokarmowy, ale także przez florę bakteryjną jelita grubego. Czy takie substancje istnieją? Owszem. Przykładem może być betanina, od dawien dawna stosowana w cieście buraczkowym.

Test buraczkowy

Betanina jest barwnikiem nadającym burakom kolor buraczkowy. Nie jest trawiona przez ludzki przewód pokarmowy ani bakterie flory bakteryjnej jelita grubego. Jeśli zatem wypijemy 50 ml soku wyciśniętego z czerwonych buraków to zauważymy, że zabarwi on stolec na buraczkowo, a to znaczy, że betanina po przejściu przez cały przewód pokarmowy zachowuje postać niezmienną. Betanina nie jest metabolizowana przez ludzki organizm, w związku z czym po wniknięciu do krwiobiegu przez nieszczelności jelit jest w całości wydalana z moczem. Jeśli zatem po wypiciu owego soku mocz będzie zabarwiony na czerwono, to wynik testu buraczkowego będzie pozytywny. Po intensywności zabarwienia moczu możemy z grubsza ocenić, czy w jelitach istnieją niewielkie wylomy przepuszczające w sposób niekontrolowany tylko niewielkie ilości zawartości jelit do krwiobiegu, czy też jelita mamy podziurawione jak sito, co by świadczyło, że z światła przewodu pokarmowego przenikają do organizmu nie tylko małe cząsteczki, ale także większe niestrawione fragmenty pożywienia: błonniki, lektyny, alergeny, antygeny, drobnoustroje – wszystko.

Oczywiście że testu buraczkowego nie można uznać za badanie naukowe, jednak dowodzi on istnienia substancji bardziej trwałych od laktulozy, po zastosowaniu których można by było skontrolować nie tylko szczelność jelita cienkiego, ale szczelność jelit w ogóle.

Na koniec

W związku z powyższym narzuca się pytanie: czy prawdziwe są wnioski podsumowujące badania opisane w niniejszej publikacji, wskazujące na szczególnie pozytywny wpływ mikstury oczyszczającej oraz diety niskowęglowodanowej na szczelność jelit? Odpowiedź brzmi: tak, z tym że należy ograniczyć je do szczelności jelita cienkiego, nie zaś jelit w ogóle.

Józef Słonecki
Fundacja Biosłone
www.bioslone.pl

Podsumowanie

Rolą zaproszonych ekspertów było krytyczne spojrzenie na omawiane tu badanie. Służą oni swoją wiedzą, aby w sposób niezależny od autorów dokonać „badania badania”, czyli sprawdzić, czy praca nie zawiera ukrytych błędów, jakie są jej słabe strony, czy przedstawione wnioski są uzasadnione, czy coś pożytecznego z niej wynika. Zaproszony ekspert jest w niezręcznej sytuacji, bo może albo poddać pracę miazdzącej krytyce i sprawić tym przykrość autorom, albo udać, że błędów nie dostrzega, co byłoby nieuczciwe, albo uchylić się od przedstawienia swojego stanowiska, podając jakiś dyplomatyczny pretekst. Tak się jednak nie stało. Panowie Witold Jarmołowicz i Józef Słonecki napisali swoje komentarze w sposób bardzo elegancki, wskazując na pewne słabe punkty naszej pracy i zachęcając do powtórnego ich przemyślenia. Jestem im za to bardzo wdzięczny. Tego właśnie od nich oczekiwałem.

Muszę przyznać, że nasza wstępna hipoteza, dotycząca związku między kandydozą a nieszczelnością jelit, nie została pozytywnie zweryfikowana za pomocą badań DLA i TAC. Nie oznacza to jednak, że taki związek nie istnieje. Na tym polega urok atrakcyjnych hipotez, że czasem pozostają poza naszym zasięgiem, trochę jak motyle unikające umieszczenia w gablotce za szybą.

Przejdźmy do meritum. Do naszego rozumowania musimy wprowadzić następującą korektę:

1. Badanie TAC odnosi się bardziej do jelita cienkiego niż grubego.
2. Badanie DLA odnosi się bardziej do jelita grubego niż cienkiego (w tym sensie, że penetracja ściany jelita przez *Candida* zachodzi głównie tam), ale również do inwazji *Candida* przez inne błony śluzowe.

