

3 HUBY

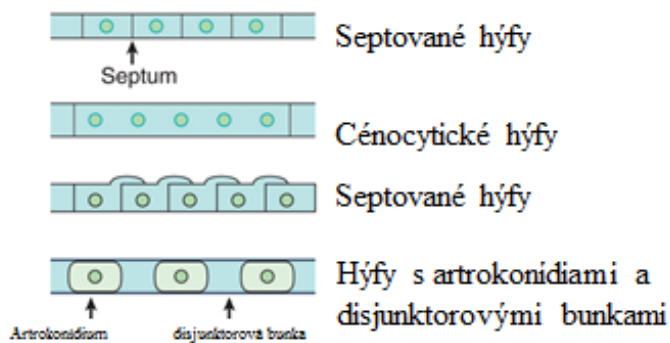
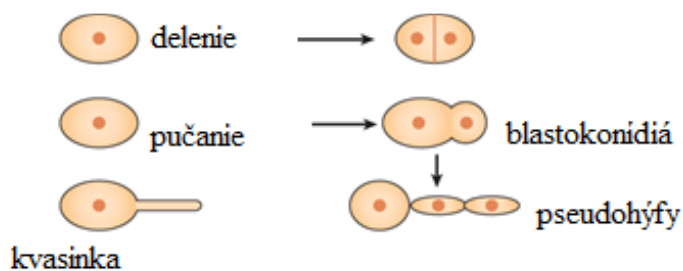
V tejto kapitole sú stručne opísané základné charakteristiky, morfológia, patogénny potenciál a zjednodušená taxonómia mikroskopických húb, ktoré vyvolávajú infekcie u ľudí.

Charakteristika

Huby predstavujú rôznorodú skupinu eukaryotických mikroorganizmov. Ich bunková membrána obsahuje ergosterol, čo poskytuje možnosť pre selektívny zásah antimykotikami. Väčšinou sú podmienene patogénne a len malá skupina je primárne patogénnych. Huby obvykle pri raste produkujú enzýmy a rozkladajú tkanivá. Huby rastú v dvoch fázach – vegetatívnej a reprodukčnej. Vo vegetatívnej fáze (rast, zväčšovanie) sú bunky haploidné. Obvykle rastú ako plesne s hýfami (mycélium) alebo ako jednobunkové kvasinky.

Kvasinky sú jednobunkové, reproduktujú sa asexuálne tvorbou blastokonídií (pučanie), alebo delením. Dcérske bunky sa môžu predlžovať a vytvárať pseudohýfy.

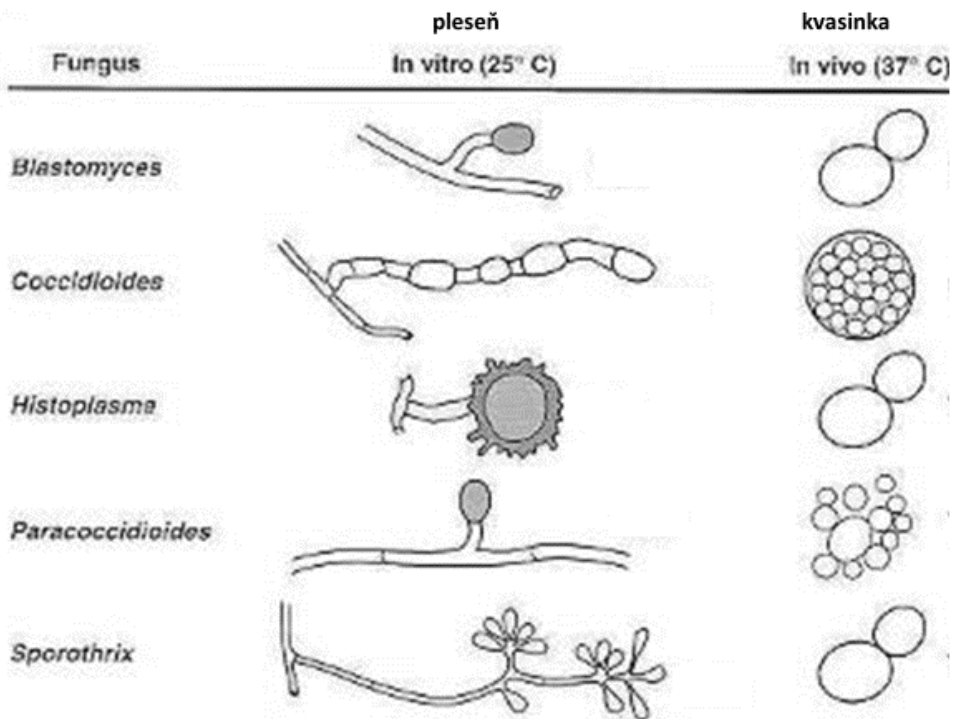
Plesne sú vláknité, mycéliové huby, zložené z vetvených vlákien (hýfy), ktoré sa predlžujú na koncoch a môžu byť mnohoadrové, cénocytické, alebo septované. Sústava hýf sa nazýva mycélium. Mycélium vnorené do kultivačného média sa nazýva **vegetatívne**, mycélium vyčnievajúce nad povrch sa označuje ako **vzdušné**, uvoľňujúce špecializované štruktúry **konídiá** (asexuálne rozmnožovanie, diseminácia, identifikácia). Niektoré huby môžu meniť morfológiu podľa teploty - tzv. teplotný dimorfizmus.



