

SPRÁVY KLINICKEJ MIKROBIOLÓGIE

ISSN 1335-8219
EV 2992/09

Ročník XI.
Číslo 4/2011

Časopis

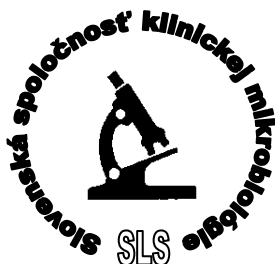
Slovenskej spoločnosti klinickej mikrobiológie

Slovenskej lekárskej spoločnosti

a

Sekcie klinickej mikrobiológie

Slovenskej lekárskej komory



Obsah:

- 1 Príhovor redakčnej rady
- 2-15 Mykotické infekcie rizikových pacientov novorodeneckého oddelenia FNŠP F. D. Roosevelta v rokoch 2008-2010, *Bečková, Z., Purgelová, A., Mošková, M.*
- 16-36 Výskyt mikroskopických húb v biologických vzorkách od pacientov s otitis externa, *Sládeková M., Volleková A., Lisalová M., Pőczová M.*
- 37-49 Biofilm a jeho význam v klinickej praxi, *Novohradská Silvia, Borecká Silvia*
- 50-59 Mykotoxikózy – ochorenia spôsobené toxickými produktmi mikromycét, *Elena Piecková,*
- 60-64 Zápisnica z výboru SSKM SLS (11.11.2011, Bratislava)

Pokyny pre autorov :

Správy klinickej mikrobiológie uverejňujú pôvodné práce, metodické postupy, diskusné príspevky, informácie z odboru, správy a pod..

Príspevok píšete iba na jednej strane papiera na PC a zasielajte do redakcie e-mailom alebo poštou, v tom prípade aj v elektronickej verzii (CD, disketa). Píšete v slovenskom, českom, alebo anglickom jazyku, pôvodné práce v rozsahu najviac pätnásť strán formátu A5, v počítači typ písma Times New Roman, veľkosť 11, riadkovanie 1, zarovnanie do bloku (po oboch stranách). V rukopise používajte súvislý text bez predvolených odstavcov. Fotografickú dokumentáciu možno uverejniť až po jej schválení a posúdení v tlačiarni. Rukopis môže obsahovať prehľadné grafy a obrázky v čiernobielym prevedení. Príspevky musia byť stručné, štylisticky i jazykovo správne. Cudzí slová musia byť písané podľa slovníka cudzích slov. V nadpise autor uvedie plný názov pracoviska, z ktorého práca pochádza. Ak má práca viacerých autorov z viacerých pracovísk, uvedú sa všetci autori a všetky pracoviská. Citácie musia spĺňať požiadavky CSN 010197. Príspevky posielajte na adresu vedúceho redaktora alebo jeho zástupcu. Uveďte svoj e-mail, resp. telefón alebo fax, aby bola možná pružná komunikácia redakcie a autora. Pôvodné práce a prehľadné články (súborné referáty) sú recenzované. Všetky uverejnené príspevky sú nehonoranované.

SPRÁVY KLINICKEJ MIKROBIOLÓGIE

Vydávajú :

**Slovenská spoločnosť klinickej mikrobiológie,
Slovenskej lekárskej spoločnosti a
Sekcia klinickej mikrobiológie
Slovenskej lekárskej komory**

ako informačný bulletin pre svojich členov.

Redakčná rada :

doc. MUDr. Sylvia Bazovská, CSc., Bratislava

sylvia.bazovska@fmed.uniba.sk

RNDr. Jaroslav Bojňanský, Bratislava bojnansky@hpl.sk

MUDr. Rudolf Botek, Piešťany botek@laboratoria.sk

MUDr. Juraj Hanzen , Bratislava hanzen@hpl.sk

MUDr. Dušan Krkoška, CSc, Martin krkoska@mfn.sk

RNDr. D. Lacková, PhD, Levice dlackova@zoznam.sk

prof. MUDr. Anna Líšková, PhD, Nitra liskova@fnnitra.sk

doc. MUDr. Milan Nikš, CSc., Bratislava niks.m@gmx.at

doc. RNDr. František Ondriska, PhD, Bratislava ondriska@hpl.sk

MUDr. A. Petrovičová, CSc., Bratislava anna.petrovicova@szu.sk

RNDr. Martin Sojka, Bratislava martin.sojka1@gmail.com

Vedúci redaktor :

MUDr. A. Petrovičová, CSc., Bratislava

Zástupca vedúceho redaktora :

doc. MUDr. Milan Nikš CSc., Bratislava

Technický redaktor:

RNDr. Jaroslav Bojňanský, Bratislava

Adresa redakcie :

Oddelenie virológie

SZU, Limbová 12, 833 03 Bratislava

Vytlačila:

**Toto číslo bolo vydané s podporou
SEKCIE KLINICKEJ MIKROBIOLÓGIE
SLOVENSKEJ LEKÁRSKEJ KOMORY**

Príhovor redakčnej rady

Milé kolegyně a kolegovia,

celý tento rok sme sa borili s problémom výroby a distribúcie nášho časopisu. Hoci redakčná rada pripravila jednotlivé čísla do tlače včas (č.1 – február; č.2. júl; č. 3. september a č. 4 november), nepodarilo sa zabezpečiť tlač a rozoslanie tak, aby ste mali časopis aktuálne k dispozícii. Preto – a tiež vzhľadom na prevládajúcu tendenciu vo vydávaní odborných časopisov – sa výbor SSKM uzniesol v roku 2012 prejsť na modernejší a lacnejší spôsob – Správy klinickej mikrobiológie budú v digitálnej forme a budú dostupné hneď po schválení redakčnou radou a technickom spracovaní na www stránke SSKM. Táto stránka je v súčasnosti vo finálnej etape prípravy, až bude plne funkčná, bude na nej časopis prístupný, a to aj staršie ročníky. Verím, že túto zmenu privítate. Ak niekto z vás nemá v súčasnosti prístup na Internet, je práve čas na to, aby ste sa na túto zmenu aj vy pripravili. Zároveň vám budeme vďační za vaše konštruktívne pripomienky, a to tak k vydávaniu časopisu, ako aj k štruktúre a ostatných náležitostiach našej webovej stránky.

Verím, že si užívate tohoročné krásne „babie leto“, aspoň to by nám mohlo spríjemniť súčasnú situáciu v „transformujúcom?“ sa zdravotníctve.

Keďže je toto posledné tohoročné číslo časopisu, dovoľte, aby som vám v mene celej redakčnej rady popriala pokojné a pohodové Vianoce a v roku 2012 veľa zdravia, úspechov a čo najviac dobrých správ.

A. Petrovičová

Mykotické infekcie rizikových pacientov novorodeneckého oddelenia FNsP F.D. Roosevelta v rokoch 2008-2010

Bečková, Z.¹, Purgelová, A.¹, Mošková, M.²

¹*OKM FNsP FDR Banská Bystrica*

²*Novorodenecké odd. FNsP FDR Banská Bystrica*

Úvod

Invazívne mykózy predstavujú závažné, často až život ohrozujúce infekčné ochorenia, vyvolané kvasinkami a vláknitými hubami.

Medzi pacientov s rizikom vzniku invazívnej fungálnej infekcie sa okrem iných radia aj novorodenci s nízkou pôrodnou hmotnosťou (NNPH), s nízkym gestačným vekom, ako aj po rozsiahlych chirurgických zákrokoch (1). K rizikovým faktorom, ktoré ohrozujú populáciu pacientov novorodeneckého oddelenia patria:

- dlhodobá terapia širokospektrálnymi antibiotikami, najmä treťogeneračné cefalosporíny
- parenterálna výživa
- centrálné venózne katétre
- endotracheálna intubácia
- kolonizácia
- dĺžka pobytu na JIS
- kontaminácia prostredia (1-7).

Incidencia invazívnych mykóz u novorodeneckých pacientov sa pohybuje v širokom rozmedzí od 0,57% po 13,2%, z toho vyšší výskyt je vždy zaznamenaný u pacientov s hmotnosťou <1500g (NVNPH) a <1000g (NENPH) 4,8%-13,2% (2, 4, 5, 8-12).

Vo väčšine prípadov ide o endogénnu infekciu, kedy kolonizujúca flóra, predovšetkým v gastrointestinálnom trakte, predstavuje zdroj nákazy a je považovaná za hlavný rizikový faktor invazívnej mykózy u nezrelých novorodencov (2-4, 13).

Kolonizácia viacerých miest na tele, ako aj kontaminácia CVK je podľa Manzoni a kol. signifikantne asociovaná s invazívnou fungálnou infekciou.

Pôvodná práca

Je zároveň prediktorom progresie do fungálnej sepsy u NVNPH (2). Oneskorené odstránenie CVK má súvis so zvýšením mortality a rizikom poškodenia nervovej sústavy (5, 6).

Príčinou exogénnej infekcie môžu byť kontaminované infúzne roztoky, parenterálna výživa, injekcie, intravenózne katétre, močové katétre. Potenciálnym rezervoárom nozokomiálneho prenosu mikromycét sú aj ruky ošetrojúceho personálu (14-17).

Etiologicky sa najčastejšie uplatňujú kvasinky rodu *Candida*. Hoci v poslednej dobe sa čoraz častejšie objavujú mykózy spôsobené inými druhmi kvasiniek a vláknitých húb, dominantným pôvodcom invazívnych fungálnych infekcií aj naďalej zostáva rod *Candida*.

U pacientov hospitalizovaných na novorodeneckých JIS predstavujú kandidémie dominantný typ invazívnej mykózy. Väčšinu nozokomiálne získaných infekcií krvného riečiska spôsobuje *Candida albicans*, je zodpovedná za ťažké a rýchlo progredujúce infekcie. Z non-albicans kandidíd je *Candida parapsilosis* najčastejšie izolovaným druhom, spôsobujúcim kandidémie u nedonosených novorodencov s NPH (10, 11, 14, 16, 18). *Candida parapsilosis* je ubikvitárny mikroorganizmus z prostredia, a hoci primárny rezervoár v nemocniciach nie je známy, kmene boli izolované z rúk zdravých nosičov - zdravotníckeho personálu (14-17, 19). Dokumentovaný bol výskyt invazívnej mykózy (kandidémie, endokarditídy) spôsobenej *C. parapsilosis*, bez predchádzajúcej kolonizácie alebo infekcie slizníc u daných pacientov, čo poukazuje na jej exogénny zdroj (14, 19, 20). Táto kandida je menej virulentná, ale schopnosť adherovať na umelé materiály jej dáva výhodu v nemocničnom prostredí. Rovnako aj jej rýchly rast a tvorba biofilmu v roztokoch s vysokou koncentráciou glukózy predstavuje nebezpečenstvo pre novorodencov s totálnou parenterálnou výživou (15, 21). V kontraste s *C. albicans* spôsobuje menej závažné infekcie, nestretávame sa s akútnymi letálnymi prípadmi, ale aj napriek tomu kandidémia spôsobená *C. parapsilosis* významne zvyšuje morbiditu a mortalitu pacientov novorodeneckej JIS (16).

Pôvodná práca

Klinický obraz invazívnej mykózy závisí od postihnutého miesta, u novorodencov veľmi často prechádza do obrazu sepsy a je klinicky neodlíšiteľný od bakteriálnej infekcie. Typické je pretrvávanie horúčky napriek adekvátnej antibiotickej terapii (6).

Diagnostika invazívnych mykóz vyžaduje spoluprácu klinika a mikrobiológa. Invazívne mykózy sa klasifikujú do troch skupín podľa klinických prejavov, laboratórných kritérií a rizikových faktorov: dokázaná, pravdepodobná a možná invazívna mykóza. Každá z uvedených skupín spĺňa presne stanovené diagnostické kritériá (1). Mikrobiologické kritériá invazívnych mykóz predstavuje:

- pozitívny kultivačný záchyt mikromycét v hemokultúre, likvore, moči (s vylúčením kontaminácie), BAL, spúte a iných sterilných telesných tekutinách
- pozitívny aspergilový antigén vo vzorkách krvi, likvoru, BAL, pozitívny 1,3 beta-D-glukán v krvi, pozitívny kryptokokový antigén v krvi, likvore, v moči
- pozitívna PCR z relevantných vzoriek
- pozitívna mikroskopia sterilných telesných tekutín (1).

Okrem mikrobiologickej diagnostiky môže pomôcť USG, rádiologická diagnostika.

Názory na profylaktické podávanie antimykotík u novorodencov sa rôznia. Profylaxia flukonazolom u NVNPH podľa Kaufmana efektívne redukuje incidenciu fungálnej kolonizácie a systémových fungálnych infekcií (22). Parikh a kol. uvádza tiež redukciu kolonizácie, avšak bez vplyvu na incidenciu invazívnych infekcií (23). V štúdiu Kicklightera a kol. podávanie flukonazolu prvých 28 dní života signifikantne zredukovalo výskyt rektálnej kolonizácie bez nárastu rezistencie na flukonazol (13). Healy a kol. hodnotili výskyt invazívnej kandidózy pred a po začatí používania flukonazolovej profylaxie s výsledkom signifikantného poklesu výskytu invazívnej kandidózy u NENPN. Nestretli sa ani s nárastom rezistencie na flukonazol a zastúpenie jednotlivých druhov kvasiniek zostalo zachované.(9).

Pôvodná práca

Manzoni a kol. v multicentrickej randomizovanej štúdií dospel k rovnakému záveru v skupine detí s hmotnosťou <1500g. Popisuje redukciu kolonizácie aj invazívnych infekcií, uvádza väčšiu efektivitu podávania flukonazolu v profylaxii ako v následnej eradikácii kvasiniek kolonizujúcich sliznice(8).

Ďalší autori sledovali skúsenosti s profylaxiou na jednotlivých pracoviskách: antifungálnu profylaxiu používala jedna tretina, dve tretiny ako dôvod neindikovania profylaxie uvádzali riziko selekcie flukonazol-rezistentných druhov, ako aj nejasné kritériá, na ktorých sa zakladá rozhodnutie o profylaxii (24).

Stretávame sa s rôznymi názormi na riziko rozvoja rezistencie počas profylaxie flukonazolom (25-57), autori sa však zhodujú v potrebe vyselektovať skupinu novorodeneckých pacientov s vysokým rizikom invazívnej kandidózy. Najefektívnejšou sa javí profylaxia u detí s hmotnosťou pod 1000 g a gestačným vekom pod 27 týždňov, čo potvrdzujú aj skúsenosti z pracovísk, kde sú nízka pôrodná hmotnosť a včasný gestačný vek najčastejšou indikáciou k začatiu profylaxie (9, 22, 24).

K profylaktickým opatreniam patrí aj racionálna antibiotická liečba a dodržiavanie hygienicko-epidemiologického režimu na zníženie rizika exogénnych kvasinkových infekcií.

V prípade výskytu invazívnej mykózy je veľmi dôležité včasné začatie antimykotickej terapie. V liečbe u detí je možné použiť flukonazol, vorikonazol, amphotericín B, z echinokandínov caspofungín, mikafungín. Dávkovanie jednotlivých antimykotík je uvedené v tab. č. 1 (1, 28).

Cieľom našej práce bolo sledovať a zhodnotiť výskyt kvasiniek v biologických materiáloch rizikových pacientov novorodeneckého oddelenia, a súčasne zhodnotiť zastúpenie jednotlivých druhov kvasiniek. Zaujímali nás predovšetkým primárne sterilné materiály, ale aj kolonizácia pacientov a jej súvis s výskytom invazívnych mykóz.

Pôvodná práca

Tab. č. 1: Dávkovanie antimykotík u detí (prevzaté: Vestník MZ SR 2010, čiastka 19-23, s. 159)

Amphotericín B (AmB)	i.v. 0,6-1,5 mg/kg/d
lipidická forma (ABLC)	i.v. 5 mg/kg/d
koloidná disperzia (ABCD)	i.v. 3-4 mg/kg/d
Fluconazol	i.v/p.o. <u>liečba</u> : 6-12mg/kg/d novorod. vek 1-2t á 3 dni vek 2-4t á 2 dni <u>profylaxia</u> : 3-6mg/kg/d
Voriconazol	vek 2-12 rokov: i.v. 7mg/kg/ á 12hod. p.o. 2x200mg/deň
Caspofungin	i.v. novorod. 2mg/kg/d alebo 25mg/m ² /d
Mikafungin	i.v. 2-4,5mg/kg/d

Materiál a metódy

V období rokov 2008 až 2010 sme sledovali výskyt kvasiniek v biologických materiáloch pacientov JIS novorodeneckého oddelenia FNŠP FDR v Banskej Bystrici. Vyšetrené boli nasledovné vzorky: hemokultúra, likvor, moč, odsaté spútum, žalúdočný obsah, výtery z horných dýchacích ciest, výtery z konečníka a výtery z ucha.

Izoláty kvasiniek boli získané v rámci základného bakteriologického kultivačného vyšetrenia. Vzorky krvi boli kultivované v automatizovanom systéme BacT/Alert, s použitím kultivačných médií Pedi-Bact aeróbne. Na záchyt kvasiniek bol použitý Sabouraudov glukózový agar. Kvasinky sme identifikovali pomocou rastu na Chromagare, sledovaním mikromorfologických vlastností jednotlivých izolátov v mikrokultúrach na Cornmeal - Tween agare a biochemickou identifikáciou API 20C Aux System.

Pokiaľ bol u pacienta izolovaný druh opakovane, započítaný bol len raz.

