

# Lékařská mykologie

Iva Kocmanová

# Prolog

...houbové infekce kůže a kožních adnex jsou **čtvrtou** nejčastější lidskou zdravotní komplikací (po zubních kazech, vysokém tlaku a migréně)...

vaginální kandidóza cca 75 mil.

chronické aspergilózy cca 6 mil.

kryptokoková meningitida cca 1 mil.

pneumocystová pneumonie cca 400 tis.

invazivní kandidóza cca 400 tis.

invazivní aspergilóza cca 200 tis.

/za rok

zdroj: WHO

# Úvod

## Mykologie

nauka o houbách (řec. *mykes*, lat. *fungi*)

Houby jsou organismy **eukaryotní** (pravé jádro; mitochondrie),  
**jednobuněčné i vícebuněčné**,  
**heterotrofní**,  
**buněčná stěna složená z polysacharidů** (chitin; glukan;  
galaktomanan; manan etc.)

# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)
3. Léčba mykóz - antimykotika
4. Vyšetřovací metody v mykologii
5. Nejčastější mykózy

# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)
3. Léčba mykóz - antimykotika
4. Vyšetřovací metody v mykologii
5. Nejčastější mykózy

# 1. Morfologie; základní pojmy

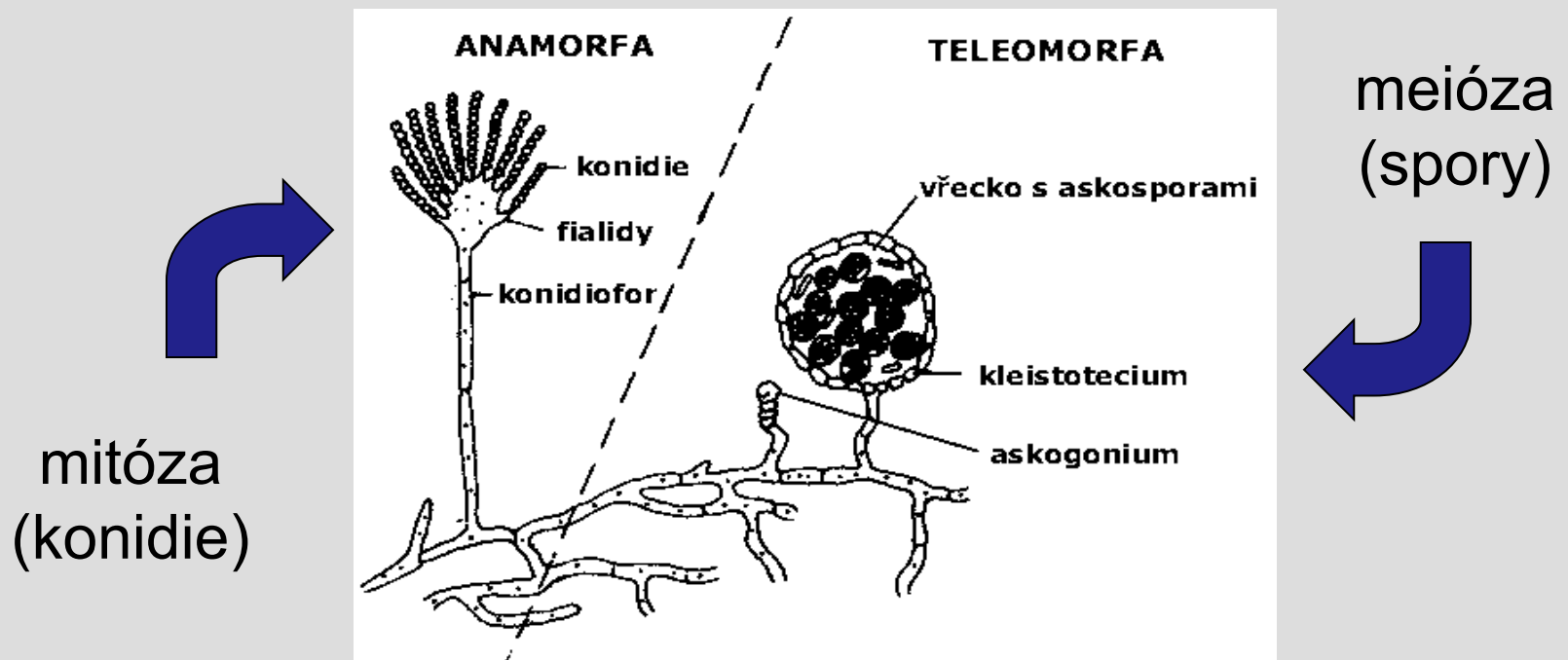
**Hyfa**: houbové tělo bez ohledu na diferenciaci