pleseň

Obr. 208. Morfológia húb.

Dimorfne huby sa pri teplote 37°C vyskytujú ako kvasinky, pri teplote 22°C ako plesne. V reprodukčnej fáze môžu bunky podstúpiť asexuálne alebo sexuálne delenie. Asexuálne delenie zahŕňa tvorbu spór, sexuálne vyžaduje špecifické bunkové štruktúry nevyhnutné na spojenie za účelom rozmnožovania. Tieto štruktúry sa využívajú na taxonomické určenie a klasifikáciu húb. Existuje veľké množstvo rôznych rodov a druhov húb, z ktorých niektoré spôsobujú ochorenia ľudí (patogénne huby), niektoré ochorenia imunokompromitovaných (oportúnne).



Obr. 209. Teplotný dimorfizmus húb

<http://www.njmoldinspection.com/mycoses/Spectrum%20of%20Mycoses.htm>

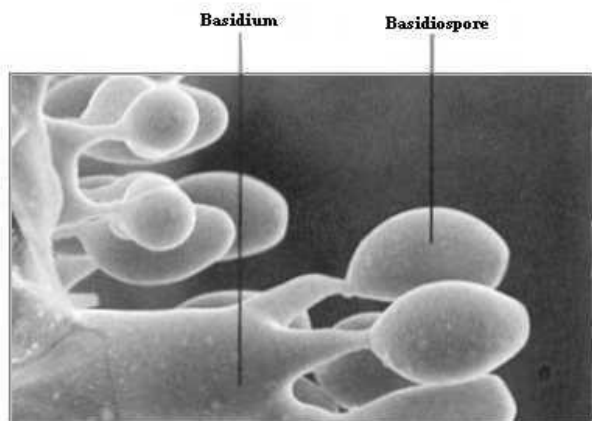
Rozdelenie húb

Mucormycetes (dávnejšie označované ako Zygomycetes)

Tvoria hrubé, riedko septované alebo céncytické hýfy, produkujú sexuálne zygospóry, asexuálne spóry (sporangiospóry) sú umiestnené v sporangióch, ktoré sa nachádzajú na sporangiofóroch. Patria sem rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*. Vyvolávajú tropické subkutánne mukormykózy.

Basidiomycetes

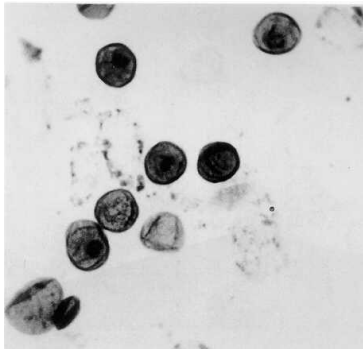
Vyskytujú sa ako vláknité formy, niektoré ako kvasinky. Pri sexuálnej reprodukcii sa vytvárajú bazidiospóry, ktoré sú prítomné na bazídiách. Do tejto skupiny patria rody *Cryptococcus*, *Malassezia* a *Trichosporon*.



Obr. 210. Basidiomycetes.