Pôvodná práca

Výsledky

Počas roku 2008 sme zaznamenali invazívnu mykózu u troch pacientov. Dvaja pacienti mali pozitívny záchyt kvasiniek v hemokultúre s nálezom *C. parapsilosis*. U oboch sa jednalo o izolovanú epizódu kandidémie, opakované odbery boli negatívne. Ani u jedného pacienta kandidémiu nepredchádzala kolonizácia slizníc. Z ďalších primárne sterilných miest bola 1x zachytená *Candida albicans* vo vzorke moču. V ostatných biologických materiáloch, s výnimkou izolácie *Candida tropicalis* z konečníka, všetky ostatné nálezy predstavovala *Candida albicans* (87,5%). Ani u jedného kolonizovaného pacienta sa nerozvinula mikrobiologicky potvrdená invazívna mykóza. (Tab. č.2.)

V roku 2009 sa kandidémiu vyskytla u šiestich pacientov, pričom u troch z nich sme zaznamenali dve, po sebe odobraté pozitívne hemokultúry. Opakované odbery boli u všetkých pacientov negatívne. Všetky izoláty opäť predstavovala *Candida parapsilosis*, ani jednej epizóde kandidémie nepredchádzala kolonizácia slizníc.

V ostatných biologických materiáloch sme izolovali kmeň *Candida albicans* - 3x z odsátého spúta a 1x z moča. Z non-albicans kandidíd sa na slizniciach pacientov vyskytla 2x *Candida parapsilosis* a 3x *Candida tropicalis*. Ostatné izoláty tvorila *Candida albicans* (75%). U štyroch pacientov sme zaznamenali kolonizáciu dvoch a viac miest, bez následného rozvoja invazívnej mykózy. (Tab. č.3.)

Rok 2010 sa zásadne nelíšil od predchádzajúcich dvoch: štyria pacienti s pozitívnou hemokultúrou, z toho dvaja opakovane pozitívni, kontrolné odbery negatívne, všetky izoláty opäť *Candida parapsilosis*. Z ostatných materiálov sme najčastejšie izolovali kmene *Candida albicans* (71,4%), v siedmich prípadoch sa vyskytla *Candida krusei* (14,3%), všetky prípady v priebehu jedného mesiaca, v troch prípadoch *Candida lusitaniae* (6,1%). U piatich pacientov sme zaznamenali kolonizáciu dvoch miest, u troch pacientov výskyt kvasiniek na troch a viac miestach, ani u jedného sa nerozvinula kandidémiu, prípadne iná invazívna mykóza. (Tab. č.4.)

Pôvodná práca

Vzhľadom na nízky počet izolovaných kvasiniek, sme ich výskyt v biologických materiáloch hodnotili počas celého sledovaného obdobia spoločne. Výskyt kvasiniek na slizniciach pacientov novorodeneckej JIS predstavoval celkovo 2,61%: od 0,88% (výter z nosa) až po 6,6% (výter z konečníka). Invazívne mykózy sme dokumentovali v 1,68%. Na tomto čísle sa kandidémie podieľali v 4,15%. (Tab. č. 5.)

V priebehu rokov 2008-10 sme celkovo identifikovali 117 izolátov kvasiniek. V 51 prípadoch išlo o novorodencov s NPH (43,5%), a 14 pacienti patrili do skupiny NVNPH (11,9%).

Z porovnania výskytu albicans vs non-albicans môžeme potvrdiť prevažujúci podiel *Candida albicans* s poklesom od 87,5% v roku 2008 po 71,4% v roku 2010. V skupine non-albicans kandid je najviac zastúpená *Candida parapsilosis* (12%). (Obr. č. 1, 2)

Tab. č. 2: Kvasinky v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v roku 2008

2008	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida tropicalis</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		Spolu
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
T. tonzil	6	100%					6
T. nosa	2	100%					2
T. konečníka	8	88,8%	1	11,2%			9
T. ucha	4	100%					4
Moč	1	100%					1
Krv					2	100%	2
Spolu	21	87,5%	1	4,2%	2	8,3%	24

Diskusia

Invazívne kandidové infekcie sú významnou príčinou morbidita a mortality pacientov novorodeneckej JIS, ohrozujú predovšetkým novorodencov s nízkou pôrodnou hmotnosťou. U našich pacientov sme sa stretávali predovšetkým s kandidémiou (4,15%), v ostatných primárne sterilných materiáloch sme kvasinky zachytili veľmi zriedkavo.

Pôvodná práca

Tab. č. 3: Kvasinky v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v roku 2009

2009	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida tropicalis</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		Spolu
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
T. tonzil	7	100%					7
T. nosa	2	100%					2
T. konečníka	12	75%	2	12,5%	2	12,5%	16
T. ucha	8	89%	1	11%			9
Moč	1	100%					1
Odsaté spútum	3	100%					3
Krv					6	100%	6
Spolu	33	75%	3	6,8%	8	18,2%	44

Tab. č. 4: Kvasinky v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v roku 2010

2010	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida krusei</i>		<i>Candida lusitaniae</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		Spolu
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
T. tonzil	6	85,7%	1	14,3%					7
T. nosa	6	100%							6
T. konečníka	16	69,6%	5	21,7%	2	8,7%			23
T. ucha	6	75%	1	12,5%	1	12,5%			8
Moč	1	100%							1
Krv							4	100%	4
Spolu	35	71,4%	7	14,3%	3	6,1%	4	8,2%	49

Candida parapsilosis predstavuje najčastejšie izolovaný druh u NNPH. Je dominantným patogénom medzi non-albicans druhmi, ktoré spôsobujú infekcie krvného riečiska na novorodeneckých oddeleniach. V literatúre sú popísané prípady viacerých nozokomiálnych kandidémií a iných invazívnych mykóz spôsobených týmto druhom (10, 11, 14, 16, 18).

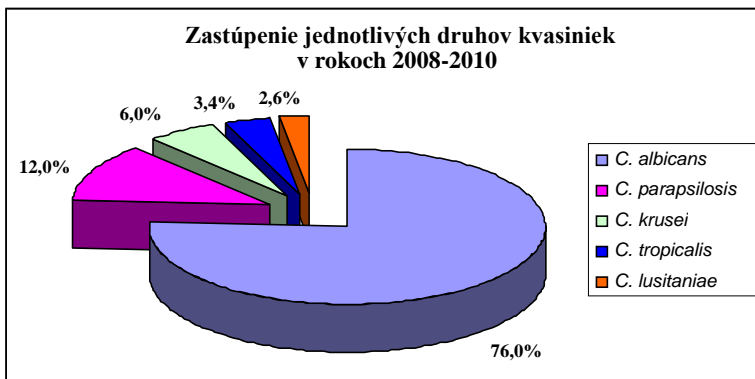
Pôvodná práca

Tab. č. 5 Výskyt kvasiniek v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v rokoch 2008- 2010

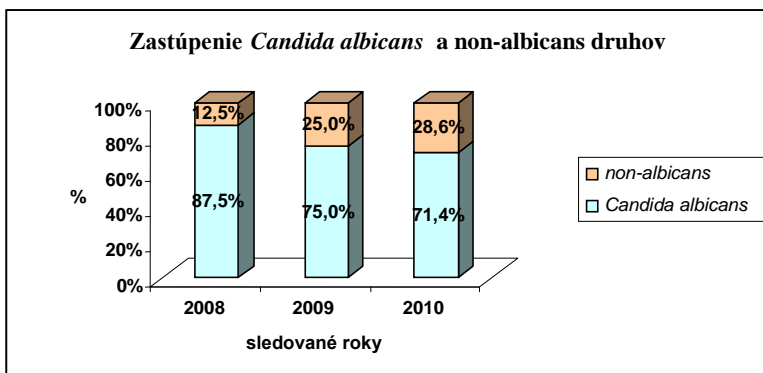
Materiál	Počet vyšetrených pacientov	Počet pacientov s pozit. nálezom kvasiniek	% pacientov s pozit. nálezom kvasiniek
krv	289	12	4,15%
likvor	63	0	0%
moč	267	3	1,12%
odsaté spútum	447	3	0,67%
T. ucha	583	21	3,60%
T. tonzíl	1349	20	1,48%
T. nosa	1126	10	0,88%
T. konečníka	721	48	6,60%

Ako uvádzame v našich výsledkoch, v sledovanom období sa *Candida parapsilosis* podieľala na pozitívite hemokultúr v 100% a bola najčastejšie izolovanou kvasinkou medzi non-albicans druhmi (12%). Vzhľadom na jej schopnosť adherovať na umelé materiály a možnosti rýchleho množenia sa v roztokoch obsahujúcich glukózu, infekcia *Candida parapsilosis* je často asociovaná s prítomnosťou CVK a totálnou parenterálnou výživou (15, 21), čo sú však nevyhnutné prístupy u väčšiny pacientov novorodeneckej JIS.

Väčšina autorov sa zhoduje v názore na efektivitu antimykotickej profylaxie, ktorá podľa viacerých signifikantne znižuje fungálnu kolonizáciu, ako aj riziko invazívnej mykotickej infekcie u NNPH. Zároveň však upozorňujú na chýbajúce presné pravidlá, kritériá na iniciáciu profylaxie, rôznorodú prax na jednotlivých pracoviskách a zdôrazňujú potrebu širších štúdií (8, 9, 13, 22-24).



Obr. č. 1: Zastúpenie jednotlivých druhov kvasiniek v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v rokoch 2008- 2010



Obr. č. 2: Zastúpenie *Candida albicans* a non-albicans druhov kvasiniek v biologických materiáloch pacientov novorodeneckej JIS v rokoch 2008-2010

Profylaktické podávanie antimykotík vybraným pacientom našej novorodeneckej JIS sa odzrkadlilo aj na výskyte kvasiniek v biologických materiáloch (len 1,68% primárne sterilné materiály, 2,44% sliznice).

Pôvodná práca

Profylaxia pravdepodobne prispela aj k faktu, že sa u kolonizovaných pacientov nerozvinula invazívna mykóza aj pri kolonizácii dvoch a viac miest na tele. Na vyvodenie presnejších záverov je však potrebné dlhodobejšie sledovanie danej problematiky.

Záver

Cielená profylaxia u starostlivo selektovaných vysokorizikových skupín novorodencov a dôkladné dodržiavanie hygienicko-epidemiologického režimu môže napomôcť redukovať riziko endogénnej, ako aj nozokomiálnej kandidovej infekcie. V prípade rozvoja invazívnej mykózy je dôležitá mikrobiologická diagnostika, so zameraním na cieľnú mykologickú kultiváciu, presnú druhovú identifikáciu kvasiniek a stanovenie ich citlivosti na účinky antimykotík. Poznanie lokálnej epidemiologickej situácie na jednotlivých oddeleniach je dôležité vzhľadom k nešpecifickému klinickému obrazu invazívnych mykóz a relatívne dlhotrvajúcej kultivačnej diagnostike. Z toho vyplýva potreba úzkej spolupráce ošetrojúceho lekára a mikrobiológa v starostlivosti o pacientov s rizikom vzniku invazívnych mykóz.

Zoznam literatúry:

1. *Odborné usmernenie MZ SR k diagnostike a liečbe invazívnych mykóz.* In: *Vestník Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky* 2010, čiastka 19-23, s. 146-159
2. **Manzoni P, Farina D, Leonessa MSa et al.:** Risk factors for progression to invasive fungal infection in preterm neonates with fungal colonization. *Pediatrics* 2006 Dec, 118(6):2359-2365
3. **El-Masry FA, Neal TJ, Subhedar NV:** Risk factors for invasive fungal infection in neonates. *Acta Paediatr.* 2002, 91(2):198-202
4. **Saiman L, Ludington E, Pfaller M et al.:** Risk factors for candidemia in Neonatal intensive care unit patients. The national epidemiology of mycosis survey study group. *Paediatr Infect Dis J.* 2000 Apr, 19(4):319-324

Pôvodná práca

5. **Benjamin DK Jr, Stoll BJ, Fanaroff AA et al:** Neonatal candidiasis among extremely low birth weight: risk factors, mortality rates, and neurodevelopment outcomes at 18 to 22 months. *Pediatrics*. 2006 Jan, 117(1):84-92
6. **Benjamin DK Jr, Ross K, McKinney RE Jr et al:** When to suspect fungal infection in neonates: A clinical comparison of *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* fungemia with coagulase-negative staphylococcal bacteriemia. *Pediatrics* 2000 Oct, 106(4):712-718
7. **Cotten CM, McDonald S, Stoll B et al:** The association of third-generation cephalosporin use and invasive candidiasis in extremely low birth-weight infants. *Pediatrics* 2006 Aug, 118(2):717-722
8. **Manzoni P, Stolfi I, Pugni L et al:** A Multicenter, randomized trial of prophylactic fluconazole in preterm neonates. *N Engl J Med* 2007 June, 356:2483-2495
9. **Healy CM, Campbell JR, Zaccaria E, Baker CJ:** Fluconazole prophylaxis in extremely low birth weight neonates reduces invasive candidiasis mortality rates without emergence of fluconazole-resistant *Candida* species. *Pediatrics* 2008 Apr, 121(4): 703-710
10. **Lopez Sastre J, Coto Cotallo G, Fernandez Colomer B:** Neonatal invasive candidiasis: a prospective multicenter study of 118 cases. *Am J Perinatol*. 2003 Apr, 20(3):153-163
11. **Fridkin SK, Kaufman D, Edwards JR et al:** Changing incidence of *Candida* bloodstream infections among NICU patients in the United States: 1995-2004. *Pediatrics* 2006 May, 117(5):1680-7
12. **Clerihew L, Lamagni TL, Brocklehurst P, McGuire W:** Invasive fungal infection in very low birthweight infants: national prospective surveillance study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2006 May, 91(3):188-192
13. **Kicklighter SD, Springer SC, Cox T et al:** Fluconazole for prophylaxis against candidal rectal colonization in the very low birth weight infant. *Pediatrics*. 2001, 107:293-8

Pôvodná práca

14. **Lupetti A, Tavanti A, Davini P et al:** Horizontal transmission of *Candida parapsilosis* candidemia in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2002 July, 40(7):2363-69
15. **Levin AS, Costa SF, Mussi NS et al:** *Candida parapsilosis* fungemia associated with implantable and semi-implantable central venous catheters and the hands of healthcare workers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998 Apr, 30(4):243-9
16. **Huang YC, Lin TY, Leu HS et al:** Outbreak of *Candida parapsilosis* fungemia in neonatal intensive care units: clinical implications and genotyping analysis. *Infection* 1999, 27:97-102
17. **Huang YC, Lin TY, Leu HS et al:** Yeast carriage on hands of hospital personnel working in intensive care units. *J Hosp Infect* 1998 May, 39(1):47-51
18. **Clerihew L, Lamagni TL, Brocklehurst P, McGuire W:** *Candida parapsilosis* infection in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007, 92:127-9
19. **Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ et al:** An outbreak of *Candida parapsilosis* prosthetic valve endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997 Nov, 29(3):147-53
20. **Gagneur A, Sizun J, Vernotte E et al:** Low rate of *Candida parapsilosis* – related colonization and infection in hospitalized preterm infants: a one-year prospective study. *J Hosp Infect* 2001 July, 48(3):193-7
21. **Weems JJ:** *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestation and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* 1992 Mar, 14(3):756-66
22. **Kaufman D, Boyle R, Hazen KC et al:** Fluconazole prophylaxis against fungal colonization and infection in preterm infants. *N Engl J Med* 2001 Dec, 345:1660-66
23. **Parikh TB, Nanavati RN, Patankar CV et al:** Fluconazole prophylaxis against fungal colonization and invasive fungal infection in very low birth weight infants. *Indian Pediatrics* 2007, 44:830-37

Pôvodná práca

24. **Burwell LA, Kaufman D, Blakely J et al:** Antifungal prophylaxis to prevent neonatal candidiasis: A survey of perinatal physician practices. *Pediatrics* 2006 Oct, 114(4):1019-1026
25. **Kaufman D:** Prevention of invasive *Candida* infection in preterm infants: the time is now. *Expert Rev Anti Infect Ther.*2008, 6(4):393-9
26. **Hof H:** Is there a serious risk of resistance development to azoles among fungi due to the widespread use and long-term application of azole antifungals in medicine? *Drug Resist Updat* 2008 Feb-Apr, 11(1-2):25-31
27. **Sarvikivi E, Lyytikäinen O, Soll DR et al:** Emergence of fluconazole resistance in a *Candida parapsilosis* strain that caused infections in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2005 June, 43(6): 2729-35
28. **Lebert C, Scherbel G, Höhl R:** Aktualisierte IDSA-leitlinie zur Behandlung invasiver Candida-Infektionen, *Arzneimitteltherapie* 2010, 28:123-32

Oprava

V čísle 2/2011 v práci „Invazívne meningokokové ochorenia v SR a čo je (relatívne) nové v diagnostike a identifikácii meningokokov“ autorov *Vaculíková, A., Černická, J.* (str. 23-30) sme uverejnili nesprávny text:

Historicky hlavný pôvodca epidemickej meningitídy bola séro skupina A, ktorá má stále svoje miesto v subsaharskej Afrike a v Ázii v oblasti zvanej „meningitis belt“.

Správne znenie je:

Historicky hlavný pôvodca epidemickej meningitídy bola séro skupina A, ktorá má stále svoje miesto v oblasti zvanej „meningitis belt“ v subsaharskej Afrike a v Ázii.