**Mycelium**: jen vegetativní část, žádný reprodukční orgán, zajišťuje výměnu látek a energie mezi houbou a prostředím

**Reprodukční struktury**: sporangiofory, konidiofory, stromata, plodnice, mikrokonidie, makrokonidie, blastokonidie etc.

# 1. Rozmnožování hub

anamorfa (nepohlavní stadium) + teleomorfa (pohlavní stadium)  
= holomorfa



# 1. Názvosloví hub

- složité, pořád se měnící (genetika + názorové střety systematiků 😊)
- většina medicínsky významných hub se vyskytuje jako **anamorfa** (nepohlavní stadium)

teleomorfa	anamorfa
<i>Eurotium, Emericella, Petromyces, Neosartoria</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Eupenicillium, Talaromyces</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Pseudoallescheria boydii</i>	<i>Scedosporium apiospermum</i>
<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Candida krusei</i>



# 1.

# Názvosloví hub

...ale – „one fungus – one name“

International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants  
(Melbourne Code) adopted by the Eighteenth  
International Botanical Congress Melbourne,  
Australia, July 2011.

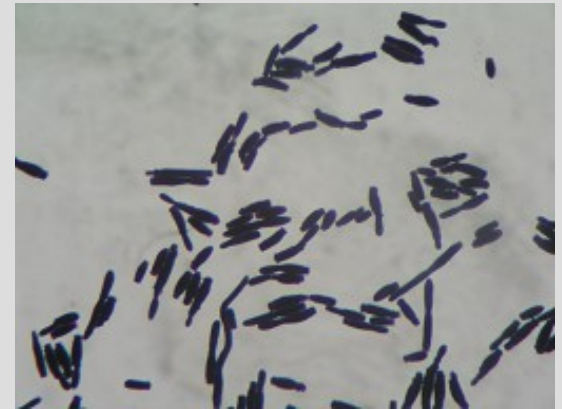
<b>teleomorfa</b>	<b>anamorfa</b>
<i>Eurotium, Emericella, Petromyces, Neosartoria</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Eupenicillium, Talaromyces</i>	<i>Penicillium</i>

# 1. ...mezitím v klinické praxi

## a) kvasinky a jim podobné

- mikroskopicky kulaté nebo protáhlé buňky, 3-6 x 3-15  $\mu\text{m}$
- obvykle nepohlavní rozmnožování pučením a dělením
- na pevných půdách kolonie podobné bakteriálním

rody *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus* etc.



## b) vláknité houby (plísně)

- složeny ze soustavy hyf (mycelium) jednobuněčné/mnohobuněčné
- obvykle nepohlavní rozmnožování rozrůstáním hyf, nebo vegetativní „spory“
- na pevných půdách vláknité povlaky

rody *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Trichophyton*, *Microsporum* etc.

# 1. ...mezitím v klinické praxi

## c) dimorfní houby

- růst ve dvou formách (kvasinkové a vláknité) v závislosti na teplotě
- importované (endemické) mykózy (Severní i Jižní Amerika, Dálný Východ)

rody *Histoplasma*, *Blastomyces* etc.

## d) ty, co se nikam nevešly

- přeřazeny z prvoků díky studiu genomu
- nekultivovatelné (nebo obtížně)

*Pneumocystis jiroveci*, *Microsporidium* spp. etc.



# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
- 2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)**
3. Léčba mykóz - antimykotika
4. Vyšetřovací metody v mykologii
5. Nejčastější mykózy

# 2. Patogeneze mykóz

Houby až na výjimky (dermatofyta, endemické mykózy) nejsou primárně patogenní (mohou kolonizovat kůži i GIT...),  
ale jsou

**oportunními patogeny**



ke vzniku onemocnění napomáhá přítomnost nějaké predispozice hostitele,  
tj.