Pneumocystidiomycetes

Je to nová skupina, ktorá zahŕňa organizmy *Pneumocystis carinii*, v minulosti považované za protozoa. Tieto huby existujú vo vegetatívnej trofickej forme, rozmnožujú sa asexuálne binárnym delením.



Obr. 211. *Pneumocystis carinii*, farbenie podľa Gomoriho.

<http://www.pathobio.sdu.edu.cn/sdjsc/engparabook/ch085.htm>

Sacharomycetes

Sú charakteristické kvasinky, vo vegetatívnej fáze sa rozmnožujú pučaním alebo delením. Patrí sem rod *Candida*.



Obr. 212. Sacharomycetes.

<http://wegomountain.files.wordpress.com/2009/12/saccharomycetes-e985b5e6af8de88f8c.jpg>

Euascomycetes

Sexuálna reprodukcia vedie k vytváraniu vačkov (vačok – ascus), ktorý obsahuje askospóry, v laboratórnych podmienkach sa často vyskytujú ako septované plesne. Do tejto skupiny patria dermatofyty (*Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*), ďalej *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

Patogenéza a imunita

Mykotické infekcie sú často následkom predisponujúcich faktorov, vznik mykóz je ovplyvnený vekom, stresom, patologickými procesmi, ako sú rakovina, cukrovka, AIDS. Len dermatofyty a kandidózy sú prenosné interhumánne, ostatné sú prenesené z prostredia (rastliny, pôda, vzduch). Nešpecifická imunita je podstatná pre ochranu pred vznikom a pri zvládnutí mykotických infekcií. Špecifická imunita je dôležitá pri primárne patogénnych mykózach. Úloha humorálnej imunity je do určitej miery kontroverzná, pretože protilátky nie sú protektívne a vysoké koncentrácie môžu potlačovať bunkovú imunitu. Niektoré protilátky môžu byť protektívne (antitoxíny, opsoníny). Bunková imunita je dôležitejšia. Je sprostredkovaná T-bunkami. Imunita vyvoláva tri typy tkanivových reakcií. Môže byť prítomný chronický zápal (jazvenie, lymfocytóza), granulomatózny zápal (nahromadenie modifikovaných epiteliálnych buniek, lymfocytov) alebo vznikajú akútne hnisavé zápaly

(vaskulárna kongescia, exsudácia, akumulácia polymorfonukleárných leukocytov). Typy postihnutia hubami delíme na:

- mykotoxikózy – intoxikácia mykotoxínmi, ktoré sú vytvorené metabolizmom húb
- chronické intoxikácie – dlhodobé pôsobenie toxínu (napr. aflatoxín), majú vzťah ku karcinogéneze
- alergie – dlhodobé malé dávky vyvolajú hypersenzitívnu reakciu
- zápalová reakcia – imunopatologické následky obrannej reakcie hostiteľského organizmu

Mykózy sú choroby človeka alebo zvierat spôsobené (mikroskopickými) hubami. Z klinického hľadiska sú mykózy klasifikované podľa tkanív, ktoré postihujú:

- povrchové (superficiálne) – postihnutá je povrchová vrstva kože a vlasov
- kožné – postihujú hlbšie vrstvy epidermis a vlasov
- podkožné, podpovrchové – dermis, podkožné tkanivá, svaly
- systémové (endemické) - (obvykle v pľúcach)
- oportúnne

Tabuľka 53. Rozdelenie mykóz.

Povrchové mykózy	Kožné a podkožné mykózy	Endemické mykózy	Oportunistické mykózy
Čierna piedra <i>Piedraia hortae</i> Tinea nigra <i>Hortae werneckii</i> Pityriasis versicolor <i>Malassezia furfur</i> Biela piedra <i>Trichosporon</i> spp.	Dermatofytózy <i>Microsporum</i> spp. <i>Trichophyton</i> spp. <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Tinea unguium</i> <i>Trichophyton</i> spp. <i>E. floccosum</i> Onychomykózy <i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>Geotrichum</i> spp. Keratinózy <i>Fusarium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp. Chromoblastomykózy <i>Fonsecaea</i> spp. <i>Phialophora</i> spp.	Blastomykóza <i>Blastomyces dermatitidis</i> Histoplazmóza <i>Histoplasma capsulatum</i> Coccidioidomykóza <i>Coccidioides immitis/posadasii</i> Paracoccidioidomykóza <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Aspergilóza <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. terreus</i> Kandidóza <i>Candida albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. tropicalis</i> Cryptococcosis <i>Cryptococcus neoformans</i> Trichosporonóza <i>Trichosporon</i> spp. Mucormykóza <i>Rhizopus</i> spp. <i>Mucor</i> spp. Pneumocystóza <i>Pneumocystis jirovecii</i>