Výskyt mikroskopických húb v biologických vzorkách od pacientov s otitis externa

*Sládeková M., Volleková A., Lisalová M., Pőczová M.,
HPL spol. s r.o. mikrobiologické laboratórium,
Oddelenie mykológie, Istrijská 20, 841 07 Bratislava*

Úvod

Ucho ako sluchový orgán má pre človeka veľký význam nielen na vnímanie zvukov a priestorovú orientáciu, ale najmä umožňuje dorozumievanie a styk s ostatnými ľuďmi, rozvíja myšlienkový a citový život, poskytuje estetické zážitky. Ucho je svojou stavbou aj vzťahom k okoliu veľmi zložitá. Vonkajšie ucho súvisí s okolitou kožou, stredné ucho s respiračným systémom a vnútorné ucho s nervovým ústrojenstvom. Tieto odlišné časti sluchového aparátu sú spojené do jedného funkčného celku, ale za chorobných stavov sa veľmi zreteľne prejavuje ich vzťah k uvedeným systémom.

Zápaly ucha, otitídy, môžu byť infekčného (bakteriálne, vírusové, fungálne), i neinfekčného pôvodu. Medzi najčastejšie patria infekcie vonkajšieho zvukovodu - externé otitídy (ďalej ako EO), z nich 5-25% spôsobujú mikroskopické huby ^(22;35). Nálezom mikroskopických húb v biologických vzorkách z ušných výterov u pacientov s diagnózou EO v rokoch 2008 - 2009 je venovaný nasledujúci príspevok.

Klinický obraz, podporné faktory a pôvodcovia externých otitíd

Príznaky infekčnej EO sú rozmanité, od mierneho zápalu a diskomfortu (asi v polovici prípadov), až po život ohrozujúce infekcie spánkovej kosti (menej ako 0,5% prípadov) ⁽³⁰⁾. Ich priebeh môže byť akútne (niekoľko dní), alebo chronický, keď infekcia pretrváva dlhšie ako 4 týždne, alebo ak sa vyskytnú viac ako 4 epizódy ochorenia za rok ⁽²⁷⁾. Chronická forma ročne postihuje približne 3-5% populácie ⁽³⁰⁾.

Pôvodná práca

Vznik, priebeh a závažnosť otitídy ovplyvňuje nielen vyvolávateľ a jeho patogénny potenciál, ale i predispozičné faktory zo strany pacienta a viaceré exogénne činitele.

Externá otitída bakteriálnej etiológie (forma ohraničená alebo difúzna) sa prejavuje bolesťou v oblasti vonkajšieho zvukovodu, ktorá sa zvýrazní najmä pri žuvaní alebo pri dotyku ušnice, často je prítomný výtok z ucha (hnisavý, zápachajúci), pocit zaľahnutia a tlaku, môže sa pridružiť teplota a zväčšenie lokálnych lymfatických uzlín. Hlavnými etiologickými agensami sú bakteriálne druhy *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* ^(2;5;9;10).

Pri externej otitíde mykotickej etiológie (fungálnej) sú príznaky a symptómy menej špecifické. Patrí k nim najmä intenzívne svrbenie, zriedka bolestivosť, ošupovanie epitelu, prípadne belavé alebo hnedé povlaky na povrchu kože v hlbšej časti ušného kanála a bubienka, mierne zhoršenie sluchu spôsobené tamponádou z hýf, cerumenu a epitelových buniek. Chorobný proces je zvyčajne bez exudátu, niekedy je prítomný slabý nezapáchajúci sekrét. Fungálna infekcia ostáva obvykle lokalizovaná, bubienok väčšinou nie je výraznejšie atakovaný, výnimočne dochádza ku jeho perforácii (invazívna forma EO). Na rozdiel od akútnych bakteriálnych, príp. vírusových je priebeh mykotickej EO častejšie subakútny a chronický, pretrváva i viac rokov napriek cielenej liečbe antimykotikami, pričom recidívy sú časté. Infekcie vonkajšieho zvukovodu, spôsobené mikroskopickými hubami, označované aj ako „otomykózy“, sa vyskytujú celosvetovo. Prevalencia, ale i spektrum pôvodcov ochorenia do značnej miery súvisí z geografickou a klimatickou lokalitou. V tropických a subtropických, vlhkých, teplých ale aj v suchých a prašných oblastiach sú otomykózy vo všeobecnosti častejšie ^(14;16;22;35). V miernom klimatickom pásme sa prvotné infekcie, ktoré sú zvyčajne bakteriálnej etiológie, vyskytujú najmä v období leta, v súvislosti s kúpaním a vodnými športami, tzv. "plavecké ucho". Fungálne otitídy sa pozorujú často ako komplikácia po antimikrobiálnej liečbe, hlavne chinolónmi, po aplikácii ušných kvapiek s kortikosteroidmi, s antibiotikami a pod. ^(19;26;37).

Pôvodná práca

Ako pôvodcovia sa uplatňujú huby prítomné vo vonkajšom prostredí, ale i komezálné a kontaminanty bežné na tele pacienta. Medzi najčastejšie patria druhy rodov *Candida* a *Aspergillus*, ale spektrum vyvolávateľov je mimoriadne široké^(36;42).

Okrem húb, ako pôvodcov, sa na vzniku fungálnych zápalov vonkajšieho zvukovodu podieľajú viaceré exogénne a endogénne faktory, celkové i lokálne:

Exogénne faktory

- mechanické, chemické a iné poškodenie epitelu (nadmerné čistenie, poranenie, macerácia kože, atrofia mazových žliazok)
- zmena pH vo zvukovode (zvýšenie nad 6,0)
- prašné prostredie, i nadmerná vlhkosť („voda v uchu“)
- cudzie teleso vo vonkajšom zvukovode
- slúchadlá, načúvacie aparáty
- chirurgické alebo inštrumentárne zákroky
- lieky celkové, topické (kortikosteroidy, antibiotiká, cytostatiká a i.)
- hygienické prostriedky (mydlá, šampóny, kozmetické prípravky) a iné faktory.

Z endogénnych faktorov najmä

- akútne a chronické ochorenia s prejavmi v ušnom kanáli (ekzém, psoriáza, atopická, seboroická, kontaktná dermatitída, akné a i.⁽³⁷⁾)
- rôzne celkové choroby (cukrovka, hypovitaminózy, imunodeficit, hormonálne dysbalancie a i.)
- neliečené dermatomykózy, možnosť autoinokulácie^(8;26;32)

Materiál a metódy

Výtery z vonkajšieho zvukovodu (ďalej "vzorky", "výtery") od ambulantných pacientov s podozrením na otitis externa (EO) boli zaslané na mikrobiologické vyšetrenie prevažne otorinolaryngológmi, zriedka inými lekármi, v deň odberu vzorky.

Pôvodná práca

Pacienti pochádzali z Bratislavy a okolia. Biologické vzorky v celkovom počte 4194 od 4106 pacientov, doručené v období od 01.01.2008 do 31.12.2009 boli vyšetrené nasledovne :

- ak bolo požadované mikrobiologické vyšetrenie bez bližšej špecifikácie, vzorky boli inokulované na štandardné bakteriologické médiá (krvný agar; McConkey agar, inkubácia 1-2 dni pri 37 °C) a na základné mykologické médium (Sabouraudov agar s chloramfenikolom - inkubácia min. 5 dní pri 25 °C). V prípade náznaku rastu mikroskopických húb boli pôvodné inokulované médiá doručené do mykologického laboratória za účelom identifikácie izolovaných mikromycét.
- ak lekár požadoval ciele mykologické vyšetrenie alebo vyslovil podozrenie na mykotickú otitídu, vzorky boli vyšetrené mikroskopicky (natívne preparáty, príp. farbené podľa Grama) a kultivačne na štandardných mykologických pôdach (Sabouraudov agar s chloramfenikolom a CHROMagar Candida). Inokulované médiá boli inkubované pri 37 °C 2-5 dní (CHROMagar) a pri teplote 25 °C (Sabouraudov agar) až 14 dní za vizuálnej kontroly každých 48 hodín. Izolované mikroskopické huby boli identifikované na úroveň rodu a druhu.

Pri identifikácii kvasiniek boli využívané morfológické znaky v kombinácii s fyziologicko-biochemickými znakmi izolovaných kvasiniek:

- vzhľad, farba kolónie na chromogénnom agare príp. na Sabouraudovom agare, a germ tube (GT) (tvorba kľúčnych hýf pri subkultivácii izolátov v sére) - slúžili na odlíšenie izolátov komplexu *Candida albicans* od non-albicans spp.
- pri axenických kultúrach non-albicans izolovaných kvasiniek boli overené morfológické štruktúry v mikrokultúre pri raste na corn-meal agare na určenie rodu, a druhová identifikácia bola vykonaná buď klasickým postupom (asimilácia uhlíkových a dusíkových zdrojov auxanografickou metódou, fermentácia sacharidov za tvorby plynu, určenie maximálnej rastovej teploty a iné znaky)^(24;31), alebo pomocou komerčných setov.

Pôvodná práca

Izoláty vláknitých húb boli identifikované do druhu prípadne rodu podľa makro a mikroskopických znakov, v individuálnych prípadoch po doplnení ďalších vlastností (produkcia ureázy, okyslenie alebo alkalizácia média, rast na špeciálnych diagnostických médiách, rast pri rôznych teplotách, rezistencia voči cykloheximidu a iné) za pomoci diagnostickej literatúry - kľúčov pre určovanie hyfomycét (18;21).

Mykologické nálezy boli zhodnotené klinickým mikrobiológom - mykológom (mikroskopický versus kultivačný výsledok, druh huby ako pravdepodobný pôvodca) a v nejednoznačných prípadoch bolo ošetrojúcemu lekárovi odporúčané opakovať odber biologickej vzorky a vyšetrenie v laboratóriu opakovať.

Výsledky

O pacientoch v sledovanom súbore sa nepodarilo získať podrobnejšie údaje (sociálny status, základné ochorenia, zmeny ušného kanála, trvanie EO, liečba, spôsob ošetrovania a hygieny zvukovodu a pod.). Z týchto dôvodov mohla byť vykonaná retrospektívna analýza mykologických nálezov u pacientov s dg.EO iba podľa veku a pohlavia, podľa dátumu vyšetrenia (mesiace roka), s ohľadom na skupiny a druhy húb. Ak mal pacient viac vyšetrení v jednom roku, v prípade opakovaného nálezu zhodného druhu, bol do štatistiky zavzatý iba jedenkrát.

V rokoch 2008 a 2009 bolo v laboratóriách pracoviska autora vyšetrených celkovo 4194 biologických vzoriek výterov z vonkajšieho zvukovodu od 4106 pacientov s dg. EO, z toho bolo 1869 mužov a 2237 žien, vo veku od 4 mesiacov do 93 rokov, priemerný vek pacientov bol 41,1 rokov. Vo viac než z 90 % vzoriek boli na bakteriologických médiách potvrdené baktérie, jednak komenzálne (koaguláza negatívne stafylokoky, korynebaktérie a iné baktérie, často v zmesi), ale súčasne aj možní pôvodcovia otitíd. Z nich dominovali druhy *P. aeruginosa* (25,5 % vzoriek) a *S. aureus* (22,3 %).

Pôvodná práca

Menej často boli izolované enterobaktérie (11,7%), predovšetkým *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., enterokoky (5,8%), zriedkavejšie beta-hemolytické streptokoky a *Streptococcus pneumoniae* (2,9%), a *Haemophilus* spp. (0,2 %).

Takmer 25% z celkového počtu vyšetrených ušných výterov vykazovalo prítomnosť mikroskopických húb. Analýza výsledkov ukázala, že 905 vzoriek obsahovalo iba 1 druh mikroskopickej huby a z 88 vzoriek boli izolované 2 druhy mikroskopických húb. Zvyčajne išlo o kombináciu kvasiniek a vláknitých húb (najmä *Candida parapsilosis* a *Aspergillus* sp.), prípadne o kombináciu dvoch druhov kvasiniek. Záchyt mikromycét v bakteriologickom laboratóriu bol 22%. Z 272 vzoriek cielene zaslaných do mykologického oddelenia boli mikroskopické huby izolované v 39%. Rozdiel bol štatisticky významný ($\chi^2=6,81$; pre $P=0,01$ je $\chi^2=6,635$). Výsledky pozitívneho nálezu mikromycét z mikroskopického vyšetrenia primárnej vzorky (nález elementov húb vo vzorke pri jej doručení) boli potvrdené kultivačne (rast relevantných kolónií húb) v 100% prípadov. V oboch sledovaných rokoch bol trend nálezov húb zhodný (Tab. č. 1).

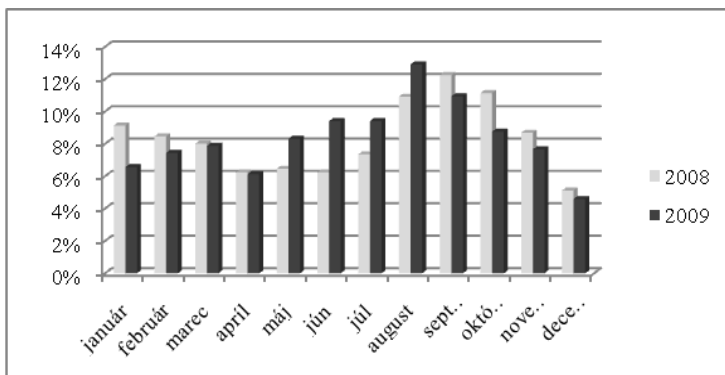
Výskyt mikroskopických húb vo vyšetrených výteroch vonkajšieho zvukovodu v priebehu kalendárneho roka mierne kolísal: najnižší počet izolovaných húb z vyšetrených vzoriek bol v oboch rokoch v decembri (po 5%). Najvyšší počet izolovaných mikromycét bol v septembri v roku 2008 (13%) a v auguste v roku 2009 (12%) (Obr.č. 1).

Z kultivačne pozitívnych výterov až z 2/3 vzoriek boli izolované kvasinky a z 1/3 vzoriek boli izolované vláknité huby. Pomer kvasiniek a vláknitých húb bol v oboch rokoch porovnateľný (2,1 : 1 resp. 1,8 : 1) (Tab. č. 2).

Pôvodná práca

Tab. č. 1 – Výsledky mykologického vyšetrenia biologických vzoriek (výterov) z vonkajšieho zvukovodu pacientov s EO

ROK	počet vyšetrených vzoriek	negatívne vzorky (kultivačne bez húb)		pozitívne vzorky (kultivačne huby)	
		Počet	%	Počet	%
2008	2079	1587	76,3	492	23,7
2009	2115	1614	76,3	501	23,7
Spolu	4194	3201	76,3	993	23,7

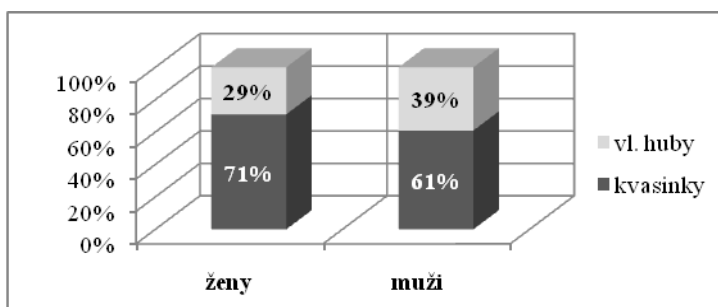


Obr. č. 1 : Výskyt húb vo výteroch podľa dátumu vyšetrenia

Pôvodná práca

Tab. č. 2 : Zastúpenie kvasiniek a vláknitých húb v kultivačne pozitívnych vzorkách

ROK	kultivačne huby (počet vzoriek)	z toho kvasinky		z toho vl. huby	
		počet vzoriek	%	počet vzoriek	%
2008	492	336	68,3	156	31,7
2009	501	323	64,5	178	35,5
Spolu	993	659	66,3	334	33,6



Obr. č. 2 Zastúpenie kvasiniek a vláknitých húb podľa pohlavia

Nálezy mikroskopických húb vo zvukovode podľa veku

Pacientov v súbore sme zadelili do šiestich nami zvolených vekových kategórií: 0 až 6 rokov - celkovo bolo vyšetrených 312 vzoriek, od 7 do 15 rokov – celkovo 371 vzoriek, od 16 do 25 rokov bolo vyšetrených 432 vzoriek, od 26 do 40 rokov - celkovo 908 vzoriek, v skupine od 41 do 60 rokov veku bol vyšetrený najväčší počet vzoriek - 1258 a nad 61 rokov veku bolo celkovo vyšetrených 913 vzoriek. Najmenej mikroskopických húb sme izolovali v skupine od 0 do 6 rokov (11%) a od 7 do 15 rokov (15%).

Pôvodná práca

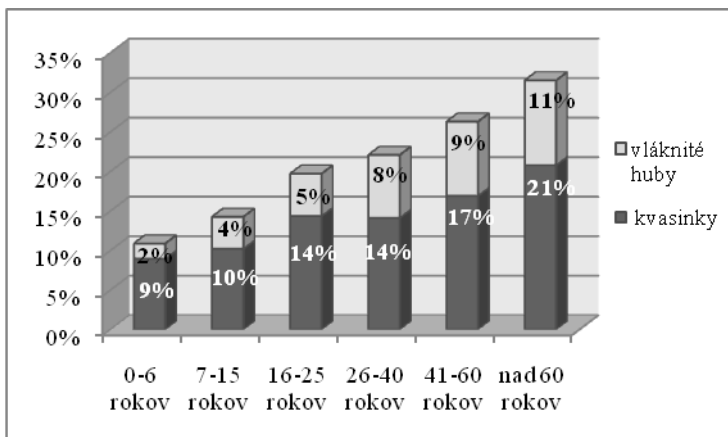
So stúpajúcim vekom pacientov počet izolovaných mikroskopických húb (kvasiniek aj hyfomycét), narastal a najvyšší, až 32%, bol v skupine pacientov nad 61 rokov (Obr.č.3). Priemerný vek pacientov s nálezom mikromycét vo zvukovode bol 47,3 roka.