W związku z tym brak korelacji między TAC i DLA może oznaczać, że:

1. Jelito grube jest nieszczelne, a jelito cienkie szczelne (DLA podwyższone, TAC prawidłowe).
2. Jelita cienkie i grube są szczelne, a inwazja *Candida* następuje przez błony śluzowe układów oddechowego lub moczowo-płciowego (DLA podwyższone, TAC prawidłowe).
3. Penetracji ściany jelita cienkiego dokonuje *Candida*, która nie produkuje D-arabinitolu (DLA prawidłowe, TAC podwyższone).
4. Jelito grube jest nieszczelne, ale aktywność metaboliczna *Candida* została zahamowana przez lek przeciwgrzybiczy (DLA prawidłowe, TAC prawidłowe).

Dodatnia korelacja między nieprawidłowymi, podwyższonymi wartościami wskaźników DLA i TAC oznacza zatem, że nadmiernej aktywności metabolicznej *Candida* produkującej D-arabinitol (zakażenie inwazyjne?) towarzyszy nieszczelność jelita cienkiego

lub żołądka, ewentualnie przełyku (jeżeli laktuloza była podawana doustnie, a nie do żołądka). Stąd bierze się trudność w interpretacji wyników przedstawionych w tabelach 1. i 8. Skoro nie możemy wypowiadać się na temat szczelności jelita grubego na podstawie badania TAC, uprawnione jest jedynie twierdzenie, że u 7 pacjentów z kandydozą nieszczelność jelita cienkiego występowała tylko u 3 (grupa 1.). Nie możemy wykluczyć, że pozostałych 4 (grupa 2.) miało nieszczelne jelito grube (niestety, tego nie wiemy).

W grupie 3. znalazło się 9 pacjentów mających szczelne jelito cienkie. Wśród nich jest 3 chorych (nr 11, 12 i 14) zakażonych *Candida glabrata*, która nie produkuje D-arabinitolu. Nie możemy więc wykluczyć w tych trzech przypadkach ani kandydozy (na podstawie badania DLA), ani nieszczelności jelita grubego (na podstawie badania TAC).

Przyjrzyjmy się w końcu grupie 4. zawierającej 8 badanych. Na pierwszy rzut oka widać, że przeważają w niej najmłodsi pacjenci. Sześcioro z nich było w wieku 1–2 lat. Czterech z 8 w tej grupie ma wartość graniczną TAC, czyli 0,03. Wśród pozostałych 4 (ze znacznie wyższym wskaźnikiem TAC) jest pacjent oznaczony numerem 23, który ma najwyższy wskaźnik TAC (bardzo nieszczelne jelito cienkie), zakażony *Candida rugosa*. Inna nazwa tego grzyba to *Candida cylindracea*. Ponieważ w piśmiennictwie brak informacji, aby wytwarzał on D-arabinitol, należy przyjąć, że nie można go wykryć badaniem DLA. Możemy więc przypuszczać, że ten pacjent powinien znaleźć się w grupie 1. W przypadku pozostałych 3 pacjentów (nr 17, 21 i 22) z wysokim wskaźnikiem TAC i niskim DLA można przypuszczać, że do nieszczelności jelita cienkiego doprowadziły czynniki inne niż *Candida*. Co prawda jeden z nich (nr 22) był skolonizowany *Candida albicans*, więc nie można z całą pewnością wykluczyć udziału tego czynnika.

Powyższe uwagi i spekulacje obnażają słabe punkty pracy. Trzeba uczciwie przyznać, że zastosowane metody badawcze nie pozwalają jednoznacznie potwierdzić ani wykluczyć hipotezy o ewentualnym związku kandydozy z nieszczelnością jelit. Przekonaliśmy się, że należy poszukiwać innych niż TAC metod diagnostycznych w celu określenia udziału *Candida* w powstawaniu nieszczelności jelit, bardziej specyficznych dla procesów zachodzących w jelicie grubym. Czy bez przeprowadzonych badań i bez wnikliwego komentarza Józefa Słoneckiego doszlibyśmy do tego wniosku? Wątpię.

Nie oznacza to jednak, że badane metody diagnostyczne okazały się nieprzydatne. Lekarze i pielęgniarki Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci zaczęli dzięki nim rozumować w nowy sposób. Staramy się przede wszystkim **nie szkodzić** naszym pacjentom, chroniąc ich przed działaniami jatrogennymi farmaceutyków. Wykryliśmy też „przy okazji” aspergilozę u 5 pacjentów, dzięki czemu Fundacja WHD wyremontowała im mieszkania i domy. Uważam więc, że było warto.