3.1 Laboratórna diagnostika mykóz

Priama mikroskopická analýza biologických vzoriek (primárne sterilných materiálov: krv, likvor, operačný materiál, bioptická vzorka, punktát, dialyzát) je základným a najrýchlejším krokom pre rýchlu diagnostiku povrchových aj systémových mykóz. Odoberatý materiál sa spracuje pridaním 10% KOH, aby sa rozpustil keratín. Kultivácia na Sabouraudovom agare je obvykle úspešná, identifikácia však môže byť náročná. Pri raste vo forme kvasiniek je možná mikroskopia, detekcia germinálnych tubulov (germ test – pučanie kvasiniek pri inkubácii v čerstvom sére), je možné použiť aj biochemickú identifikáciu (auxogram, zymogram). Plesňové formy je možné identifikovať mikroskopicky počas kultivácie v bločkoch ryžového agaru. Niektoré plesne je možné identifikovať na základe fluorescencie pri 365 nm UV svetle. Podľa morfológie prítomných elementov, štruktúr húb možno orientačne určiť skupinu, prípadne rod pravdepodobného pôvodcu choroby. Veľkou výhodou je rýchlosť mikroskopickej diagnostiky, výsledky sú k dispozícii do niekoľkých hodín od doručenia vzorky do laboratória, nevýhodou je však relatívne malá senzitivita, nižšia ako pri kultivácii, čo znamená, že negatívne mikroskopické

vyšetrenie biologickej vzorky môže pri pozitívnom náleze potvrdiť ale pri negatívnom náleze nevylúči možnú infekciu mikroskopickými hubami.

Kultivácia biologických vzoriek umožňuje izoláciu pôvodcu ochorenia a po jeho získaní presnú identifikáciu a určenie citlivosti na antimykotiká. Nevýhodou tejto diagnostiky je, že mikroskopické huby rastú v porovnaní s baktériami pomalšie (kvasinky 48-72 hodín, vlákňité huby 72 a viac hodín). Preto ich prítomnosť dokážeme v priebehu niekoľkých dní. Pri niektorých vlákňitých hubách aj až po niekoľkých týždňoch. Pri kultivačnej analýze je potrebné upozorniť i na prediktívnu hodnotu dôkazu patogénnej mikroskopickej huby. Prítomnosť kvasiniek alebo vlákňitých húb v primárne sterilných materiáloch, ako sú hemokultúry, likvor a bioptické vzorky, má veľmi vysokú prediktívnu hodnotu. Pozitívne nálezy kvasiniek alebo vlákňitých húb z primárne nesterilných miest (bronchoalveolárna laváž, spútum, moč a pod.) majú podstatne nižšiu prediktívnu hodnotu a významovo závisia od toho, či ide o kvantitatívne signifikantný nález, čistú kultúru, opakovane potvrdený nález. Závisia aj od typu mykotického pôvodcu, charakteru analyzovaného materiálu, ako aj od stavu imunitného systému pacienta.

Nepriamy dôkaz protilátok a priamy dôkaz **antigénov** v krvnom sére:

- **manan** (kandidový antigén) a **antimanan** (kandidové protilátky proti mananu). Manan je glykoproteín steny kvasiniek, ktorý sa uvoľňuje do telesných tekutín, kde ho možno stanoviť. Súčasný dôkaz mananu a antimananu metódou EIA zlepšuje včasnosť, rýchlosť a citlivosť diagnostiky invazívnych kandidóz.

- **galaktomanan** (aspergilový antigén) a **antigalaktomanan** (aspergilové protilátka proti galaktomananu *Aspergillus fumigatus*). Galaktomanan je heteropolysacharid bunkovej steny húb, špecifický pre kmene aspergilov, ktorý sa tiež uvoľňuje do séra a telesných tekutín. Test sa prejavuje vysokou špecifitou.