**rizikové faktory**

(např. onkologická onemocnění a jejich léčba, léčba kortikoidy, diabetes, pobyt na JIP, nezralí novorozenci – ale i léčba antibiotiky, vlhká zapářka apod)

# 2. Dělení mykóz

## Celkové, neboli invazivní infekce

sepsy (nejč.kandidové), pneumonie (nejč.aspergilové), diseminované mykózy

## Lokální (povrchové, slizniční) infekce

infekce kůže, kožních adnex a sliznic (dermatomykózy a kandidózy)

## Mykotoxikózy

obvykle alimentární otravy způsobené toxiny hub (*Claviceps purpurea*, *Aspergillus* etc.), které kontaminují potravu (ergotismus-námel, aflatoxiny..)

## Alergická onemocnění

přecitlivělost na části hub (konidie, části hyf..)

# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)
- 3. Léčba mykóz - antimykotika**
4. Vyšetřovací metody v mykologii
5. Nejčastější mykózy

# 3. Antimykotika dle chem. struktury

- **alyeny**

(amfotericin a jeho lipidové formy, nystatin)

- **azoly**

(flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, clotrimazol, isavukonazol...)

- **echinokandiny**

(caspofungin, micafungin, anidulafungin...)

- **antimetaboly**

(flucytosin)

- **alylaminy**

(terbinafin)

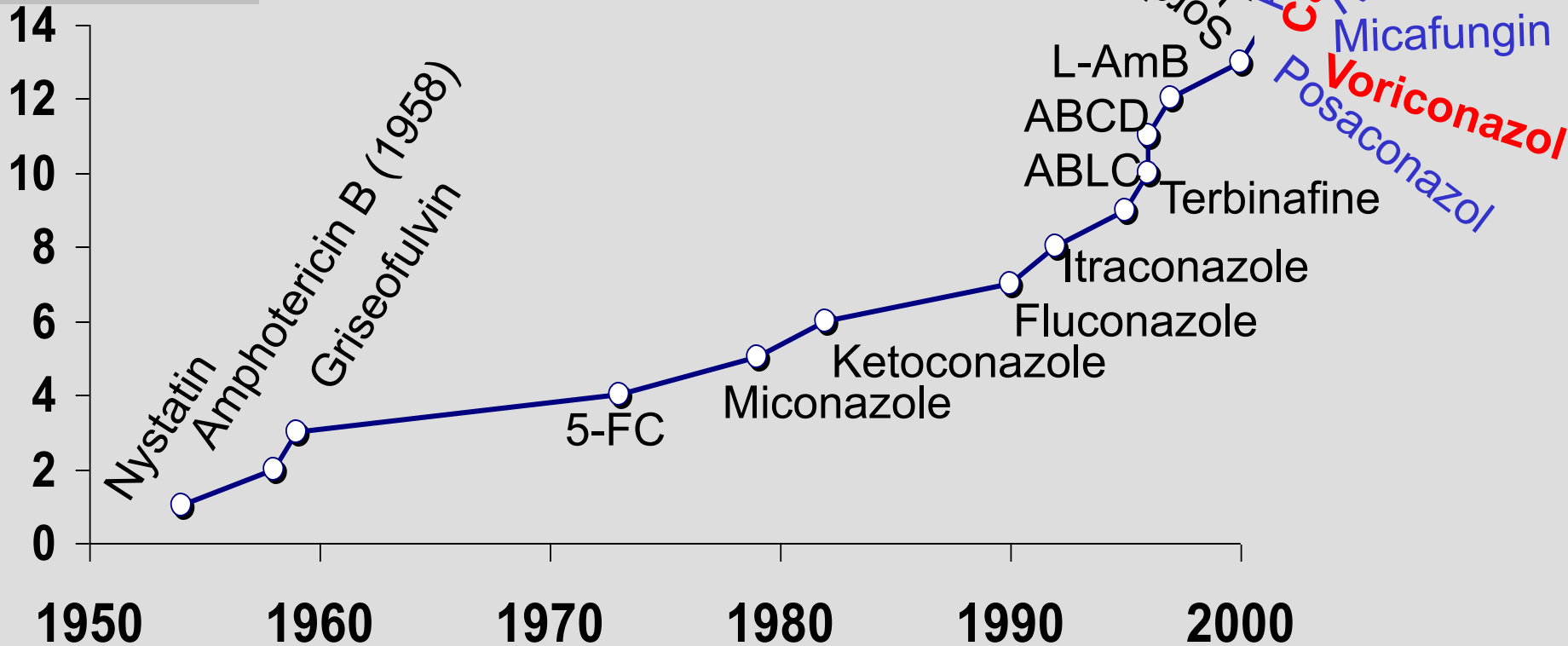
- **ostatní**

(k.undecylová, ciclopiroxolamin)