Mieszkanie pacjenta WHD z aspergilozą – przed remontem i po remoncie.

Dzięki badaniom otrzymaliśmy potwierdzenie, że korzystne jest stosowanie mikstury oczyszczającej i żywienia niskowęglowodanowego. Stwierdzona korelacja między czasem stosowania mikstury oczyszczającej a wartością badania TAC wskazuje na skuteczność mikstury oczyszczającej, stosowanej powyżej 80 dni, w zapobieganiu i leczeniu nieszczelności jelita cienkiego.

Stwierdzenie, że dieta niskowęglowodanowa ogranicza metabolizm D-glukozy do D-arabinitolu przez *Candida*, jest oczywiście truizmem. To trochę tak, jakby ktoś „odkrył”, że im mniej cukru w zacierze, tym mniej alkoholu w piwie. Niech zatem bardziej wymagający Czytelnik wybaczy, że piszemy o „oczywistych oczywistościach”. Nasze „odkrycie” ma jednak swoją wartość – jako argument w dyskusji ze zwolennikami żywienia zawierającego dużo węglowodanów, tak bardzo lansowanego we współczesnej pediatrii.

Na zakończenie spróbujmy odpowiedzieć na najważniejsze pytanie: **czy we współczesnym świecie można być zdrowym?** Na podstawie swoich doświadczeń mogę na nie odpowiedzieć: tak, można. Oto moje wyniki: DLA – 1,91, TAC – 0,002. Odżywiam się niskowęglowodanowo od 2003 r., a miksturę oczyszczającą stosuję od 2008 r. Nie przyjmuję żadnych leków. Jestem zdrowy. Co więcej, uważam, że wiarygodny lekarz powinien być zdrowy – *medice, cura te ipsum*. Czego również Państwu życzę.

Tomasz Dangel
Fundacja WHD



Załącznik 1.

Procedura nr 116 Test laktuloza/mannitol – przepuszczalność jelitowa

1. Test absorpcji cukrów – metoda oceny przepuszczalności jelitowej, wykonuje pielęgniarka Hospicjum w domu pacjenta.
2. Badanie przeprowadzamy po 8-godzinnej głodzie nocnym (niemowlęta zależnie od długości przerwy nocnej). W dniu badania pacjent nie otrzymuje leków, płynów, pokarmów do żołądka, jest na czczo.
3. Rzeczy potrzebne do przeprowadzenia testu:
 - uprzednio wyliczony wg masy pacjenta roztwór laktulozy/mannitolu (2 ml/kg m.c.),
 - torba termiczna ze schłodzonymi wkładami (trzy wkłady),
 - odczynnik 0,2 ml 0,12% *chlorhexidine gluconate* (pielęgniarka pobiera w strzykawkę insulinówkę),
 - strzykawka insulinówka + igła (do podania 0,2 ml 0,12% *chlorhexidine gluconate*),
 - cewnik Foleya (rodzaj i rozmiar cewnika należy dostosować do płci i wieku dziecka),
 - worek do zbiórki moczu,
 - dwa pojemniki na mocz,
 - czerwony worek.



4. Roztwór laktulozy/mannitolu należy transportować w torbie termostaticznej ze schłodzonymi wkładami.



5. Odczynnik 0,2 ml 0,12% *chlorhexidine gluconate* należy transportować w torbie termicznej ze schłodzonymi wkładami.
6. W domu pacjenta pielęgniarka wykonuje cewnikowanie cewnikiem Foleya wg procedury nr 65.

UWAGA: U starszych, przytomnych pacjentów, którzy sami potrafią oddać mocz, cewnikowanie nie jest potrzebne.

7. Pielęgniarka pobiera próbkę moczu (10 ml) bezpośrednio po zacewnikowaniu pacjenta do opisanego w następujący sposób pojemnika:
 - imię i nazwisko pacjenta (drukowanymi literami),
 - data i godzina pobrania,
 - próbka „0”.
8. Pojemnik z próbką „0” moczu pielęgniarka wkłada do lodówki w domu pacjenta.



9. Roztwór 0,2 ml 0,12% *chlorhexidine gluconate* wpuszcza strzykawką insulinówką do worka przed podłączeniem cewnika do worka (należy sprawdzić, czy worek jest zamknięty od dołu).