Druhové zastúpenie húb vo výteroch z vonkajšieho zvukovodu

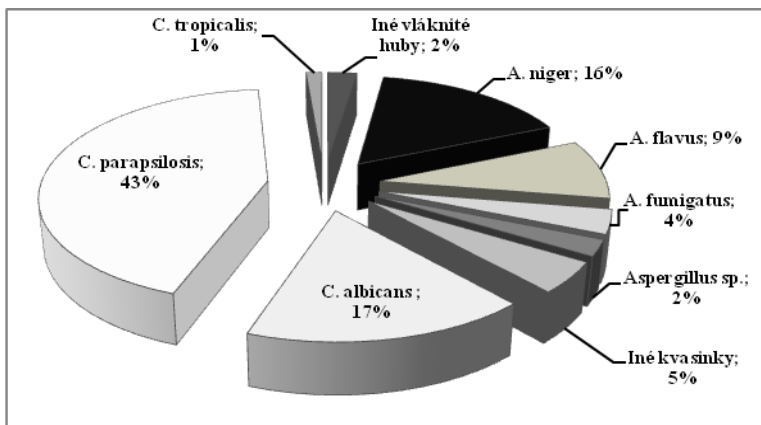
Druhové spektrum mikroskopických húb vo výteroch z vonkajšieho zvukovodu bolo pestré. Identifikovali sme viac než 31 druhov mikromycét (2% izolovaných kmeňov nebolo bližšie identifikovaných), z toho kvasinky boli zastúpené 13 druhmi z 5 rodov a vláknité huby 18 druhmi z 11 rodov. Dominantným druhom bola *C. parapsilosis* (43% izolátov), kodominantným *C. albicans* (17%).

V poradí tretí najčastejší druh v súbore s počtom 161 (a súčasne dominantný medzi hyfomycétami) bol *Aspergillus (A.) niger* (16%), štvrté miesto (89 izolátov, t.j. 9%) pripadlo druhu *A. flavus*. V 8,8% vzoriek boli prítomné 2 druhy mikroskopických húb, zväčša išlo o kombináciu kvasinky a hyfomycéty (hl. *C. parapsilosis* a *Aspergillus sp.*), prípadne o kombináciu 2 druhov kvasiniek. Pomerné zastúpenie najčastejšie izolovaných druhov mikromycét znázorňuje Obr. č. 4 a prehľad všetkých druhov je uvedený v Tab. č. 3.

Druhové spektrum izolovaných húb bolo širšie u žien- 26 druhov, oproti 19 spp. u mužov (Tab. č. 3). Na rozdiel od *C. parapsilosis* (zhodné zastúpenie u oboch pohlaví- muži 21%, ženy - 22%) bola *C. albicans* signifikantne častejšie izolovaná od žien (106x ženy, 64x muži; $\chi^2 = 5,515$; pre $P=0,05$ je $\chi^2 = 3,841$). Na druhej strane *A.flavus* bol významne častejším izolátom z výterov uší u mužov než u žien (62 vs 27; $\chi^2 = 8,822$; pre $P=0,01$ je $\chi^2 = 6,635$).



Obr.č. 3 Výskyt mikroskopických húb v súbore pacientov podľa veku



Obr. č. 4 Pomerné zastúpenie mikromycét v ušných výteroch

Diskusia

V posledných desaťročiach je možné pozorovať zvýšený výskyt mykotických infekcií nielen u imunitne oslabených pacientov, ale aj v komunite. Platí to aj pre fungálne infekcie vonkajšieho zvukovodu. K vzniku otomykóz prispievajú viaceré faktory, celkové i lokálne (imunodeficitné stavy, pobyt v prašnom prostredí, nadmerná vlhkosť, úraz, prítomnosť cudzieho telesa či nevhodná hygiena zvukovodu, predchádzajúce otitídy rôznej etiológie). Za jednu z častých príčin fungálnych otitíd je označovaná dlhodobá aplikácia ušných kvapiek s kortikosteroidmi a antibiotikami, či celková liečba bakteriálnych otitíd, najmä fluorchinolónmi ^(17;26).

Výsledky štúdií z rôznych krajín ukázali, že mikromycéty sú pôvodcami zvyčajne 5 až 25% prípadov infekčných externých otitíd ^(16;22). Potvrzuje to aj retrospektívna analýza viac než 4000 vzoriek od pacientov so suspektnou dg. EO, ktoré boli v rokoch 2008 až 2009 zaslané na mikrobiologické resp. mykologické vyšetrenie. Prítomnosť húb sme zaznamenali u takmer 25% pacientov bez ohľadu na vek, pohlavie, či dobu vyšetrenia.

Výsledky uvedenej štúdie i iných štúdií ďalej naznačujú, že mykotické otitídy (a možno i kolonizácia vonkajšieho zvukovodu hubami) sú približne rovnako časté u oboch pohlaví (pomer muži a ženy je 1,14:1 v našej štúdii ; 1,1 až 1,2 :1 v Španielsku a v Indii ^(16;22)). Vo vzorkách z ušných výterov pacientov v súbore prevládali kvasinky nad vláknitými hubami v pomere 2 :1, čo súhlasí so zisteniami niektorých autorov ^(13;23;35), ale je v rozpore so štúdiami realizovanými v Indii ⁽²²⁾, Taliansku ⁽²⁹⁾, Turecku ⁽³²⁾, Rusku ⁽³⁴⁾ a Nemecku ⁽⁴¹⁾, kde naopak dominovali hyfomycéty.

Rozdielne zastúpenie vláknitých húb a kvasiniek pri otitídach môže súvisieť nielen s tým, že štúdie boli robené v rôznych geografických a klimatických oblastiach, ale i na sociálne rôznorodých vzorkách pacientov, so špecifickými odevnými zvyklosťami, ako napr. nosenie špecifických pokrývok hlavy (turbany, závoje), s rozdielnymi hygienickými návykmi a pod. ⁽²²⁾.

Pôvodná práca

Tab. č.3Prehľad mikromycét izolovaných od pacientov

KVASINKY			VLÁKNITÉ HUBY		
DRUH	Muži	Ženy	DRUH	Muži	Ženy
<i>Candida parapsilosis</i>	210	220	<i>Aspergillus niger</i>	84	77
<i>Candida albicans</i>	64	106	<i>Aspergillus flavus</i>	62	27
<i>Candida tropicalis</i>	6	7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	23	13
<i>Candida lusitanae</i>	-	7	<i>Aspergillus terreus</i>	2	6
<i>Candida krusei</i>	4	1	<i>Aspergillus versicolor</i>	-	1
<i>Candida guilliermondii</i>	1	5	<i>Aspergillus sydowii</i>	4	-
<i>Candida fabiani</i>	1	1	<i>Aspergillus nidulans</i>	-	2
<i>Candida glabrata</i>	1	-	<i>Aspergillus</i> spp.	4	5
<i>Candida Ciferii</i>	-	1	<i>Acremonium</i> spp.	-	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	2	<i>Absidia corymbifera</i>	1	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	-	<i>Scedosporium apiospermum</i>	1	-
<i>Malassezia</i> spp.	-	2	<i>Syncephalstrum racemosum</i>	-	2
<i>Aureobasidium pullulans</i>	-	1	<i>Paecilomyces variotii</i>	-	1
iné kvasinky	9	7	<i>Scopulariopsis</i> spp.	-	2
spolu izolátov	299	360	<i>Trichophyton</i> spp.	-	1
poznámka:			<i>Trichoderma</i> spp.	-	1
muži 487			<i>Alternaria</i> spp.	1	1
ženy 506			<i>Penicillium</i> spp.	4	2
celkovo 993 izolátov húb			iné vláknité huby	2	4
			spolu izolátov	188	146

Pôvodná práca

V oblastiach s vysokou teplotou a vlhkosťou, vhodnou pre rozvoj húb, ale aj v suchých oblastiach a na miestach, kde je vysoká prašnosť prostredia, sa pozoruje vyšší podiel otitíd vyvolaných vláknitými hubami^(14;22;32). Na rozdiel od fungálnych otitíd vyvolaných druhmi rodu *Aspergillus* sa kvasinkové infekcie klinicky ťažšie odlišia od bakteriálnych. Často sa rozoznávajú až na základe kultivačného nálezu⁽¹⁷⁾. Kvasinky sa vo vyššej miere než vláknité huby podieľajú na mykotických komplikáciách vzniknutých po operácii ucha⁽²³⁾.

Pri porovnaní dvoch spôsobov laboratórneho vyšetrenia ušných výterov sa výsledky javia značne rozdielne: 22% pozitívnych vzoriek pri bakteriologickom oproti 39%-nej pozitívite pri mykologickom vyšetrení. Tieto rozdiely môžu byť spôsobené práve odlišnými metódami spracovania vzorky. Na bakteriologických médiách je doba inkubácie kratšia, masívne rastúce baktérie môžu rast húb obmedziť a pri inokulácii viacerých médií je možnosť zriadenia. Dá sa predpokladať, že ak lekár (najmä otorinolaryngológ) posielal vzorky do mykologického laboratória, zrejme podľa klinického stavu, otoskopického vyšetrenia obrazu vo vonkajšom zvukovode, mal na to dôvod a očakával huby, čo platí aj o vzorkách, ktoré boli zaslané na bakteriologické vyšetrenie, kde podľa klinického stavu očakával bakteriálnu infekciu. Do úvahy treba vziať aj možnosť, že na vyšetrenie sú zasielané vzorky z akútnych i chronických otitíd infekčnej aj neinfekčnej povahy bez bližšej špecifikácie a aj z diferenciálne diagnostických dôvodov. Na druhej strane izolácia húb od viac než 1/5 pacientov ukázala, že kombinované vyšetrenie vzoriek je výhodné. Dlhšia inkubácia na mykologických médiách a súčasne mikroskopické vyšetrenie výterov dáva predpoklad vyššej záchytnosti mikroskopických húb. Avšak i vzorky na ciele mykologické vyšetrenie sú zasielané z dôvodov diferenciálne diagnostických, napríklad aj ako kontrola úspešnosti liečby, vrátane antifungálnej (zvyčajne nie je uvedená), a zriedka na overenie pôvodného druhu. Preto by sa pri ciele zaslaných vzorkách dala očakávať i vyššia mykologická pozitívita než ako zaznamenaných 39%.

Pôvodná práca

Pacienti vyhľadali lekára častejšie v letných mesiacoch a na jeseň (29% v uvedených sezónach), menej často v zime a na jar (21%). I keď počet izolátov húb, resp. nimi spôsobených otitíd, dosiahol vrchol koncom leta - v auguste (v roku 2009) a v septembri (v roku 2008), neboli v jednotlivých mesiacoch roka v súbore pozorované výraznejšie kvantitatívne výkyvy. Podobné rozloženie vzoriek a izolátov húb počas roka pozorovali aj iní autori⁽¹⁶⁾. Vzhľadom k tomu, že mykotické otitídy zvyčajne prebiehajú chronicky, bez výraznejšej symptomatológie a nemajú epidemický charakter, sú tieto zistenia pochopiteľné. Vekové rozpätie pacientov v súbore bolo široké: od 4 mesiacov do 93 rokov s vekovým priemerom 41,1 rokov. Priemerný vek osôb s pozitívnym kultivačným nálezom bol o šesť rokov vyšší, 47,3 roka. Z pacientov, rozdelených podľa veku, boli huby v skupine do 26 rokov potvrdené priemerne u 14% osôb, u dospelých v priemere 1,8-krát častejšie a v skupine nad 61 rokov až u 32% pacientov. Naše nálezy sú podobné ako u pacientov v španielskej štúdii: najviac, až 37% fungálnych otitíd, zaznačili u osôb vo veku nad 50 rokov⁽¹⁵⁾. Zvýšený výskyt otomykóz u starších pacientov zrejme súvisí s ich vyššou chorobnosťou, častejšie aplikovanou liečbou (ATB, kortikosteroidy, i.) a nemalú úlohu zohráva aj pokles imunitných funkcií organizmu.

Práce zo Stredného Východu a Indie naproti tomu uvádzajú najviac prípadov otomykóz medzi mladými pacientmi (16-30 rokov), čo autori dali do súvisu s ich častejšími športovými (plávanie, potápanie) a pracovnými aktivitami, kedy sú viac exponovaní hubám v prostredí i extrémnym klimatickým podmienkam^(5;20;44). Bez ohľadu na vek prispievajú lokálne iritácie rôznymi látkami, dlhodobé mechanické a chemické dráždenie načúvacími aparátmi, či slúchadlami, i nevhodné hygienické návyky k narušeniu rovnováhy fyziologickej mikroflóry v ušnom kanáli, k jej posunu v prospech húb a následnej otitíde^(5;16;17;26). Fungálne otitídy u pacientov v rôznych vekových kategóriách sa líšili aj zastúpením skupín húb-kvasiniek a hyfomycét.

Pôvodná práca

V našom súbore boli kvasinky, v porovnaní s vláknitými hubami, boli relatívne častejšie izolované od detí a adolescentov (82%, 72% resp. 73% z celkového počtu izolátov húb v danej kategórii), zatiaľ čo v troch skupinách dospelých osôb bolo pomerne zastúpenie kvasiniek vzácné vyrovnané - medzi 64 až 66%. So zvyšujúcim sa vekom pacientov rástol podiel hyfomycét - v skupine dospelých dosiahol priemerne 35% z celkového počtu izolátov húb (v porovnaní s 18% u detí).

Spektrum mikroskopických húb vo vzorkách z výterov z ušného kanála bolo pomerne pestré - 31 druhov, z toho vláknité huby 18 druhov (11 rodov), kvasinky 13 spp. (5 rodov) a 2% kmeňov sa nepodarilo bližšie identifikovať. Až 96% z celkového počtu izolovaných kvasiniek u mužov i žien tvorili kandidy, s dominantným druhom *C. parapsilosis* (43% a až 65% z izolátov kvasiniek), nasledovaný *C. albicans* (25% z kvasiniek). K podobnému výsledku dospeli pri analýzach v Španielsku a Nemecku ^(15;16;41). Naproti tomu v štúdií z východného Slovenska u pacientov s otomykózou najčastejšie zaznamenali *C. albicans* (51,5% izolátov) ⁽¹¹⁾ a ich nález potvrdili ďalší autori ^(1,25,29,34). Tieto rozdiely mohli byť o.i. spôsobené odlišnou charakteristikou súborov a hodnotiacich kritérií. *C. albicans* je vybavená viacerými vlastnosťami (napr. sekrécia hydrolytických enzýmov ako súfosfolipázy, proteínázy, prítomnosť enzymaticky aktívnych proteínov a adhezínových molekúl), ktoré umožňujú prichytiť sa a prenikať hostiteľským tkanivom a vyvolať infekcie v odlišných orgánoch a tkanivách ^(3;28). Na rozdiel od *C. albicans* je *C. parapsilosis* bežným komenzálom na povrchu ľudskej kože a jej patogénny potenciál je na neporušenej pokožke obmedzený ⁽³⁹⁾. Preto nie je možné okrem otitídy jednoznačne vylúčiť ani prípadnú kolonizáciu ušného kanála spomenutou kvasinkou. Takmer zhodné zastúpenie izolátov *C. parapsilosis* u mužov aj žien v súbore túto domnienku podporuje. Prítomnosť *C. parapsilosis* vo zvukovode sa považuje za jeden z faktorov ovplyvňujúcim prognózu ochorenia, t.j. akým smerom bude infekcia postupovať.

Pôvodná práca

Nevhodná liečba môže viesť ku premnoženiu kvasinky a z komenzála sa stáva patogén. Rozvoj fungálnej otitídy signifikantne asociovaná s predchádzajúcou orálnou alebo ototopickou antibakteriálnou liečbou, hlavne po používaní ofloxacínu potvrdili aj v USA ⁽²⁵⁾. Iné druhy rodu *Candida* boli izolované ojedinele a bez opakovaného potvrdenia zhodného druhu je ťažké vyjadriť sa k ich úlohe vo zvukovode. Prítomnosť iných kvasiniek (*A. pullulans*, *S. cerevisiae*, *Cr. albidus*, *Malassezia spp.*) je možné považovať vzhľadom k ojedinelým nálezom len za kontaminujúcu flóru. Spomedzi zástupcov vláknitých húb až 93% izolátov v našom súbore prináležalo do rodu *Aspergillus*. Bez ohľadu na pohlavie dominoval druh *A. niger* (vo viac než 1/2 izolovaných druhov rodu *Aspergillus*). Tento druh bol označený ako hlavný etiologický agens fungálnej EO predovšetkým v teplejších klimatických oblastiach, kde patrí medzi bežné saprofyty v prostredí ^(14;20;32). Naše nálezy sú veľmi podobné. Naproti tomu *A. flavus* (takmer 27% izolátov) bol signifikantne častejšie izolovaný od mužov než od žien, čo by mohlo súvisieť s vyššou športovou aktivitou, ale prípadne aj nižšou hygienou. Významný je nález druhov *A. fumigatus* (36x) - uplatňuje sa najmä pri ochoreniach dolných dýchacích ciest a *A. terreus* (8x)-izolácia ktorého vždy svedčí o infekcii. Posledný spomínaný druh patrí medzi najčastejšie sa vyskytujúci pri otitídach v Japonsku a Kórei ^(12;38). Niektoré ďalšie druhy sa podarilo izolovať od jedného, či dvoch pacientov, napr. *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. sydowii*, *A. reptans*, *Acremonium spp.*, *Paecilomyces variotii*. Sporadicky sa vo vonkajšom zvukovode zachytili aj druhy *Scopulariopsis spp.*, *Trichophyton spp.* - v našom súbore od troch pacientov. V súvislosti s otomykózou ich uvádzajú aj iní autori, ako možný dôsledok autoinfekcie pri neliečených onychomykózach ^(6;8). Keďže naši pacienti nemali vyšetrené biologické vzorky na dermatomykózu, nevieme sa vyjadriť, či išlo o náhodný nález, alebo o možnú autoinokuláciu. Druh *Scedosporium apiospermum* je celosvetovo rozšírená saprofytická huba, významný potenciálny patogén. Ako pôvodca otitíd, či už u imunitne kompetentných a/alebo kompromitovaných pacientov býva izolovaný len vzácné ^(4;7;43).