- **1,3,-beta-D-glukan** je hlavný polysacharid bunkovej steny mikroskopických húb. Do okolia sa uvoľňuje len pri raste buniek. Označuje sa aj ako panfungálny marker, ktorý je detekovateľný pri invazívnej kandidóze, aspergilóze, ale aj pri infekciách vyvolaných inými hubami, napr. *Fusarium* spp., *Acremonium* spp., *Cryptococcus* spp. a iné.

Pri všetkých sérologických metódach je potrebné potvrdiť pozitívny nález opakovaným vyšetrením z dôvodu falošných pozitív. U niektorých systémových mykóz je možné identifikovať precipitačné protilátky imunodifúziou (histoplazmóza, coccidioido-mykóza). Hypersenzitívnu reakciu oneskoreného typu je možné testovať kožným intradermálnym testom.

Molekulárne biologické metódy sú zamerané na dôkaz nukleových kyselín patogénnych húb v klinickom materiáli. Najsľubnejším prístupom je kombinácia širokospektrálnej PCR (panfungálna PCR), keď je amplifikovaný (zmnožený) produkt spoločný takmer pre všetky patogénne huby s následnou špecifikáciou produktu pomocou restriktívnej endonukleázovej analýzy, sekvenácie alebo hybridizácie.

3.2 Liečba mykotických infekcií

Antimykotiká možno rozdeliť na nešpecifické a špecifické. Nešpecifické antimykotiká sú lokálne antimikróbne účinné látky, dezinficienciá (denaturujú bielkoviny, deštrujú bunkovú stenu mikrobov, menia pH). Špecifické antimykotikum pôsobí selektívne na huby, zasahuje jednu alebo viaceré štruktúry či metabolické procesy (napr. produkciu enzýmov, esenciálne zložky bunkovej membrány, bunkovej steny, proteosyntézu...).

Rozdelenie antímykotík

Základný mechanizmus účinku všetkých derivátov z jednej skupiny antímykotík je charakteristický a zhodný, rozdiely v aktivite jednotlivých derivátov závisia od jeho chemickej štruktúry a od závažnosti zmien, ktoré spôsobia v bunkách huby:

Grizeofulvín - inhibuje tvorbu deliaceho vretienka (t.j. mitózu v štádiu metafázy), používa sa najmä pri liečbe dermatofytóz.

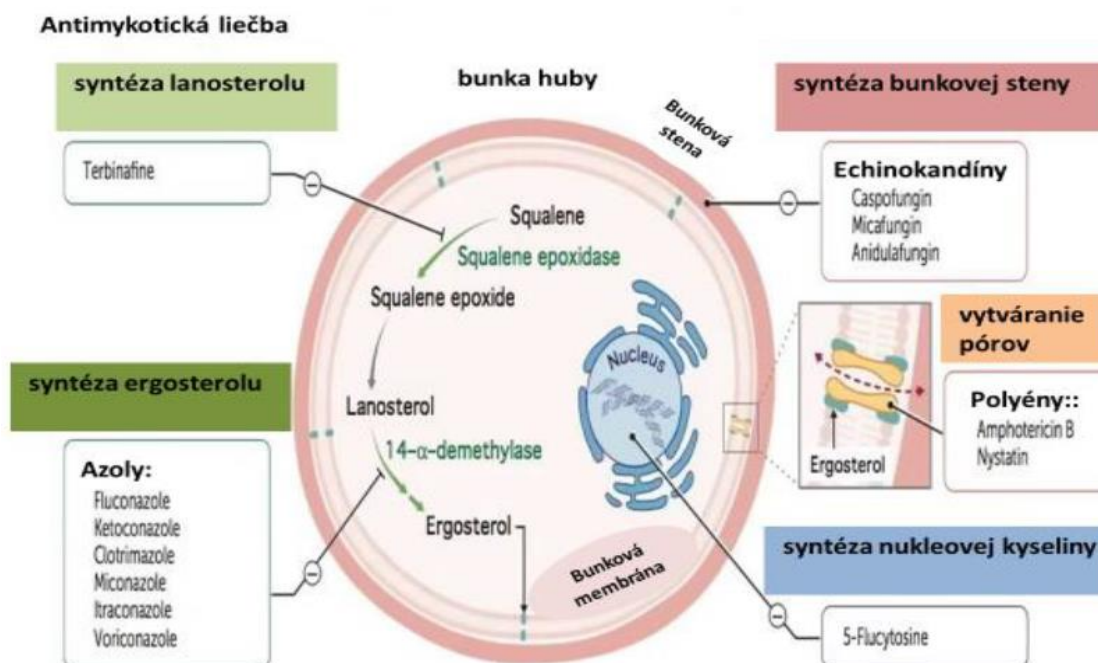
Polyénové antimykotiká – ireverzibilne sa viažu na steroly v bunkovej membráne húb za tvorby tzv. vodných pórov (štrbín). Cez ne unikajú z bunky K^+ , Mg^{2+} ióny a esenciálne zložky cytoplazmy, čo vedie k poškodeniu a smrti buniek citlivých húb. Polyény sa viažu na cholesterol, sú pre živočíchy toxické. Spektrum účinku je široké (kvasinky, dimorfné huby, vláknité huby - *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* a iné).