10. Pielęgniarka łączy worek z cewnikiem.
11. Pielęgniarka podaje pacjentowi wyliczoną dawkę laktulozy/mannitolu (2 ml/kg m.c., maksymalnie 100 ml)
12. Worek na mocz należy przechowywać w torbie termicznej ze zmrożonym wkładem.



13. Drugi wkład należy przechowywać w lodówce w celu zachowania stałej, chłodnej temperatury moczu.

14. Przez 5 godz. od czasu podania roztworu zbieramy mocz do worka.
15. Po 2 godz. od podania roztworu można podać dziecku płyny, a nakarmić i podać leki po 3 godz.
16. Po 5 godz. kończymy zbiórkę moczu i następnie:
 - zapisujemy objętość zebranego moczu,
 - zapisujemy objętość podanych płynów,
 - zapisujemy objętość podanego roztworu laktulozy/mannitolu,
 - **mocz należy dokładnie wymieszać w worku,**
 - należy pobrać 10 ml moczu do drugiego pojemnika na mocz opisanego w następujący sposób:
 - imię i nazwisko pacjenta (drukowanymi literami),
 - data i godzina pobrania,
 - objętość całkowita moczu,
 - próbka „1”,
 - poinformować laboratorium o podaniu premedykacji lub leków neurologicznych przed rozpoczęciem lub w trakcie badania.
17. **Pojemnik z próbką „1” moczu pielęgniarka wkłada do lodówki w domu pacjenta.**
18. Pielęgniarka usuwa cewnik Foleya, wyrzuca do czerwonego worka (procedura nr 56).
19. Pacjent otrzymuje na zlecenie lekarza Furagin w należytym dawkowaniu i dzień po.
20. Pielęgniarka przenosi próbki moczu „0” i „1” z lodówki do torby termostatycznej ze schłodzonymi wkładami i zawozi do laboratorium IP-CZD (wejście dla poradni konsultacyjnych/blok „B”/Zakład Medycyny Metabolicznej/domofon 34).
21. Pielęgniarka wykonująca badanie jest odpowiedzialna za odbiór wyniku badania.
22. Osoby odpowiedzialne za procedurę: Małgorzata Murawska, Magdalena Karkowska.



Załącznik 2.

Procedura nr 117 Pobieranie moczu na badanie D-/L-arabinitolu

1. Mocz pobieramy przez zacewnikowanie wg procedury nr 65 lub bezpośrednio z cewki moczowej.
2. Minimalna objętość moczu to 5 ml.
3. Bezpośrednio po uzyskaniu moczu próbkę z moczem należy włożyć do lodówki, a transportować w torbie termostatycznej ze schłodzonymi wkładami.
4. Próbkę z moczem należy opisać imieniem i nazwiskiem pacjenta, podać datę urodzenia, datę i godzinę pobrania.
5. Próbkę moczu należy dostarczyć tego samego dnia, do godz. 15.00 – IP-CZD/ parter, blok B/ Pracownia Zaburzeń Metabolizmu/domofon 34.
6. Rutynowe cewnikowanie wykonuje lekarz, pielęgniarka lub rodzice/opiekunowie pacjenta.
7. W domu pacjenta lekarz/pielęgniarka wykonuje cewnikowanie pęcherza w jałowych rękawiczkach, rodzice metodą „czystych rąk”.
8. Osoba wykonująca cewnikowanie powinna przestrzegać zasad higieny i aseptyki.
9. W warunkach domowych dokładne umycie rąk i krocza pacjenta przed cewnikowaniem jednorazowymi jałowymi cewnikami zabezpiecza przed wystąpieniem zakażenia układu moczowego u chorego dziecka.
UWAGA: przeciwwskazaniem do cewnikowania jest:
podejrzenie urazowego uszkodzenia cewki moczowej – krwawienie z cewki moczowej, krwiak w okolicy krocza.
UWAGA: W przypadku pojawienia się trudności w cewnikowaniu należy zaprzestać kolejnych prób i powiadomić pielęgniarkę dyżurną.
10. Zestaw do cewnikowania pęcherza moczowego: cewnik (rodzaj i rozmiar cewnika należy dostosować do płci i wieku dziecka), środek odkażający – *Octenisept*, żel znieczulający z 2% lidokainą, pojemnik na mocz, jałowe gaziki i rękawiczki (gdy cewnikowanie wykonuje lekarz/pielęgniarka).