Pôvodná práca

Tento druh sa v SR pri EO zisťuje zriedkavo - na našom pracovisku u staršieho muža v roku 2006, a v nasledujúcich rokoch pri EO, aj pri otitis media u ďalších pacientov. Spomedzi zygomycét boli ojedinele izolované *Absidia corymbifera* a *Syncephalastrum racemosum*. Zástupcovia tejto skupiny patria k menej častým, ale o to závažnejším hyfomycétam asociovaným s EO. Z primárnej infekcie ucha, nazálnych a paranazálnych sínusov môže proces progredovať až do mozgu a mať fatálne následky^(33;40). Riziko je najvyššie u imunitne oslabených pacientov.

Ako vyplýva z vyššie uvedeného, druhové spektrum húb vo zvukovode pacientov bolo mimoriadne pestré. Rozhodnúť, ktoré druhy húb sú pôvodcami fungálnej otitídy a ktoré označiť za kontaminujúce, či komenzálne, nie je vždy jednoduché. Izolácia malého počtu kolónií alebo zmesi viacerých druhov húb podporuje podozrenie, že ide o náhodný nález (kontamináciu či prechodnú kolonizáciu zvukovodu hubami z prostredia). V nejasných prípadoch odporúčame zopakovať vyšetrenie. Mikrobiologický nález musí definitívne posúdiť ošetrojúci lekár (otoskopický nález) s ohľadom na klinické prejavy. V každom prípade nevhodne liečená bakteriálna otitída, dermatitída, či ekzém vedie k tomu, že práve huby (veľakrát len náhodne) prítomné vo vonkajšom zvukovode preberú úlohu pôvodcu ochorenia alebo zhoršenia klinického stavu.

Literatúra

1. ARAIZA J., CANSECO P., BONIFAZ A. (2006) Otomycosis: clinical and mycological study of 97 cases. *Rev Laryngol Otol Rhinol.* **127**: 251-254
2. ARSHAD M., KHAN N.U., ALI N., AFRIDI N.M. (2004) Sensitivity and spectrum of bacterial isolates in infectious otitis externa. *J Coll Physicians Surg Pak.* **14**: 146-149
3. ARSOVIĆ N.A., BANKO A.V., DIMITRIJEVIĆ M.V., DJORDJEVIĆ V.Z., MILOVANOVIĆ J.P., ARSENIJEVIĆ V.A.(2009) Protease activities of *Candida* spp. isolated from otitis externa: preliminary result. *Acta Chir Iugosl.* **56**:113-116.

4. BAUMGARTNER B.J., RAKITA R.M., BACKOUS D.D. (2007) *Scedosporium apiospermum* otomycosis. *Am J Otolaryngol.* **28**: 254-256
5. BARZINJY V.B., DABBAGH R., SABER A.K. (2009) Fungal and other microorganisms involved in otomycosis in Hawler area. *Middle East J Int Med.***2**: 7-10
6. BESBES M, MAKNI F, CHEIKH-ROUHOU F, SELAMI H, KHARRAT K, AYADI A. (2002) Otomycosis due to *Scopulariopsis brevicaulis*. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord).* **123**:77-78.
7. BHALLY H.S, SHIELDS C., LIN S.Y., MERZ W.G. (2004) Otitis caused by *Scedosporium apiospermum* in an immunocompetent child. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* **68**: 975-978.
8. BUZINAW.,LANG-LOIDOLT D., GINTER-HANSELMAYER G. (2004) *Trichophyton rubrum* in external auditory meatus. *Mycoses***47**: 85-86
9. CLARK W.B, BROOK I, BIANKI D, THOMPSON D.H. (1997) Microbiology of otitis externa. *Otolaryngol Head Neck Surg.* **116**: 23-25
10. DIBB W.L. (1991) Microbial aetiology of otitis externa, *J Infect.* **22**: 233-239.
11. DORKO E., JENČA A., ORENČÁK M., VIRÁGOVÁ S., PILIPČINEC E. (2004) Otomycosis of Candidal Origin in Eastern Slovakia. *Folia Microbiol.* **49**: 601-604
12. EGAMI T., NOGUCHI M., UEDA S. (2003) Mycosis in the ear, nose and throat. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* .**44**:277-283
13. ENOZ M., SEVINC I., LAPEÑA J.F. (2009) Bacterial and fungal organisms in otitis externa patients without fungal infection risk factors in Erzurum, Turkey. *Braz J Otorhinolaryngol.* **75**: 721-725
14. FASUNLA J., IBEKWE T., ONAKOYA P. (2008) Otomycosis in western Nigeria. *Mycoses* **51**: 67-70

15. GARCÍA-MARTOS P., DELGADO D., MARÍN P., MIRA J. (1993) Analysis of 40 cases of otomycosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* **11**: 487-489
16. GUTIÉRREZ P.H., ÁLVAREZ S.J., GIL-CARCEDO SAÑUDO E., GIL-CARCEDO GARCÍA L.M., SÁNCHEZ C.R. a kol. (2005) Presumed diagnosis: Otomycosis. A study of 451 patients, *Acta Otorrinolaryngol Esp.* **56**: 181-186
17. HO T., VRABEC J.T., YOO D., COKER N.J. (2006) Otomycosis: Clinical features and treatment implications. *Otolaryngol Head Neck Surg.* **135**: 787-791
18. HOOG de G.S., GUARRO J., GENE J., FIGUERAS M.J. (2000) Atlas of Clinical Fungi, 2nd edition, Spain
19. JACKMAN A., WARD R., APRIL M., BENT J. (2005) Topical antibiotic induced otomycosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* **69**: 857-860
20. KAUR R., MITTAL N., KAKKAR M., AGGARWAL A.K., MATHUR M.D. (2000) Otomycosis: a clinicomycologic study. *Ear Nose Throat J.* **79**: 606-609
21. KLICH M. A. (2002) Identification of Common Aspergillus species, Ponsen & Looijen, Wageningen, The Netherlands
22. KUMAR A. (2005) Fungal spectrum in Otomycosis Patients. *JK Science* **7**: 152-155
23. KURNATOWSKI P., FILIPIAK A. (2001) Otomycosis: prevalence clinical symptoms, therapeutic procedure. *Mycosses* **44**: 472-478
24. KURTZMAN C.P., FELL J.W., The Yeasts – taxonomy study, Elsevier, 2000
25. MARTIN T.J., KERSCHNER J.E., FLANARY V.A. (2005) Fungal causes of otitis externa and tympanostomy tube otorrhea. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* **69**: 1503-1508
26. MUNGUÍA R., DANIEL S.J. (2008) Otological antifungals and otomycosis: A review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* **72**: 453-459

27. NECHOJDOMOVÁ D., KABÁTOVÁ Z., PROFANT M. (2007) Akútne zápaly vonkajšieho a stredného ucha. Otorinolaryngologická klinika LF UK a FNsP, Bratislava, *Via practica* **4**: 62-65
28. NIEWERTH M., KORTING H.C. (2001) Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses* **44**: 361-367
29. OLIVERI S., CAPELLO G., NAPOLITANO M.G., TRIOLO C., GRILLO C. (1984) Otomycosis: etiology and analysis of predisposing factors. *Boll Ist Sieroter Milan.* **63**: 537- 542
30. OSGUTHORPE J.D., NIELSEN D. R. (2006) Otitis externa: Review and clinical update. *Am Fam Physician* **74**: 1510-1516
31. OTČENÁŠEK M., SCHINDLER J., TICHÁČEK B., POTUŽNÍK V. (1990) Vyšetřovací metody při mykotických onemocněních, Avicenum, Praha. 152s.
32. OZCAN K.M., OZCAN M., KARAARSLAN A., KARAARSLAN F. (2003) Otomycosis in Turkey: predisposing factors, aetiology and therapy. *J Laryngol Otol.* **117**: 39-42
33. PATERSON P.J., MARSHALL S.R., SHAW B., KENDRA J.R., ETHEL M. a kol. (2000) Fatal invasive cerebral *Absidia corymbifera* infection following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* **26**: 701-703
34. PAVLENKO S.A. (1990) Otomycoses in the Kuznetsk region and organization of medical services for this group of population. *Vest otorinolaryngol.* **4**: 70-74
35. PONTES Z.B., SILVA A.D., LIMA EDE O., GUERRA M.H., OLIVEIRA N.M. a kol. (2009) Otomycosis: a retrospective study. *Braz J Otorhinolaryngol.* **75**: 367-370
36. SANDER R. (2001) Otitis Externa: A Practical Guide to Treatment and Prevention. *Am Fam Physician* **63**: 927-937
37. SCHRADER N., ISAACSON G. (2003) Fungal otitis external - its association with fluoroquinolone eardrops, *Pediatrics* **111**: 1123

38. SUH M.K, HA G.Y. (1999) A Clinical and Mycological Study of Otomycosis. *Korean J Med Mycol.* **4**: 15-20.
39. TROFA D., GÁCSER A., NOSANCHUK J.D. (2008) *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen. *Clin Microb Rev.* **21**: 606- 625
40. TUZCU A., BAHCECI M., CELEN M.K., KILINC N., OZMEN S. (2006) Necrotizing (malignant) otitis externa: An unusual localization of mucormycosis. *Indian J Med Microbiol.* **24**: 289-291
41. VENNEWALD I., SCHÖNLEBE J., KLEMM E. (2003) Mycological and histological investigations in humans with middle ear infections. *Mycoses***46**: 12-18
42. VENNEWALD I., KLEMM E. (2010) Otomycosis: Diagnosis and treatment. *Clin Dermatol.***28**: 202-11
43. YAO M, MESSNER A.H. (2001) Fungal malignant otitis externa due to *Scedosporium apiospermum*. *Ann Otol Rhinol Laryngol.***110**(4): 377-80
44. YEHIA M.M., AL-HABIB H.M., SHEHAB N.M. (1990) Otomycosis: a common problem in north Iraq. *J Laryngol Otolology***104**: 387- 3

Biofilm a jeho význam v klinickej praxi.

Novohradská Silvia¹, Borecká Silvia²

¹Komenského Univerzita v Bratislave, Lekárska fakulta, Ústav epidemiológie, Špitálska 24, 813 72 Bratislava 1

²Komenského Univerzita v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Mlynská dolina B2, 842 15 Bratislava 4

Úvod

Väčšina mikroorganizmov rastie skôr v štruktúrovaných biofilmoch ako samostatne. Takto vytvorené spoločenstvá sú častou príčinou širokej škály ochorení, napríklad infekcií močových ciest, katétrov a infekcií stredného ucha u detí. Sú taktiež príčinou tvorby zubného povlaku, ale i závažnejších ochorení, ako sú endokarditídy a infekcie srdcových chlopní. Vo všeobecnosti žije 80% baktérií v prírode v spoločenstvách mikroorganizmov a až 65% mikrobiálnych infekcií ľudí je spájaných s tvorbou biofilmu (Donlan, 2002; Douglas, 2003; Ramage a kol., 2006; Avon a kol., 2007). Biofilmy predstavujú rezervoár perzistentných buniek, ktoré dokážu opätovne kolonizovať rôzne miesta hostiteľského organizmu. Bakteriálny biofilm sa študuje už skoro 30 rokov, avšak biofilm tvorený vláknitými hubami a kvasinkami sa dostal do pozornosti až pred približne desiatimi rokmi.

Klinický význam biofilmu

Biofilmy sa vyskytujú napr. pri pneumóniách sprevádzajúcich cystickú fibrózu, ktoré sú vyvolané *Pseudomonas aeruginosa*, pri infekciách močových ciest spôsobených *Escherichia coli* alebo pri tuberkulóze zapríčinennej *Mycobacterium tuberculosis*. Takisto sú zodpovedné za perzistentné infekcie *Streptococcus mutans* na povrchu zubov (Chen a Wen, 2011). V biofilmoch tvorených vláknitými hubami a kvasinkami dominujú zástupcovia rodu *Candida*, avšak v posledných rokoch sa objavujú správy o závažných

Prehľadová práca

infekciách vyvolaných *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium* sp., *Pneumocystis* sp., *Rhodotorula* sp. *Trichosporon asahii*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Malassezia pachydermatis*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Coccidioides immitis* (Martinez a Fries, 2010; Miceli a kol., 2011). Biofilmy tvorené *C. neoformans* boli získané z dialyzačných trubičiek, centrálnych žilových katétrov či umelých kĺbov a srdcových chlopní (Braun a kol., 1994; Banerjee a kol., 1997; Johannsson a Callaghan, 2009; Tuon a kol., 2009), zástupcovia rodov *Trichosporon* a *Aspergillus* kolonizujú napr. prsníkové implantáty (Reddy a kol., 2002; Wright a kol., 2006) a *B. capitatus* podobne ako *Yarrowia lipolytica* a *Rhodotorula* sp. sú vyvolávatel'mi fungémií spojených s infekciou katétrov (D'Antonio a kol., 2004; Miceli a kol., 2011; Ye a kol., 2011). *Candida albicans*, kvasinka vyskytujúca sa ako komenzál na slizniciach zdravých ľudí, avšak často vystupujúca ako oportúnny patogén u imunokompromitovaných pacientov je typickým zástupcom kvasiniek tvoriacich biofilm (Ramage a kol., 2006). Je tretím najčastejším vyvolávatel'om infekcií intravaskulárnych katétrov. Počet druhov non-*albicans* *Candida* vykazujúcich schopnosť tvoriť biofilm a spôsobovať infekcie rôznych medicínskych materiálov však neustále narastá. Medzi kvasinky spôsobujúce vážne nozokomiálne infekcie sa zaradili aj *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* a *C. tropicalis* (Martinez a Fries, 2010). Biofilm tvorený len jedným druhom mikroorganizmov je v *in vivo* podmienkach ojedinelý. Oveľa častejšie sa na vzniku biofilmu podieľajú rôzne druhy, ale aj rody kvasiniek, či dokonca baktérií, medzi ktorými sa do istej miery vytvárajú medzidruhové komenzálne alebo mutualistické vzťahy. Príkladom obojstranne prospešného vzťahu je koagregácia, kedy dochádza k vzájomnej interakcii medzi dvoma rôznymi druhmi mikroorganizmov. Na základe špecifického bunkového rozpoznávania mikroorganizmy spolu aglutinujú a vytvárajú sieťovinu, ktorá im umožňuje lepšie sa prichytiť na okolité povrchy. Koagregácia kvasiniek *Candida* sp. s grampozitívnymi baktériami *Streptococcus* sp. predstavuje výhodu pre kvasinky počas kolonizácie orálnej sliznice. Experimentálne bolo

Prehľadová práca

dokázané, že *Streptococcus mutans* podporuje rast biofilmu *C. glabrata* aj *C. albicans* na rôznych typoch umelých povrchov ako napr. na hydroxyapatite, polymetylmetakryláte, či dokonca na umelých zubných protézach (Pereira-Cenci a kol., 2008). Na druhej strane ďalšiu formu vzájomnej interakcie predstavuje konkurenčný boj mikroorganizmov o miesto adhérence. Tento jav je často pozorovaný práve v biofilme kandid. Bolo dokázané, že práve prítomnosť *C. glabrata* či iných non-*albicans* kandid signifikantne redukuje počet buniek *C. albicans* tvoriacich biofilm. Na druhej strane však práve štruktúra biofilmu *C. albicans* napomáha prichyteniu *C. glabrata* v mieste kolonizácie (El-Azizi a kol., 2004). Podobne môže byť biofilm tvorený kandidami inhibovaný aj prítomnosťou baktérií. *P. aeruginosa* napr. takmer úplne inhibuje rast *C. glabrata* vďaka vyčerpaniu živín a sekréciou bakteriálnych toxínov. Taktiež aj *C. glabrata* do určitej miery inhibuje rast *P. aeruginosa* počas adhérence, kolonizácie a maturácie v heterogénnom biofilme (Bandara a kol., 2010).

Proces tvorby biofilmu

Tvorba biofilmu je zložitý proces, ktorý zahŕňa niekoľko fáz. Najlepšie bol doteraz preštudovaný u *C. albicans*. U tejto kvasinky boli identifikované 4 hlavné fázy tvorby biofilmu: skorá (0–11 h), intermediálna (12–30 h), neskorá resp. maturačná (38–72 h) a disperzná fáza (Chandra a kol., 2001; Blankenship a Mitchell, 2006). V prvom kroku kvasinkové bunky adherujú k povrchom (tkanivá hostiteľa alebo medicínske materiály) a začína sa množenie kandid a ich šírenie po povrchu. V intermediálnej fáze dochádza k proliferácii buniek, rastu hýf a tvorbe extracelulárnej matrix a v neskorkej fáze tvorby biofilmu dochádza k nárastu hmoty matrix a k tvorbe typickej trojrozmernej štruktúry. Počas disperznej fázy sa objavujú dcérske bunky s výrazne zníženou adhérenčnou schopnosťou. Takéto bunky sú potom uvoľňované z biofilmov, spôsobujú fungémi a sú schopné kolonizovať ďalšie miesta v hostiteľskom organizme. Navyše, bunky uvoľňované z tvoriacich sa biofilmov vykazujú podobné mechanizmy rezistencie ako bunky

Prehľadová práca

tvoriace biofilm (Borecká-Melkusová a kol., 2009). Na konci celého procesu je biofilm kandid zmesou rôznych morfológických foriem: kvasinkových buniek, hýf aj pseudohýf vo vnútri polysacharidovej, proteínovej a uhlíkovodíkovej matrix (Kojic a Darouiche, 2004).