- amfotericín B – systémové, intravenózne antimykotikum, liečba invazívnych mykóz
- nystatín – pôsobí na kvasinky, niektoré vláknité non-dermatofyty, je aktívny aj proti trichomonádám.
- natamycín (pimaricín) – topické suspenzie sa používajú na liečbu orálnej kandidózy, mykóz oka (keratitídy, blefaritídy, konjunktivitídy), prínosových dutín.

Azoly (imidazoly, triazoly) – syntetické, obmedzenie syntézy ergosterolu, priama väzba na cytochróm P450. Spektrum účinku zahŕňa kvasinky, dermatofyty, endemické dimorfné huby a niektoré vláknité non-dermatofyty. Všetky imidazolové deriváty (okrem ketokonazolu) sú určené na lokálnu aplikáciu, majú dobrú účinnosť na dermatofyty a kvasinky:

- klotrimazol
- ekonazol, tiokonazol, fentikonazol - vaginálne tablety, na liečbu infekcií zmiešanej etiológie
- bifonazol - onychomykózy
- flutrimazol - dermatofytózy, kožné kandidózy, pityriasis versicolor
- oxikonazol - prvý intravenózne aplikovateľný imidazol na liečbu invazívnych mykóz, v súčasnosti len lokálne použitie
- ketokonazol - prvý perorálny imidazol

Medzi triazoly patrí terkonazol (topický), flukonazol (systémový), itraconazol (lipofilný systémový). Vorikonazol a posakonazol sú systémové triazoly 2. generácie, používajú sa na liečbu invazívnych mykóz, prípadne ťažkej orofaryngeálnej a ezofageálnej kandidózy.



Obr. 213. Mechanizmus účinku antimykotík.

<https://www.youtube.com/watch?v=BFQDWtWE0UY>

Alyamíny - lipofilné a keratofilné antifungálne preparáty. Nezávisle od cytochrómu P450 zasahujú do syntézy ergosterolu. Účinkujú na dermatofyty, dimorfné huby, na niektorých pôvodcov mycotómu.

- terbinafin - dermatofyty, onychomykózy, lokálne podávanie
- naftifin - lokálne podávanie

Hydroxypiridóny - syntetické, narúšajú integritu bunkovej membrány blokováním transportu makromolekulárných prekursorov, inhibujú proteosyntézu, sú účinné na dermatofyty, kvasinky
- ciklopirox - pri kandidózach, dermatofytózach, kandidových paronychách a onychomykózach, lokálne
- rilopirox - lokálne, dermatofytózy

Morfolíny – inhibujú enzýmy esenciálne pre stavbu bunkovej membrány húb.
- amorolfin –dermatofyty, kvasinky, lokálne

Benzylamíny

- butenaftín - derivát benzylamínu, mechanizmus účinku podobný ako pri alylamínoch, v SR nie je registrovaný

Tiokarbamáty – mechanizmus účinku ako pri alylamínoch Topické deriváty

- tolnaftát a tolciklát – lokálne, dermatofyty, niektoré kvasinky a vláknité huby

ZDROJE:

Kompaníková Jana, Elena Nováková, Martina Neuschlová: Mikrobiológia nielen pre medikov - 2. upravené a doplnené vydanie. Multimediálna podpora výučby klinických a zdravotníckych disciplín :: Portál Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského [online] , [cit. 01. 05. 2020]. Dostupný z WWW: <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=398>. ISSN 1337-7396.