# Medical Mycology: The Last 50 Years

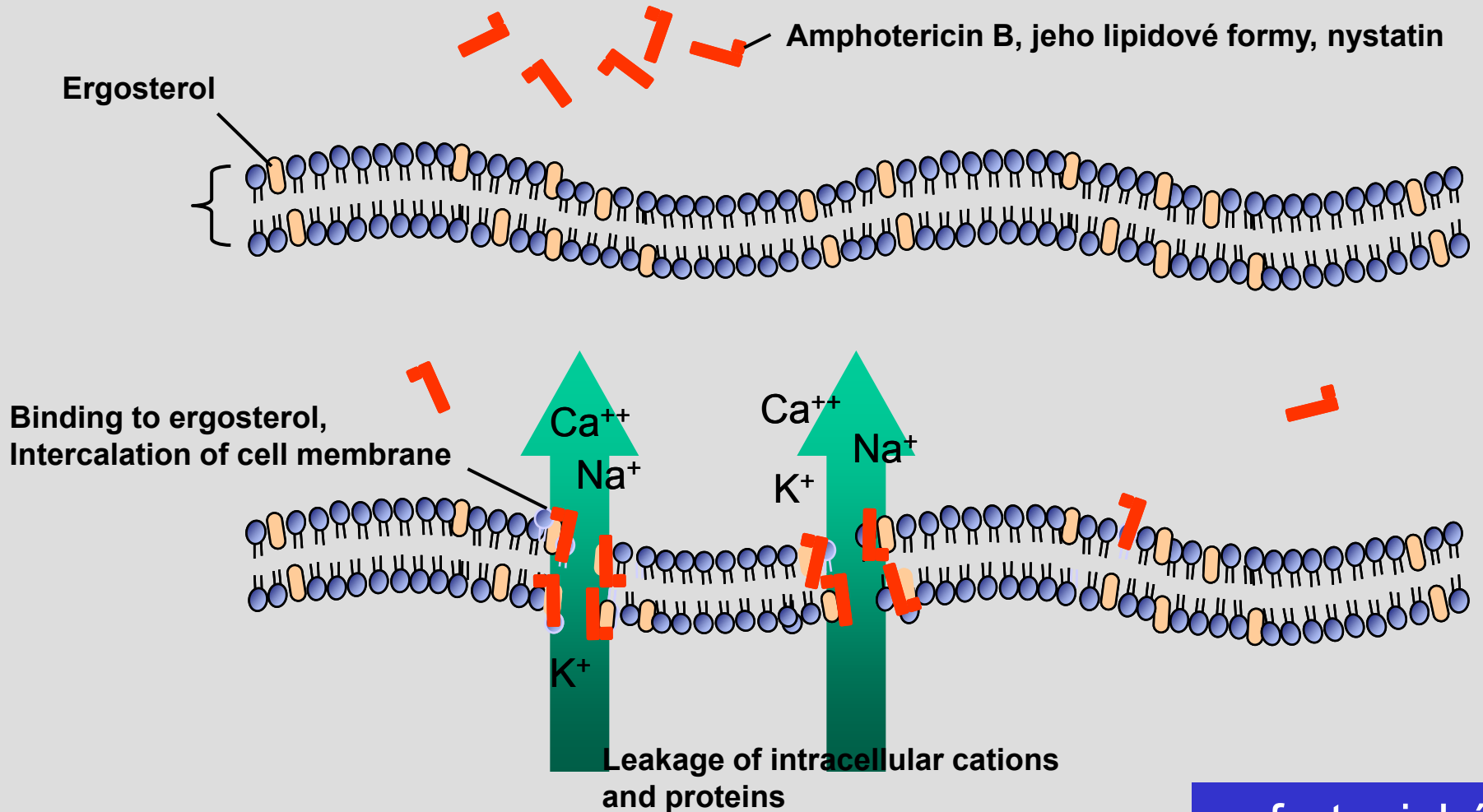
# of drugs



# 3.