Jednu z najvýznamnejších úloh pri tvorbe biofilmu zohráva adherencia k povrchu. Bolo publikovaných niekoľko prác zdôrazňujúcich úlohu jednotlivých génov (napr. *ALS1*, *ALS3*, *HWP1*, *EAP1* u *C. albicans* a *EPA6* a *EPA7* u *C. glabrata*) v procesoch adherencie ku klinicky používaným materiálom, ako sú napríklad centrálné venózne katétre a vplyv prerušenia takýchto génov na tvorbu biofilmu (Iraqi a kol., 2005; Li a kol., 2007; Nobile a kol., 2008). Navyše kmene, ktoré neexprimujú adhezíny *Hwp1*, *Als3* alebo ich transkripčné faktory *Tec*, *Bcr1* strácajú schopnosť špecifickej medzibunkovej adherencie a tým opäť dochádza k zníženej tvorbe biofilmu (Nobile a Mitchell, 2005; Dwivedi a kol., 2011).

Štruktúra biofilmu

Detailná štúdia zreých biofilmov *C. albicans* vytvorených *in vitro* po 48-hodinovej inkubácii ukázala, že biofilmy pozostávajú z hustej siete kvasiniek, hýf a pseudohýf. Dvojvrstva mikrokolónii kvasiniek a mycélia je viazaná na matrix (Chandra a kol., 2001; Ramage a kol., 2004). Extracelulárna matrix predstavuje komplex mimobunkového materiálu, ktorý ochraňuje jednotlivé bunky pred fagocytózou, znižuje prenikanie toxických látok k bunkám, pôsobí ako lešenie pre bunky a tak umožňuje zachovanie integrity biofilmu (Hawser a kol., 1998). Pozostáva zväčša z polysacharidov podobných bunkovej stene kandid a obsahuje manózu a zvyšky glukózy, fosfor a proteíny (Chandra a kol., 2001). Zloženie extracelulárnej matrix je do veľkej miery ovplyvnené podmienkami, v ktorých dochádza k vzniku biofilmu. Bolo dokázané, že kontinuálny tok a premiešavanie kultúry podporuje vznik biofilmu s rozsiahlou extracelulárnou matrix, na rozdiel od biofilmu rastúceho za stacionárnych podmienok (Kumamoto, 2002). Tvorba biofilmu a zloženie extracelulárnej matrix je teda do veľkej miery ovplyvnené

Prehľadová práca

najmä environmentálnymi podmienkami ako sú nutričné zloženie a prúdenie média, pH, kultivačná teplota, prísun kyslíka a koncentrácia antimikrobiálnych látok (Donlan, 2001; Silva a kol., 2011). Hoci sa vo väčšine prípadov v literatúre popisuje štruktúrovaný biofilm tvorený kvasinkovými bunkami, spleťou hýf a extracelulárnou matrix, niektoré práce ukazujú, že takáto štruktúra nie je potrebná na vytvorenie biofilmu. Na druhej strane atypické biofilmy nedosahujú hrúbku klasických biofilmov. Baillie a Douglas (1999) dokázali, že biofilmy sú schopné tvoriť aj bunky s prerušenými génmi ovplyvňujúcimi tvorbu hýf, alebo aj bunky, ktoré rastú výlučne vo forme hýf. Zatiaľ čo kmene s inhibovanou tvorbou hýf sú schopné tvoriť len bazálnu vrstvu biofilmu, kmene s chýbajúcimi kvasinkovými bunkami tvoria masívne biofilmy štruktúrou podobné vonkajšej vrstve biofilmov tvorených zmesou kvasinkových buniek a hýf. Medzi jednotlivými zástupcami rodu *Candida* existujú viaceré rozdiely v zložení a štruktúre biofilmu ako aj v metabolickej aktivite buniek tvoriacich biofilm. *C. glabrata* vykazuje zníženú schopnosť tvoriť biofilm v nutrične bohatom kultivačnom médiu v porovnaní s inými non-*albicans* kandidami (Shin a kol., 2002; Silva a kol., 2010). Biofilm *C. glabrata* predstavuje tenšiu, ale zato kompaktnjšiu štruktúru v porovnaní s biofilmom vytvoreným *C. albicans*. Do značnej miery je tvorený najmä blastosporami, obsahuje však mnohé krížové prepojenia. Skutočnosť, že kvasinka *C. glabrata* nie je schopná tvoriť pravé hýfy, avšak tvorí masívne biofilmy, potvrdzuje, že tvorba pravých hýf nie je nevyhnutná pre vznik biofilmu (Seneviratne a kol., 2009).

Quorum sensing

Biofilm nie je len náhodný zhluk buniek, je to vysoko organizované spoločenstvo, v ktorom bunky medzi sebou komunikujú. U mikroorganizmov pozorujeme široký komplex nízko-molekulových signálnych látok, ktoré bunky vylučujú do prostredia a koordinujú tak svoje diferenciačné procesy počas tvorby biofilmu. Tento fenomén sa nazýva „*quorum sensing*“.

Pôvodná práca

U kvasiniek bol prvou identifikovanou molekulou *E,E*-farnazol, doteraz najlepšie preštudovaný u *C. albicans*. Jeho primárna úloha spočíva v reverzibilnej inhibícii tvorby biofilmu, prepínania medzi kvasinkovou a hyfálnou štruktúrou a kolonizácie rôznych umelých, ale aj živých tkanív. Nemá však žiadny vplyv na už existujúce hýfy. V prítomnosti farnezolu dochádza k zníženiu expresie génov spojených s tvorbou hýf, a naopak k zvýšenej expresii génov, zodpovedných za rezistenciu voči antifungálnym látkam (De Sordi a Mühlshlegel, 2009). Produkcia tohto seskviterpénu bola doteraz pozorovaná najmä u *C. albicans* a *C. dubliniensis*.

Rezistencia biofilmov na stres a antifungálne látky

Schopnosť tvoriť biofilm prináša pre kvasinky aj výhodu v podobe rezistencie voči antifungálnym látkam. Kvasinky rastúce v spoločenstve biofilmu vykazujú v porovnaní s planktonicky rastúcimi bunkami až tisícnásobne vyššiu rezistenciu voči flukonazolu, amfotericínu B, flucytozínu, itrakonazolu a ketokonazolu (Kojic a Darouiche, 2004). Zároveň bola dokázaná aj znížená citlivosť buniek rastúcich v biofilme na oxidačný stres, vyvolaný najčastejšími klinickými biocídmi NaOCl a H₂O₂. Kľúčovú úlohu vo zvýšenej rezistencii na osmotické a oxidatívne reagentie zohráva v biofilme *C. glabrata* zvýšená expresia génov zahrnutých v odpovedi na stres: *HSP12*, *TRX1*, *AHP1*, *PEP4*, *ALD2* (Seneviratne a kol., 2010). Zvýšenú rezistenciu biofilmu však zabezpečujú aj viaceré ďalšie faktory: pevná štruktúra biofilmu, obmedzená penetrácia antibiotík matrixovou vrstvou, pomalý rast mikroorganizmov v biofilme a s ním súvisiace biochemické zmeny v zložení bunkovej steny, znížená metabolická aktivita buniek tvoriacich biofilm a vysoká anti-oxidatívna schopnosť (Chandra a kol., 2001; Kojic a Darouiche, 2004; Seneviratne a kol., 2008; Seneviratne a kol., 2010). V biofilmoch *C. albicans* dochádza napr. k zvýšenej expresii génov *CDR1* and *CDR2* (kódujú membránové transportéry typu ABC) a génu *MDR1*, ktorý kóduje pumpu MFS (*major facilitator superfamily transporter*; Ramage a kol., 2002; Mateus a kol., 2004).

Pôvodná práca

Pri tvorbe biofilmu významne klesá množstvo ergosterolu, čo zvyšuje rezistenciu voči flukonazolu (Mukherjee a kol., 2003). V extracelulárnej matrix môže navyše dochádzať k ukladaniu glukánu, ktorý bráni difúzii antimykotík a chráni bunky pred ich účinkom (Nett a kol., 2010).

Možnosti terapie infekcií spojených s tvorbou biofilmu

Terapia ochorení spojených s infekciou rôznych medicínskych pomôcok v súčasnosti zahŕňa v prvom rade odstránenie zdroja infekcie a následnú dlhodobú antimikrobiálnu terapiu. Odstránenie napr. umelých kĺbových náhrad alebo infikovaných srdcových chlopní je však zložité a vyžaduje náročné chirurgické zákroky. Objavujú sa však aj správy spochybňujúce takéto postupy. Napr. výmena centrálnych žilových katétrov u pacientov s fungémiou nemá na ďalšiu liečbu až taký zásadný vplyv a terajšie zaužívané postupy by sa mali preto prehodnotiť (Nucci a kol., 2010). Ďalším problémom pri terapii je výber vhodného antimykotika. Voči rezistentným biofilmom sú aktívne nové antifungálne látky: lipidické formy amfotericínu B (lipozomálny amfotericín B a lipidický komplex amfotericínu B-ABLC) a echinokandíny (kaspofungín a mikafungín) (Kuhn a kol., 2002; Cateau a kol., 2008). Objavujú sa však správy o zníženej citlivosti biofilmov aj voči týmto látkam (Jain a kol., 2007). Vhodné je preto aj použitie kombinovanej terapie, napr. kombinácia posakonazolu a amfotericínu B (Tobudic a kol., 2010).

Výskum v oblasti hľadania nových antifungálnych látok sa čoraz viac upriamuje na prírodné extrakty z rôznych rastlín. Bolo identifikovaných viacero etanolových extraktov s potenciálnou „*antiquorum sensing*“ aktivitou (AQS). Al-Hussaini a Mahasneh (2009) pozorovali výrazný účinok extraktov z kvetov a listov *Jasminum sambac* proti *C. glabrata*. Sľubné sa zdá byť aj využitie látok zamedzujúcich adhérenciu mikroorganizmov a následnú tvorbu biofilmu. Takouto látkou je napr. chitosan, kationový polymér izolovaný z exoskeletu kôrovcov, ktorý rozrušuje negatívne nabitú bunkovú membránu húb.

Pôvodná práca

Úspešne bol použitý na pokrytie centrálnych žilových katétrov a inhibíciu tvorby biofilmu *C. albicans* a *C. parapsilosis* in vivo (Martinez a kol., 2010). Ďalšou možnosťou je použitie protilátok, namierených proti povrchovým antigénom kvasiniek a vláknitých húb, ktoré znižujú schopnosť buniek adherovať na umelé povrchy (Bujdaková a kol., 2008) alebo použitie rádioaktívne značených monoklonálnych protilátok na rozrušenie už vytvorených biofilmov (Martinez a kol., 2006).

Záver

V posledných rokoch narastá klinický význam kvasiniek a vláknitých húb. Na jednej strane sa zvyšuje počet imunosuprimovaných pacientov a na druhej strane sa rozširuje spektrum rezistencie patogénov, ktoré ohrozujú život týchto pacientov. Využívanie invazívnych medicínskych postupov umožnilo nárast ochorení spojených s tvorbou ťažko odstrániteľných biofilmov na povrchu rôznych materiálov. Ovplyvnenie tvorby biofilmu inými látkami ako sú antimykotiká sa zdá byť veľmi sľubné a vyžaduje väčšiu pozornosť. A to najmä v čase, keď infekcie spojené s tvorbou biofilmov na rôznych medicínskych pomôckach predstavujú vážny problém, najmä z pohľadu vysokej rezistencie voči antifungálnym látkam. V budúcnosti by sa mal zamerať výskum nielen na hľadanie nových účinnejších antimykotík alebo hľadanie nových miest zásahu v bunkách patogénov, ale najmä by sa mali hľadať možnosti prevencie vzniku takýchto infekcií.

Literatúra

1. **Al-Hussaini R, Mahasneh AM:** Microbial growth and quorum sensing antagonist activities of herbal plants extracts. *Molecules.*, 2009, 14:3425-3435.
2. **Avon SL, Goulet JP, Deslauriers N:** Removable acrylic resin disk as a sampling system for the study of denture biofilms in vivo. *J Prosthet Dent.*, 2007, 97:32-38.

Pôvodná práca

3. **Baillie GS, Douglas LJ:** *Candida* biofilms and their susceptibility to antifungal agents. *Methods Enzymol.*, 1999, 310:644-656.
4. **Bandara HM, Yau JY, Watt RM a kol.:** *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *in-vitro* *Candida* biofilm development. *BMC Microbiol.*, 2010, 10:125.
5. **Banerjee U, Gupta K, Venugopal P:** A case of prosthetic valve endocarditis caused by *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. *J Med Vet Mycol.*, 1997, 35:139-141.
6. **Blankenship JR, Mitchell AP:** How to build a biofilm: a fungal perspective. *Curr Opin Microbiol.*, 2006, 9:588-594.
7. **Borecká-Melkusová S, Moran GP, Sullivan DJ, a kol.:** The expression of genes involved in the ergosterol biosynthesis pathway in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* biofilms exposed to fluconazole. *Mycoses.*, 2009, 52:118-128.
8. **Braun DK, Janssen DA, Marcus JR, a kol.:** Cryptococcal infection of a prosthetic dialysis fistula. *Am J Kidney Dis.*, 1994, 24:864-867.
9. **Bujdáková H, Paulovicová E, Borecká-Melkusová S, a kol.:** Antibody response to the 45 kDa *Candida albicans* antigen in an animal model and potential role of the antigen in adherence. *J Med Microbiol.*, 2008, 57:1466-1472.
10. **Cateau E, Rodier MH, Imbert C:** *In vitro* efficacies of caspofungin or micafungin catheter lock solutions on *Candida albicans* biofilm growth. *J Antimicrob Chemother.*, 2008, 62:153-155.
11. **D'Antonio D, Parruti G, Pontieri E, a kol.:** Slime production by clinical isolates of *Blastoschizomyces capitatus* from patients with hematological malignancies and catheter-related fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 2004, 23:787-789.
12. **De Sordi L, Mühlischlegel FA:** Quorum sensing and fungal-bacterial interactions in *Candida albicans*: a communicative network regulating microbial coexistence and virulence. *FEMS Yeast Res.*, 2009, 9:990-999.

Pôvodná práca

13. **Donlan RM:** Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis.*, 2001, 7:277-281.
14. **Donlan RM:** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.*, 2002, 8:881-890.
15. **Douglas LJ:** *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol.*, 2003, 11:30-36.
16. **Dwivedi P, Thompson A, Xie Z, a kol.:** Role of Bcr1-activated genes Hwp1 and Hyr1 in *Candida albicans* oral mucosal biofilms and neutrophil evasion. *PLoS One.*, 2011, 6:e16218.
17. **El-Azizi MA, Starks SE, Khardori N:** Interactions of *Candida albicans* with other *Candida* spp. and bacteria in the biofilms. *J Appl Microbiol.*, 2004, 96:1067-1073.
18. **Hawser SP, Baillie GS, Douglas LJ:** Production of extracellular matrix by *Candida albicans* biofilms. *J Med Microbiol.*, 1998, 47:253-256.
19. **Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, a kol.:** Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol.*, 2001, 183:5385-5394.
20. **Chen L, Wen YM:** The role of bacterial biofilm in persistent infections and control strategies. *Int J Oral Sci.*, 2011, 3:66-73.
21. **Iraqi I, Garcia-Sanchez S, Aubert S, a kol.:** The Yak1p kinase controls expression of adhesins and biofilm formation in *Candida glabrata* in a Sir4p-dependent pathway. *Mol Microbiol.*, 2005, 55:1259-1271.
22. **Jain N, Kohli R, Cook E, a kol.:** Biofilm formation by and antifungal susceptibility of *Candida* isolates from urine. *Appl Environ Microbiol.*, 2007, 73:1697-1703.
23. **Johannsson B, Callaghan JJ:** Prosthetic hip infection due to *Cryptococcus neoformans*: case report. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 2009, 64:76-79.
24. **Kojic EM, Darouiche RO:** *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev.*, 2004, 17:255-267.

25. **Kuhn DM, George T, Chandra J, a kol.:** Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2002, 46:1773-1780.
26. **Kumamoto CA:** *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol.*, 2002, 5:608-611.
27. **Li F, Svarovsky MJ, Karlsson AJ, a kol.:** Eap1p, an adhesin that mediates *Candida albicans* biofilm formation *in vitro* and *in vivo*. *Eukaryot Cell.*, 2007, 6:931-939.
28. **Martinez LR, Bryan RA, Apostolidis C, a kol.:** Antibody-guided alpha radiation effectively damages fungal biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2006, 50:2132-2136.
29. **Martinez LR, Fries BC:** Fungal Biofilms: Relevance in the Setting of Human Disease. *Curr Fungal Infect Rep.*, 2010, 4:266-275.
30. **Martinez LR, Mihu MR, Tar M, a kol.:** Demonstration of antibiofilm and antifungal efficacy of chitosan against candidal biofilms, using an *in vivo* central venous catheter model. *J Infect Dis.*, 2010, 201:1436-1440.
31. **Mateus C, Crow SA Jr, Ahearn DG:** Adherence of *Candida albicans* to silicone induces immediate enhanced tolerance to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2004, 48:3358-3366.
32. **Miceli MH, Díaz JA, Lee SA:** Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis.*, 2011, 11:142-151.
33. **Mukherjee PK, Chandra J, Kuhn DM, a kol.:** Mechanism of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms: phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols. *Infect Immun.*, 2003, 71:4333-4340.
34. **Nett JE, Sanchez H, Cain MT, a kol.:** Genetic basis of *Candida* biofilm resistance due to drug-sequestering matrix glucan. *J Infect Dis.*, 2010, 202:171-175.
35. **Nobile CJ, Mitchell AP:** Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the *C. albicans* transcription factor Bcr1p. *Curr Biol.*, 2005, 15:1150-1155.