Cewniki pod względem rozmiaru oraz rodzaju

Wiek	Rodzaj cewnika	
	Chłopcy	Dziewczynki
Noworodki i niemowlęta	4 F – Nelatona, cewniki do karmienia noworodków	4–6 F – Nelatona, cewniki do karmienia noworodków
1–2 lata	6 F – Tiemana, Foley	6–8 F – Nelatona, Foley
3–5 lat	8 F – Tiemana, Foley	8–10 F – Nelatona, Foley
6–10 lat	8–10 F – Tiemana, Foley	10–12 F – Nelatona, Foley
> 10 lat	12 F – Tiemana, Foley	12–14 F – Nelatona, Foley

11. Przed zabiegiem dokładnie wyjaśnić dziecku i/lub rodzicom dziecka cel cewnikowania oraz sposób wykonania zabiegu.
12. Cewnikowanie pęcherza moczowego wykonuje się u pacjenta ułożonego na plecach.
13. Wykonanie zabiegu z wykorzystaniem przygotowanego wcześniej zestawu (patrz pkt 5).

Chłopcy	Dziewczynki
Umyj ręce wodą z mydłem, oplucz i osusz, następnie zastosuj <i>Octenisept</i> (w przypadku cewnikowania przez lekarza/pielęgniarkę załóż jadalne rękawiczki)	
Umyj okolice krocza wodą z mydłem	
Zsuń napletek z żołądki i uchwyc prącie, przytrzymując je w pozycji pionowej	Rozchyl wargi sromowe większe i mniejsze, uwidaczniając ujście cewki moczowej
Przy odprowadzonym napletku dokładnie umyj wodą z mydłem okolice ujścia cewki moczowej, zawsze od przodu do tyłu (wykonaj tę czynność czterokrotnie, zmieniającymi gazikami). Przemyj ujście cewki moczowej <i>Octeniseptem</i>	Dokładnie umyj wodą z mydłem okolice ujścia cewki moczowej i przedsionek pochwy, zawsze od przodu do tyłu (wykonaj tę czynność czterokrotnie, zmieniającymi gazikami). Oplucz wodą. Przemyj ujście cewki moczowej <i>Octeniseptem</i>
Uchwyc cewnik odpowiedniego rozmiaru, na jego koniec nałóż żel ze środkiem znieczulającym (2% lidokaina)	
Wprowadź cewnik do ujścia cewki moczowej i wsuwaj go w osi prącia. Jeżeli nie ma zwężenia, cewnik swobodnie dochodzi do zwieracza zewnętrznego, gdzie napotyka niewielki opór (w tym miejscu cewka moczowa zagina się dogłotowo)	Wprowadź cewnik do ujścia cewki moczowej prostopadłe do powierzchni skóry i powoli wsuwaj do pęcherza moczowego
Zmień położenie całego trzonu prącia na poziome (ujściem cewki moczowej w kierunku stóp). Dzięki temu zmniejszy się kąt zagięcia cewki, a cewnik zmieni swój kierunek i wsunie się do pęcherza	
Cewnik wprowadzamy do momentu wypływu moczu	
Po całkowitym opróżnieniu pęcherza moczowego i usunięciu cewnika ponownie zastosuj na ujście cewki moczowej <i>Octenisept</i>	
Po zakończeniu cewnikowania umyj ręce wodą z mydłem, oplucz i osusz, zastosuj środek dezynfekcyjny do rąk (<i>Skinman</i>)	
UWAGA: Przechodzenie cewnika przez okolice zwieracza zewnętrznego (przepony moczowo-płciowej) może być dla dziecka nieprzyjemne, dlatego wprowadzaj cewnik bardzo delikatnie i powoli. W chwili wyczuwalnego oporu należy wykonać kilka ruchów w bok trzonem prącia skierowanym ku dołowi	UWAGA: Rzadko wyczuwalny jest niewielki opór przy dościci cewnika do pęcherza moczowego
Nie używaj siły przy wsuwaniu cewnika	

Załącznik 3.