# Alyeny

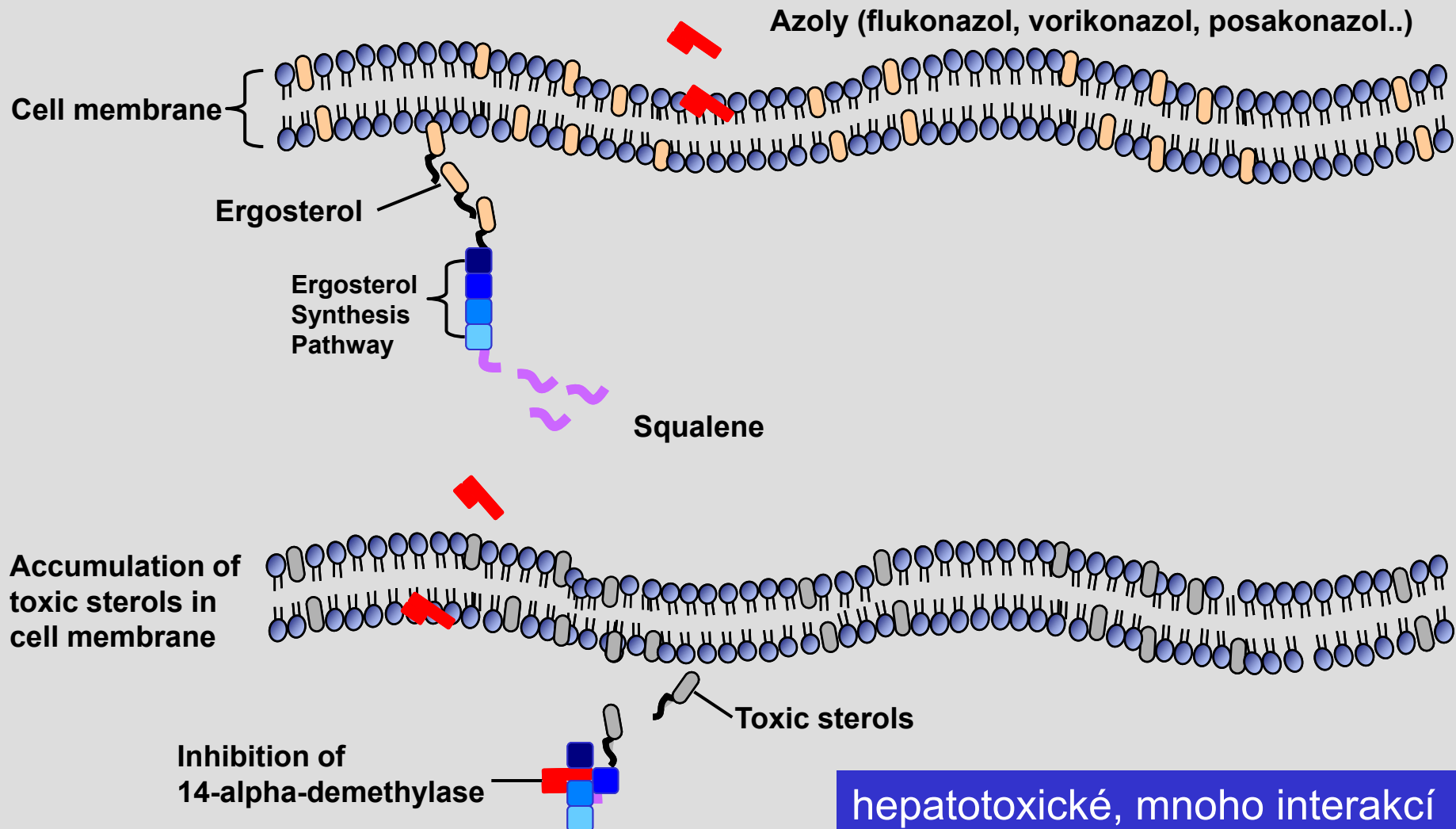
**Princip** – změna permeability buněčné membrány