Pôvodná práca

36. **Nobile CJ, Schneider HA, Nett JE, a kol.:** Complementary adhesin function in *C. albicans* biofilm formation. *Curr Biol.*, 2008, 18:1017-1024.
37. **Nucci M, Anaissie E, Betts RF, a kol.:** Early removal of central venous catheter in patients with candidemia does not improve outcome: analysis of 842 patients from 2 randomized clinical trials. *Clin Infect Dis.*, 2010, 51:295-303.
38. **Pereira-Cenci T, Deng DM, Kraneveld EA, a kol.:** The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surfaces. *Arch Oral Biol.*, 2008, 53:755-764.
39. **Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, a kol.:** Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother.*, 2002, 49:973-980.
40. **Ramage G, Martínez JP, López-Ribot JL:** *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res.*, 2006, 6:979-986.
41. **Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, a kol.:** Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 2004, 98:53-59.
42. **Reddy BT, Torres HA, Kontoyiannis DP:** Breast implant infection caused by *Trichosporon beigelii*. *Scand J Infect Dis.*, 2002, 34:143-144.
43. **Seneviratne CJ, Jin L, Samaranayake LP:** Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. *Oral Dis.*, 2008, 14:582-590.
44. **Seneviratne CJ, Silva WJ, Jin LJ, a kol.:** Architectural analysis, viability assessment and growth kinetics of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. *Arch Oral Biol.*, 2009, 54:1052-1060.
45. **Seneviratne CJ, Wang Y, Jin L, a kol.:** Proteomics of drug resistance in *Candida glabrata* biofilms. *Proteomics.*, 2010, 10:1444-1454.

46. **Shin JH, Kee SJ, Shin MG, a kol.:** Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol.*, 2002, 40:1244-1248.
47. **Silva S, Negri M, Henriques M, a kol.:** Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *Trends Microbiol.*, 2011, 19:241-247.
48. **Silva S, Negri M, Henriques M, a kol.:** Silicone colonization by non-*Candida albicans* *Candida* species in the presence of urine. *J Med Microbiol.*, 2010, 59:747-754.
49. **Tobudic S, Kratzer C, Lassnigg A, a kol.:** *In vitro* activity of antifungal combinations against *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother.*, 2010, 65:271-274.
50. **Tuon FF, Morales HM, Penteado-Filho SR, a kol.:** Central venous catheter-related bloodstream infection and *Cryptococcus neoformans*. *Braz J Infect Dis.*, 2009, 13:317-318.
51. **Wright PK, Raine C, Ragbir M, a kol.:** The semi-permeability of silicone: a saline-filled breast implant with intraluminal and pericapsular *Aspergillus flavus*. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.*, 2006, 59:1118-1121.
52. **Ye Q, Xu X, Li J, a kol.:** Fungemia caused by *Yarrowia lipolytica* in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol.*, 2011, 33:e120-121.

Prehľadová práca

Mykotoxikózy – ochorenia spôsobené toxickými produktmi mikromycét

Elena Piecková,
LF SZU Bratislava

Mykotoxíny a mykotoxikózy

Mykotoxínmi nazývame produkty sekundárneho metabolizmu mikroskopických húb (nesprávne „plesní“), ktoré vyvolávajú toxickú reakciu – mykotoxikózu po prirodzenom vniknutí (požitím, vdýchnutím, cez pokožku) do organizmu vyšších živočíchov (teplokrvných stavovcov) už vo veľmi nízkych koncentráciách. Mykotoxíny patria k najmenej preskúmaným a „najtajomnejším“ príčinám ochorenia človeka i hospodársky významných zvierat. Mnoho mikroskopických húb vyskytujúcich sa v potravinách a krmovinách môže produkovať jeden alebo niekoľko mykotoxínov. Doteraz sa chemicky identifikovalo okolo 300 mykotoxínov, ale len niekoľko desiatok (cca 20) sa môže v potrave prirodzene vyskytovať v koncentráciách a/alebo frekvencii zaujímavej z hľadiska hygieny výživy.

Mykotoxíny môžu požívatinu/krmovinu kontaminovať priamo alebo nepriamo. Nepriama kontaminácia je výsledkom kontaminácie surovín, najčastejšie cereálií a olejnatých semien, mikroskopickými hubami schopnými produkovať toxíny. Je už známe, že takmer všetky požívatinu a krmovinu poskytujú vhodné prostredie pre kolonizáciu mikroskopickými hubami v niektorom zo štádií ich výroby, spracovania, dopravy a skladovania. Ľudský príjem mykotoxínov v potrave je predovšetkým z jej rastlinných komponentov (cereálie, olejnaté semená, orechoviny, ovocie, pochutiny, koreniny najmä tropického a subtropického pôvodu, ale aj produkty z nich), menej z rezíduí a metabolitov toxínov v živočíšnych zložkách (mlieko a výrobky z neho, vnútornosti, mäsové výrobky).

Charakter a rozsah kontaminácie potravy toxickými mikroskopickými hubami určuje prípadnú prítomnosť mykotoxínov

Prehľadová práca

v produktoch. Identifikácia hubového organizmu môže mať význam v diagnostike mykotoxikózy, ale kauzálny vzťah toxín – choroba je možné stanoviť len po chemickom potvrdení prítomnosti mykotoxínu v produkte, pretože:

1. prítomnosť potenciálneho hubového producenta nedokazuje aj skutočnú produkciu mykotoxínu
2. mykotoxín/-y môžu pretrvávajúť v potravine/krmive aj po odstránení mikroskopickej huby
3. mikroskopická huba môže produkovať aj viacero druhov mykotoxínov, napr. *Aspergillus flavus* môže produkovať aflatoxín B1 aj kyselinu cyklopiazónovú
4. konkrétny mykotoxín môže byť syntetizovaný viacerými druhmi mikroskopických húb, napr. ochratoxín A produkuje *Penicillium verrucosum* aj *Aspergillus ochraceus*, či *A carbonarius*.

Mykotoxíny môžu ovplyvniť zdravotný stav väčšiny druhov zvierat, ale zvlášť významný je ich negatívny vplyv na domáce hospodárske zvieratá (hovädzí dobytok, ošipané a hydinu), keďže tieto konzumujú veľké množstvo krmív na rastlinnej báze. Veterinárne mykotoxikózy sú spojené s vážnymi diagnostickými problémami najmä kvôli syndrómom ľahko zameniteľným za prejavy infekčných chorôb alebo výživových deficiencií či nevyváženosti. Jednotlivé mykotoxikózy môžu postihovať aj viaceré systémy zvieracieho organizmu. vystavené multitoxickému účinku mykotoxínov, ale aj iných cudzorodých látok. Všeobecne možno charakterizovať účinky mykotoxínov na zvierací organizmus jednou z nasledujúcich foriem mykotoxikóz:

Akútne primárne mykotoxikózy

Zvieratá v tomto prípade vykazujú jasné symptómy ochorenia a v krajnom prípade môžu uhynúť. Špecifické akútne prejavy choroby zahŕňajú hepatitídu, krvácanie (hemoragiu), zlyhávanie obličiek (nefritídu), nekrózu sliznice tráviaceho traktu, pričom každý systém organizmu môže byť zasiahnutý toxínom:

Prehľadová práca

- obehový systém (zvýšená priepustnosť a lámavosť ciev, krvácanie do tkanív, napr. účinkom aflatoxínov)
- tráviaci systém (hnačka, krvácanie, hepatotoxické účinky vedúce až k nekróze pečene, zväčšenie žlčníka a žľčovodov, napr. z alfatoxínov; rozpad slizníc, napr. z T-2 toxínu;
- uzavretie žlčníka, napr. sporidezmín; zvracanie a odmietanie potravy, napr. vomitoxín)
- dýchací systém (dusenie, krvácanie, opuch, napr. z fumonizínov, stachybotryotoxínov)
- nervová sústava (triašky, nekoordinované pohyby, strach, bezvedomie, napr. z tremorgénov, ergotových alkaloidov)
- koža (nadmerná citlivosť na slnečné žiarenia, napr. sporidezmín; nekróza a zvliekanie sa, napr. ergotové alkaloidy)
- močový systém (zlyhávanie obličiek, urémia, napr. ochratoxín A, citrinín)
- reprodukčný systém (neplodnosť, fyziologické poruchy pohlavných orgánov, napr. zearalenón, T-2 toxín).

Bežné koncentrácie mykotoxínov v krmivách zvyčajne nedosahujú úroveň schopnú vyvolať akútnu formu mykotoxikózy, ale najčastejšie môžu vyvolať chronickú primárnu mykotoxikózu. V prípade ľudských foriem akútnej mykotoxikózy možno uvažovať len o náhodnom a výnimočnom požití viditeľne plesnivej potravy, čo v podmienkach dnešnej Európy je možné len vo veľmi obmedzenej spoločnosti až vôbec nie. Z histórie sú však známe rozsiahle epidémie ergotizmu (toxíny námeľa – ražnej hubky *Claviceps purpurea*) v stredoveku, alimentárna toxická aleukia (fuzáriové toxíny) v bývalom ZSSR počas 2. svet. vojny, stachybotryotoxikóza roľníkov v Rusku v 1. pol. min. stor. atď.

Chronické primárne mykotoxikózy

V tejto forme mykotoxikóz nie je možné jasne makroskopicky postrehnúť zmeny na organizme chorého zvierat'a a symptómy choroby sa prejavujú v skupinách zvierat ako znížená produktivita

Prehľadová práca

(nízke hmotnostné prírastky, znížená reprodukčná schopnosť aj trhová kvalita, zhoršená účinnosť využitia potravy, nízka dojivosť a znáška vajec). Diagnostika môže vychádzať z neprítomnosti inej choroby a z nálezu mykotoxínov v používanom krmive. Táto forma mykotoxikózy je nepochybne najčastejšou u domácich úžitkových zvierat. Veľmi dobre sú jej následky definované v USA, menej v Európe, kde nebola celkom dôsledná kontrola krmív na obsah mykotoxínov.

Sekundárne mykotoxikózy

Považujú sa za ne ochorenia – neskoré následky (chronickej) toxicity mykotoxínov, hlavne v dôsledku ich negatívneho pôsobenia na imunitu zvierat a, ale najmä človeka (oveľa dlhší čas pôsobenia). Účinky mykotoxínov na zdravie nemožno oddeliť od pôsobenia iných cudzorodých látok – chemických i mikrobiálnych v potrave a ostatných zložkách životného prostredia. V tejto súvislosti je takmer nemožné stanoviť tzv. bezpečnú koncentráciu mykotoxínov v potrave.

Niektoré mykotoxíny (napr. aflatoxíny, sterigmatocystín, ochratoxín A) patria k látkam schopným vyvolať rakovinu (karcinogény), poškodiť genetickú informáciu (mutagény), spôsobiť poškodenia zárodkov (teratogény).

Snáď najhlbšie preštudovanými mykotoxínmi všeobecne sú aflatoxíny, ktorých účinkom sa pripisujú rôzne poškodenia zdravia zvierat aj ľudí, stále však bez jasne stanoveného kauzálneho vzťahu medzi ich dávkou a vyvolaným defektom. Vlastné poškodenie biologického materiálu makroorganizmu vyvolávajú aflatoxínové adukty vznikajúce počas metabolizmu aflatoxínov (najmä B1). Práve tieto zlúčeniny pôsobia genotoxicky.

Podľa najnovších poznatkov aflatoxíny majú významnú úlohu

- v etiológii kwashiorkoru (detské ochorenie v trópoch pôvodne pripisované nedostatku proteínov v strave)
- pri zvyšovaní náchylnosti novorodencov k infekciám, žltacke i rakovinovým ochoreniam

Prehľadová práca

- znižovaní imunitnej odpovede pri profylaktickom očkovaní
- pravdepodobne aj pri rozvoji infekčných chorôb u narkomanov (užívateľov heroínu), príp. aj pandemickom šírení AIDS v Afrike.

Na základe epidemiologických štúdií sa aflatoxín B1 podieľa na Reyovom syndróme u detí (encefalopatia a tuková degenerácia vnútorností) i primárnej rakovine pečene. Možno ho hodnotiť ako iniciátor karcinogenézy. V laboratórnych testoch sa tento aflatoxín ako najsilnejší známy karcinogén biologického pôvodu. Podobné účinky má aj jeho metabolit vyskytujúci sa v mlieku aflatoxín M1. Ďalej tieto klesajú v poradí aflatoxín B2, G1 a G2.

Ochratoxín A (produkujú ho aspergily zo sekcie *Circumdati* a *A. carbonarius*, ale aj *Penicillium verrucosum*) sa epidemiologicky dáva do súvislosti s balkánskou endemickou nefropatiou ľudí a s výskytom nádorov močového traktu. Inhibuje intramitochondriálny fosfátový transport (základ dýchacieho reťazca) a spôsobuje štiepenie dvojzávitnice DNA v obličkách. V niektorých krajinách severnej Európy boli detekované vysoké hladiny tohto mykotoxínu v krvi aj plazme darcov, ojedinele aj v materskom mlieku (v Taliansku), čo nepriamo indikuje kontinuálny vysoký príjem v potrave. Často ním bývajú kontaminované aj alkoholické nápoje víno a pivo, najmä z teplých klimatických pásem.

Z ďalších aspergilových mykotoxínov treba spomenúť (hepato)karcinogénny sterigmatocystín – prekursor v syntéze aflatoxínov, ktorý nadobúda na význame v súvislosti s rozširovaním vedomostí o výskyte mykotoxínov v aerosole, kde patrí k najčastejšie sa objavujúcim (producent *A. versicolor*, ale aj chetómia a pod.). Imunosupresívne a krvotvorbu inhibujúce účinky má gliotoxín (producenti *A. chevalieri*, *A. fumigatus*, *A. terreus*), ale takéto účinky vykazujú všetky mykotoxíny. Stukovatenie vnútorných orgánov, nekrózu buniek pečene, obličkových kanálikov a enteritídu spôsobuje kyselina cyklopiazónová.

Prehľadová práca

Patulín (produkujú ho aj niektoré aspergily, ale najmä penicíliá) spôsobuje u ľudí hlavne gastritídu a hnačku, ale u laboratórných zvierat sa vyskytli aj opuchy pľúc a mozgu, prípadne teratogénne účinky, považuje sa teda za mutagénnu látku.

Synergické účinky s ochratoxínom A pri iniciácii rakoviny obličiek má penicíliami syntetizovaný citrinín, patrí aj k neurotoxínom.

Fuzária produkujú najširšie spektrum trichotecénových mykotoxínov (ďalší producenti sú z rodov *Trichoderma*, *Alternaria* a i.) a vďaka svojmu celosvetovému rozšíreniu sú aj najvýznamnejším zdrojom týchto mykotoxínov v krmivách i potravinách. Z trichotecénov majú praktický význam v hygiene výživy najmä zástupcovia typu A (podľa chemickej štruktúry): di- a monoacetoxyscirpenol, HT-2, T-2 toxín a neosolaniol (producenti napr. *Fusarium acuminatum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. sambucinum* – významné rastlinné patogény cereálií) a typu B: deoxynivalenol (vomitoxín) a jeho acetylované deriváty, nivalenol, fuzarenón X (producenti napr. *F. culmorum*, *F. solani* z cereálií, zemiakov atď.).

Typickými prejavmi trichotecénových mykotoxikóz je kožné dráždenia, krvácanie, poruchy krvotvorby, znížená imunita bunková aj protilátková, vracanie. Vysokým dávkam trichotecénov s následným rizikom intoxikácie sú v oveľa väčšej miere vystavené zvieratá. Napriek tomu sa v histórii vyskytlo aj niekoľko dokázateľných otráv u ľudí:

- v Japonsku tzv. toxikóza z červenej plesne (mykotoxín deoxynivalenol – DON vyprodukovaný *F. graminearum*),
- v bývalom Sovietskom zväze toxická alimentárna aleukia počas 2. svetovej vojny (vyvolaná T-2 toxínom produkovaným *F. sporotrichioides*).

K trichotecénovým mykotoxikózam patrí aj stachybotryotoxikóza (miestne epidémie v 1. pol. min. stor. v niektorých, najmä východoeurópskych krajinách) spôsobená cyklickými trichotecénmi

Prehľadová práca

Stachybotrys chartarum (celulolytická huba kontaminujúca aj vlhké seno, slamu, ale napr. aj papier, sadrokartón a pod.).