Informacja dla rodziców na temat testu absorpcji cukrów – metody oceny przepuszczalności jelitowej

Szanowni Państwo,

Przewód pokarmowy stanowi największą powierzchnię, jaką organizm człowieka kontaktuje się ze światem zewnętrznym. Wynosi ona kilkaset metrów kwadratowych. Stanowi barierę, która umożliwia wchłanianie składników odżywczych, a nie pozwala na przechodzenie substancji szkodliwych i drobnoustrojów. Przyczyną wielu chorób jest zaburzenie działania bariery jelitowej. Zaburzenie polegające na przepuszczaniu substancji szkodliwych i drobnoustrojów nazywane jest „zespołem nieszczelnego jelita”. Do zespołu nieszczelnego jelita może doprowadzić np. grzybica będąca powikłaniem stosowania niektórych leków (np. antybiotyków) albo zaburzeń odporności.

Dzięki współpracy z Zakładem Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej w Instytucie „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” uzyskaliśmy możliwość oceny przepuszczalności jelitowej u naszych pacjentów. Metoda ta, nazywana testem absorpcji cukrów, polega na:

1. Podaniu do przewodu pokarmowego (u naszych pacjentów najczęściej do żołądka) roztworu wodnego zawierającego dwie substancje – mannitol i laktulozę. Pierwsza z nich ulega w jelitach łatwemu wchłanianiu, nie jest metabolizowana i w postaci niezmienionej zostaje wydalona z moczem. Druga substancja nie wchłania się ze szczelnego przewodu pokarmowego. Jej pojawienie się w moczu świadczy o nieszczelności jelit. Ona również nie jest metabolizowana.
2. Pobranie moczu przez cewnik z pęcherza moczowego po upływie 5 godzin od podania roztworu. U starszych, przytomnych pacjentów, którzy sami potrafią oddać mocz, cewnikowanie nie jest potrzebne.
3. Określeniu w laboratorium stężeń obydwu substancji w moczu.

Podanie roztworu przez pielęgniarkę WHD następuje rano, gdy dziecko jest na czczo. Napoić dziecko można po 2 godzinach, a nakarmić i podać leki po 3 godzinach. Test jest bezpieczny, ponieważ obydwie substancje (mannitol i laktuloza) nie są szkodliwe i w postaci niezmienionej zostają usunięte z moczem. Jediną niedogodność dla dziecka stanowi cewnikowanie

pęcherza moczowego. Przewidujemy, że test absorpcji cukrów pozwoli na wczesne wykrywanie zaburzeń przepuszczalności jelitowej i umożliwi właściwą ocenę stosowanych przez nas metod zapobiegania i leczenia. Zwracam się z prośbą o wyrażenie zgody na przeprowadzenie testu absorpcji cukrów u Państwa dziecka.

Z wyrazami szacunku
dr hab. n. med. Tomasz Dangel

Załącznik 4.

Zgoda rodziców na test absorpcji cukrów u pacjenta Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci

Ja, (imię i nazwisko drukowanymi literami)

.....

przeczytałem(-am) i zrozumiałem(-am) załączoną informację na temat testu absorpcji cukrów.

Wyrażam zgodę na przeprowadzenie testu absorpcji cukrów u mojego dziecka

.....

(imię i nazwisko dziecka)

Podpis

(podpis rodzica/opiekuna prawnego)

Data

Podpis

(podpis lekarza)

Data

SPIS TREŚCI

Słownik	5
Słowo wstępne	7
Dziagnostyka kandydozy i przepuszczalności jelitowej	9
Streszczenie	9
Wstęp	10
Cel pracy	14
Materiały i metody	15
Wyniki	19
Omówienie wyników	26
Wnioski	28
Podziękowania	28
Piśmiennictwo	29
Komentarz eksperta Witold Jarmołowicz	33
Komentarz eksperta Józef Słonecki	40
Podsumowanie	44
Załącznik 1. Procedura nr 116 – Test laktuloza/mannitol – przepuszczalność jelitowa	49
Załącznik 2. Procedura nr 117 – Pobieranie moczu na badanie D-/L-arabinitolu	53
Załącznik 3. Informacja dla rodziców na temat testu absorpcji cukrów – metody oceny przepuszczalności jelitowej	55
Załącznik 4. Zgoda rodziców na test absorpcji cukrów u pacjenta Warszawskiego Hospicjum dla Dzieci	56

Przekaż  podatku...

Fundacja
Warszawskie
Hospicjum  dla Dzieci

KRS:
0000097123

www.hospicjum.waw.pl

...bo jutro mnie nie będzie





Fundacja
Warszawskie Hospicjum dla Dzieci

Egzemplarz bezpłatny
ISBN 978-83-938474-0-2