nefrotoxické

# 3. Azoly

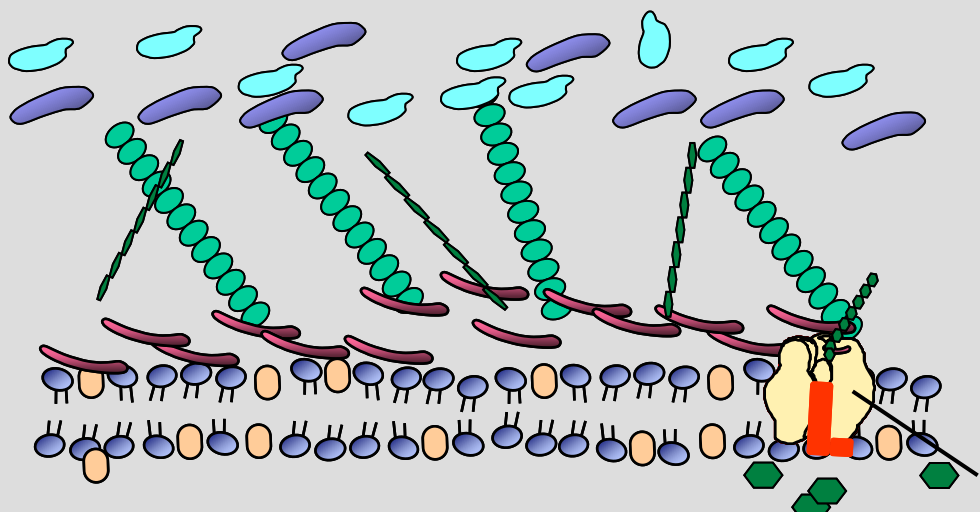
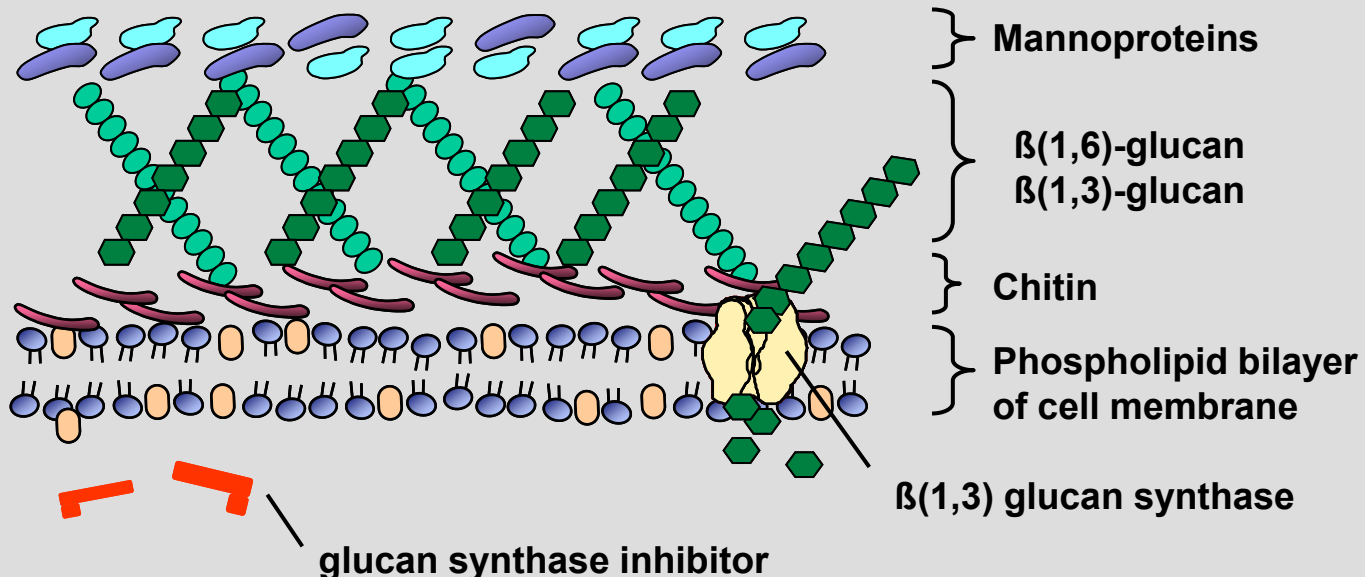
**Princip** – inhibice syntézy ergosterolu (cytochrom P450)



hepatotoxické, mnoho interakcí

# 3. Echinokandiny

## Princip – inhibice syntézy glukanu



takřka bez neřádoucích účinků, drahé

Inhibition of  $\beta(1,3)$  glucan synthase

# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)
3. Léčba mykóz - antimykotika
- 4. Vyšetřovací metody v mykologii**
5. Nejčastější mykózy