F. verticillioidea (*F. moniliforme*), *F. proliferatum* a niektoré zriedkavejšie fuzáriá, všetko primárne patogény kukurice, produkujú relatívne novo študovanú skupinu mykotoxínov – fumonizíny, z nich je najtoxickejší fumonizín B1 (podľa najnovších zistení ho produkuje aj *Aspergillus niger*). Štruktúrne sú to látky analogické aminocukru sfingozínu, ktorý je v organizme súčasťou predovšetkým mozgu. U zvierat vyvolávajú fumonizíny leukoencefalomaláciu koní, pľúcny opuch ošípaných, sú hepatotoxické pre laboratórne hlodavce, zhoršovali aterosklerózu opíc. Existujú epidemiologické štúdie, napr. v Južnej Afrike, niektorých oblastiach Číny, severnom Taliansku, podľa ktorých sa pravdepodobne podieľajú na zvýšenom výskyte rakoviny pažeráka u ľudí konzumujúcich veľmi kontaminovanú kukuricu. Minimálne v čínskej štúdii však bolo potrebné uvažovať aj so synergickým účinkom aflatoxínov a toxínov siníc prítomných v pitnej vode.

Zearalenón, produkovaný najmä *F. graminearum* a *F. semitectum*, patrí k nesterolovým anabolikám. Tento mykoestrogén je v makroorganizme účinnejší po biotransformácii na svoju štruktúrnu alfa-formu. U ošípaných a možno aj u človeka (znovu len na základe epidemiologických štúdií) vyvoláva neplodnosť, abnormálnu laktáciu, predčasnú pubertu (napr. u dievčat v Peru), prípadne prispieva k rakovine krčka maternice, patrí k tzv. endokrinným disruptorom.

Výživové aspekty a zdravotné následky po požití mykotoxínmi kontaminovanej potravy

V súčasných vyspelých krajinách Európy je konzumácia nadlimitne kontaminovanej potravy mykotoxínmi ľuďmi vo veľkom rozsahu takmer isto vylúčená, vďaka systému noriem a kontroly. Ojedinele sa však môžu vyskytnúť lokálne mini-epidémie z malopestovateľských zdrojov. Európska legislatíva zatiaľ komplexnejšie nerieši výskyt mykotoxínov napr. v krmivách, čím zaostáva za situáciou v USA, kde ich obsah je limitovaný aj

Prehľadová práca

v takýchto komoditách. Z hľadiska hygieny výživy i toxikológie sú stále ešte nedostatočné poznatky o spolupôsobení zmesi mykotoxínov v potrave, keďže práve toto je reálnym stavom v skutočných požívatinách, aj krmivách.

Najdôležitejšou zásadou tak je a zostáva prevencia kontaminácie predovšetkým rastlinných potravinárskych surovín mikroskopickými hubami, a teda následne ich toxickými produktmi. Správna agronomická prax, skladovanie a transport obilnín a produktov z nich sú absolútnou prioritou.

Príjem mykotoxínov v potrave sa pre porovnanie a všetky toxikologické štúdie hodnotí na 1 kg telesnej hmotnosti za určitý čas (deň, týždeň). Bezpečný limit je štatistickým parametrom, ktorý by mal zaručiť bezpečnosť priemerného konzumenta. Problémom však zostáva príjem zmesi mykotoxínov, prípadne s inými cudzorodými látkami, mikroorganizmami- synergické alebo antagonistické pôsobenie?, ale aj individuálna vnímavosť spotrebiteľov.

Požívanie kontaminovanej potravy s relatívne vysokými koncentraciami mykotoxínov dlhodobo môže viesť k prejavom ich chronickej toxicity, napr. karcinogenity, mutagenity, teratogenity, čo predstavuje najvážnejšie zdravotné následky. Podľa Medzinárodnej aganetúry pre výskum rakoviny (IARC) možno látky s ohľadom na ich potenciál spôsobiť zhubné nádorové ochorenie klasifikovať do viacerých tried:

- I. dokázateľný karcinogén pre človeka (na základe výsledkov dostatočne veľkého množstva experimentov kvalitne vykonaných), napr. fenol, benzén a pod., ale aj aflatoxín B1
- IIa. pravdepodobný karcinogén (z obmedzenej kvantity experimentov)
- IIb. možný karcinogén pre človeka (z experimentov len na niekoľkých druhoch zvierat, alebo nedostatočne dlho). Tu patria všetky ostatné karcinogénne mykotoxíny, napr. ochratoxín A, fumonizíny a zearalenón.
- III. látka sa nedá klasifikovať (nedostatočné experimenty), napr. trichotecény.

Prehľadová práca

- IV. pravdepodobne nie karcinogénna pre človeka (dokázané rovnako ako skutočný karcinogén v triede I.).

Ekonomické súvislosti mykotoxikózy zvierat a ľudí

Medzinárodná organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo pri OSN (FAO) uvádza, že okolo 25 % potravinárskych obilnín sveta je kontaminovaných mykotoxínmi. Existujú však veľké klimatické (viac rizikové sú teplé podnebné pásma) aj socioekonomické rozdiely (najvypuklejší je problém v tzv. krajinách tretieho sveta). V Európe i celom miernom podnebí sú najvážnejším problémom práve fuzáriové toxíny.

Ekonomické straty súvisiace s kontamináciou potravy mykotoxínmi sa vždy týkajú:

- výrobcov (škody v rastlinnej výrobe – priamo na poli, nepredajnosť produkcie, rast nákladov na pozberovú úpravu, transport a skladovanie obilia a pod.; v živočíšnej výrobe – znížená úžitkovosť zvierat v produkcii mäsa, vajec, mlieka, prírastkoch atď.)
- distribútorov (predražovanie sušenia, skladovania, dopravy; strata trhu)
- spracovateľov (mlynárstvo a pekárstvo, mliekárstvo, krmovinárstvo, fermentačný priemysel)
- spotrebiteľov (znížená nutričná hodnota, neprímerané ceny, zdravotné poškodenie, ekonomické straty) a
- celej spoločnosti (náklady na legislatívu a regulačné mechanizmy, výskum, výchovu, zdravotníctvo a sociálnu starostlivosť).

Regulácia celosvetového obchodu používa podstatne vyššie limity obsahu mykotoxínov v surovinách i produktoch (napr. pre aflatoxín B1 30 mikrog/kg), aby sa jednak umožnil prístup najviac postihnutých a najchudobnejších krajín trópov a subtropov na trh svetový a jednak aby sa predišlo kumulácii viac hygienicky závadných potravín na ich domácom trhu. Vďaka nerovnomernému rozdeleniu mykotoxínov v substráte a zmiešavaní produkcie rôzneho pôvodu do konečného produktu je aj tak možné splniť prísne

Prehľadová práca

hygienické potravinárske kritéria vyspelých štátov – napr. aflatoxín B1 v požívatinách pre dospelých u nás 5 mikrog/kg.

Pre detailné informácie pozri ďalej:

1. **Cole, R. J., Schweikert, M. A.:** Handbook of Secondary Fungal Metabolites, Vol. I. *Academic Press*, San Diego, 2003. s. 1006.
2. **Cole, R. J., Schweikert, M. A.:** Handbook of Secondary Fungal Metabolites, Vol. II. *Academic Press*, San Diego, 2003. s. 818.
3. **Cole, R. J., Jarvis, B. B., Schweikert, M. A.:** Handbook of Secondary Fungal Metabolites, Vol. III. *Academic Press*, San Diego, 2003. s. 672.
4. **Keller, N. P., Turner, G., Bennett, J. W.:** Fungal secondary metabolism – from biochemistry to genomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 2005, 12: 937 – 947.
5. **Kuhn, D. M., Ghannoum, M. A.:** Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious disease perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 2003: 144 – 172.
6. **Malíř, F., Ostrý, V. a kol.:** Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví človeka. *Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů*, Brno, 2003 s. 349.
7. **Smith, J. E., Lewis, C. W., Anderson, J. G., Solomons, G. L.:** Mycotoxins in Human Nutrition and Health. EC DG XII: Science, *Research and Development*, Brussels, 1994. s. 291.
8. **Výnos MP SR a NZ SR č. 414/2003-100 z 13. februára 2003.**
9. **Weidenboerner, M.:** Encyclopedia od Food Mycotoxins. *Springer-Verlag*, Heidelberg 2001. s. 264.

Zápisnica z výboru SKM

Zápisnica

zo zasadnutia Výboru SSKM SLS zo dňa 11. novembra v Bratislave

Prítomní: doc. MUDr. S. Bazovská, CSc., MUDr. R. Botek, MUDr. J. Hanzen, doc. MUDr. A. Liptáková, PhD., doc. MUDr. M. Nikš, CSc., MUDr. E. Nováková, PhD., doc. RNDr. F. Ondriska PhD., MUDr. A. Petrovičová, CSc., MUDr. A. Purgelová, doc. RNDr. D. Staneková, CSc.,
Ospravedlnení: Mgr. J. Gašparovič, PhD., doc. RNDr. V. Majtán, CSc. mim. prof., prof. MUDr. A. Líšková, PhD.

Program:

1. Kontrola zápisnice z predchádzajúceho zasadania
2. Členská základňa a aktualizovaný zoznam SSKM SLS (Purgelová)
3. Ocenenia členom jubilujúcim v roku 2012 (Purgelová)
4. Katalóg výkonov (Liptáková, Petrovičová, Hanzen, Nikš)
5. Časopis Správy klinickej mikrobiológie (Petrovičová, Hanzen)
6. Zastúpenie SSKM SLS v RR časopisu EMI
7. Internetová stránka SSKM SLS (Staneková, Purgelová)
8. Príprava odborných podujatí 2012:
 - odborná konferencia SSKM SLS a SSKM SLK – marec, Dudince (Hanzen, Nikš)
 - Prowádzkove dni – október, Komárno (Hanzen, Ondriska, Nikš)
9. Rôzne

1. Kontrola zápisnice:

Uznesenie 01-06-11 - splnené

Uznesenie 02-06-11 – plní sa

Uznesenie 03-06-11 – splnené

Uznesenie 04-06-11 – plní sa

Uznesenie 05-06-11 – splnené

Zápisnica z výboru SKM

2. Členská základňa a aktualizovaný zoznam SSKM SLS:

Vedecká tajomníčka informovala o aktuálnom stave členskej základne spoločnosti:

Počet členov: 286; priemerný vek je 52 rokov.

Kvalifikačné zloženie členov spoločnosti je nasledovné: MUDr. 147 (priemerný vek 57 rokov), RNDr. 84 (priemerný vek 49 rokov), Mgr. 23 (priemerný vek 36 rokov), MVDr. 18 (priemerný vek 51 rokov), Ing. 7 (priemerný vek 42 rokov) a jeden prom. biológ vo veku 61 rokov. 9 členov získalo titul DrSc., 36 titul CSc., 23 titul PhD. a 3 členovia titul-MPH.

K 30. septembru t.r. nemalo 58 členov spoločnosti uhradené členské príspevky za rok 2011. Vedecká sekretárka písomne vyzvala všetkých, aby vykonali úhradu do 10. októbra t.r.

Uznesenie 01-11-11: Členovia odbornej spoločnosti, ktorí neuhradia dlh za členské príspevky za dva a viac rokov do 31. 12. 2011, budú vyradení z databázy členov SSKM SLS.

Predseda spoločnosti písomne upozorní na túto skutočnosť prostredníctvom časopisu SKM.

3. Ocenenia členom jubilujúcim v roku 2012:

MUDr. Purgelová informovala členov výboru, že v roku 2012 dosiahne životné jubileum 31 členov SSKM SLS.

Výbor schválil udelenie nasledovných ocenení členom: strieborná medaila SLS – prof. MUDr. Čisláková, CSc., MUDr. Botek, doc. RNDr. Ondriska, PhD., MUDr. Purgelová; bronzová medaila SLS – MUDr. Hanzen.

Zoznam všetkých jubilujúcich členov bude uvedený v časopise Správy klinickej mikrobiológie.

4. Katalóg výkonov:

Výbor SSKM SLS na mimoriadnom zasadnutí v júni t.r. pripomienkoval a aktualizoval katalóg výkonov v časti klinická mikrobiológia. Vedecká sekretárka v požadovanom termíne zaslala cestou portálu právnych predpisov pripomienky na MZ SR. Žiadaná zo zmien navrhnutá výborom nebola MZ SR z dôvodu údajnej časovej

Zápisnica z výboru SKM

tiesne akceptovaná. Výbor sa dohodol, že pracovná skupina vedená MUDr. Hanzenom a MUDr. Petrovičovou bude priebežne zabezpečovať aktualizáciu zoznamu výkonov v časti klinická mikrobiológia tak, aby táto bola v prípade potreby okamžite k dispozícii.

Uznesenie 02-11-11: Výbor poveruje doc. MUDr. Liptákovú, vyžiadať v mene Výboru SSKM SLS aktuálny zoznam výkonov prostredníctvom Sekcie zdravia MZ SR. Zoznam zašle vedeckej sekretárke spoločnosti. Termín: november 2011

5. Časopis správy klinickej mikrobiológie:

Vedúca redaktorka časopisu informovala výbor, že štvrté číslo časopisu venované diagnostike mykotických infekcií je pripravené do tlače. Na základe dotazov a kritiky ohľadom meškania edície a distribúcie tohoročných čísel časopisu požiadala MUDr. Petrovičová o informáciu zástupcu SLK. Podľa vyjadrenia MUDr. Hanzena sú čísla pripravené a distribúcia mešká v akciovej spoločnosti SLK Lekár a.s.

Uznesenie 03-11-11: Výbor sa uzniesol, že v priebehu roku 2012 sa zmení forma časopisu z printovej na elektronickú a časopis bude aktuálne dostupný na pripravovanej webovej stránke spoločnosti.

Uznesenie 04-11-11: Výbor ukladá MUDr. Botekovi zistiť nutné podmienky súvisiace so zmenou formy časopisu na elektronickú. Termín: do 30. 11. 2011

6. Zastúpenie SKM SLS v RR časopisu EMI:

Na základe informácie prof. Kotulovej o ukončení pracovného pomeru na Ústave mikrobiológie LF a FN UK sa výbor uzniesol nasledovne:

Uznesenie 05-11-11: Prof. Kotulová bude v RR časopisu Epidemiologie, mikrobiologie a imunologie časopisu EMI v ďalšom období zastupovať SSKM SLS. Zmenu oznámi doc. Ondriska vedúcej redaktorky časopisu na najbližšom zasadaní redakčnej rady.

Zápisnica z výboru SKM

7. Internetová stránka SSKM SLS:

Doc. Staneková informovala výbor o stave prípravy internetovej stránky SSKM SLS. Výbor prijal stanovisko k náplni a obsahu jednotlivých kapitol.

Uznesenie 06-11-11: Vedecká tajomníčka požiada šéfredaktorku časopisu SKM o zaslanie všetkých starších čísel časopisu dostupných v elektronickej forme.

Termín: do 30. 11. 2011

Uznesenie 07-11-11: doc. Staneková, doc. Nikš a MUDr. Purgelová pripraví skúšobné spustenie webovej stránky.

Termín: do 10. 12. 2011

8. Príprava odborných podujatí:

Odborná konferencia SSKM SLS a SKM SLK.

- termín konania: 16. – 18. marca 2012, Dudince
- organizačný výbor: MUDr. Hanzen - predseda, doc. Nikš, MUDr. Petrovičová, MUDr. Purgelová, doc. Ondriska, MUDr. Botek
- odborné témy: 1. Sexuálne prenosné infekcie
(odborný garant. MUDr. Botek)
2. Varia (odborný garant MUDr. Hanzen)

Prowádzkove dni

- termín konania: 25. – 26. október 2012, Komárno
- organizačný výbor: doc. Peťko - predseda, doc. Ondriska, doc. Nikš, MUDr. Petrányiová, MUDr. Czirfussová, MUDr. Hanzen
- odborné témy: 1. Oportúnne parazitózy
2. Vektormi prenášané nákazy
3. Aktuálne otázky klinickej mikrobiológie

Návrh na udelenie Prowádzkovej medaily za SSKM SLS bude pripravený korešpondenčne do najbližšieho zasadnutia výboru.

Uznesenie 08-11-11: Vedecká sekretárka zašle členom výboru podklady pre prípravu návrhu na udelenie Prowádzkovej medaily.

Termín: december 2011

Zápisnica z výboru SKM

9. Rôzne:

Predseda spoločnosti predložil na schválenie prihlášku Mgr. B. Andrasyovej-Bugárovej za člena SSKM SLS, ktorú výbor schválil.

Výbor delegoval doc. Nikša na Volebný zjazd delgátov SLS. Ako náhradníčka bola delegovaná doc. Bazovská.

Výbor diskutoval k problematike špecializačnej náplne postgraduálneho študijného odboru „Laboratórne a diagnostické metódy v klinickej mikrobiológii“.

Uznesenie 09-11-11: Výbor poveruje doc. Majtána a doc. Stanekovú vypracovať a podať na MZ SR návrh na skrátenie dĺžky predpísanej klinickej praxe v študijnom odbore „Laboratórne a diagnostické metódy v klinickej mikrobiológii“ z 12 mesiacov na 3 mesiace.

Termín: 30.11.2011

Uznesenie 10-11-11: Výbor poveruje doc. Stanekovú zosumarizovať aktuálny stav a obsahovú náplň študijných programov na Prírodovedeckých fakultách s ohľadom na upresnenie podmienok pre zaraďovanie absolventov PF do postgraduálneho špecializačného štúdia v odbore „Laboratórne a diagnostické metódy v klinickej mikrobiológii“ (SZU). Uvedený materiál zašle doc. Staneková vedeckému sekretárovi spoločnosti na posúdenie vo výbore pred jeho ďalším zasadnutím.

Termín: 01.03.2012

Najbližšie zasadnutie výboru sa uskutoční počas konferencie v Dudinciach v marci 2012.

V Bratislave, 11. 11. 2011

Zapísala:

MUDr. Anna Purgelová
ved. sekretár SSKM SLS

doc. MUDr. Milan Nikš, CSc.
predseda SSKM SLS

Overil: MUDr. Rudolf Botek