# 4. Vyšetřovací metody - možnosti

- mikroskopie
- kultivační metody
- imunologické metody (stanovení antigenu nebo protilátek)
- molekulárně-biologické metody

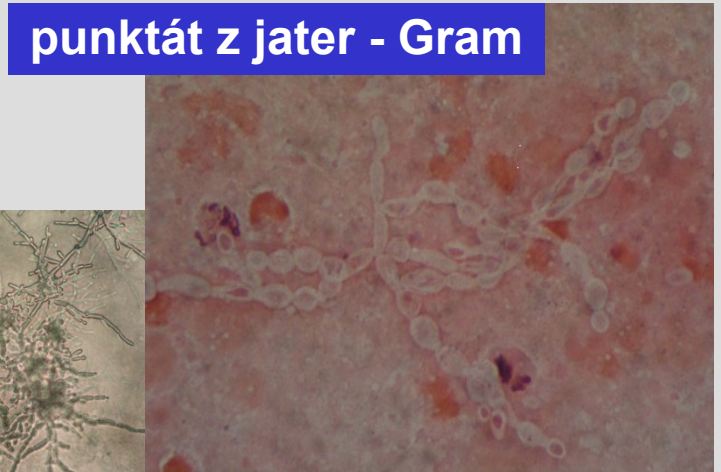
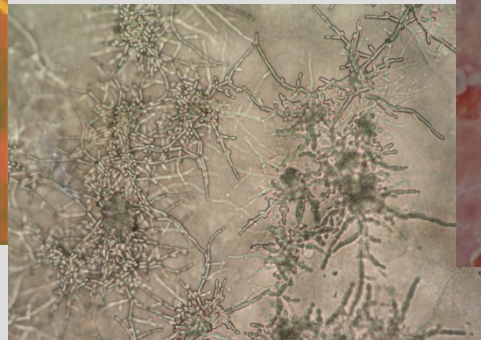
# 4. Mikroskopie

## a) nativní preparát

- kultury
- nespecifická barvení (Lugol),
- specifická barvení (Mycolnk, Rylux – vážou se na chitin)

## b) fixovaný preparát

- obecná barvení (Gram)
- speciální barvení (imunofluorescence, Groccot, Gram-Weigert ...)



Calcofluor

rýžový agar (kultura)

punktát z jater - Gram

Myco Ink

# 4. Mikroskopie - shrnutí

## **Výhody:**

- rychlost (minuty)
- relativně nízká cena vyšetření
- specifická

riziko kontaminace není velké, ale vyšetření může být pozitivní i v případech, kdy houba již není životaschopná (např. u dermatomykóz)

## **Nevýhody:**

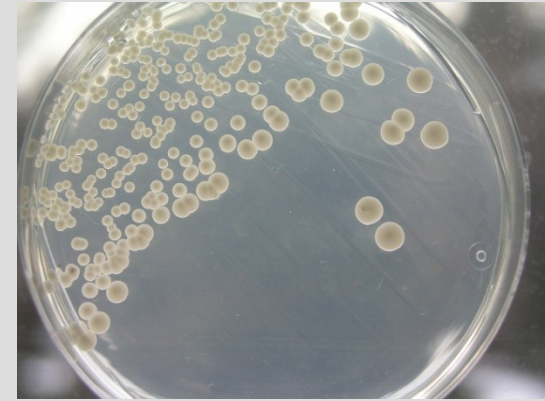
- malá senzitivita, pozitivní obvykle až pozdějších stádiích onemocnění
- v materiálu lze většinou jen orientačně zařadit patogena do rodu nebo skupiny (septované x neseptované)



# 4. Kultivační metody

č.1:

**Sabouraudův agar** s glukózou s antibiotiky



další speciální média...

- chromogenní agary, rýžový agar (dourčení kvasinek)
- RPMI 1640, MH s glukózou a metylenovou modří (testování citlivosti)
- Czapek Dox (dourčení aspergilů)

atd.

**Kultivační teplota**

37+/-1°C

30+/-1°C

25+/-1°C



# 4. Kultivační metody

....umožňují zařadit kultivát do rodu a druhu

(pomocí makro a mikromorfologie na různých agarech; kvašení či utilizace cukrů, nebo jiných látek; proteomiky, PCR)

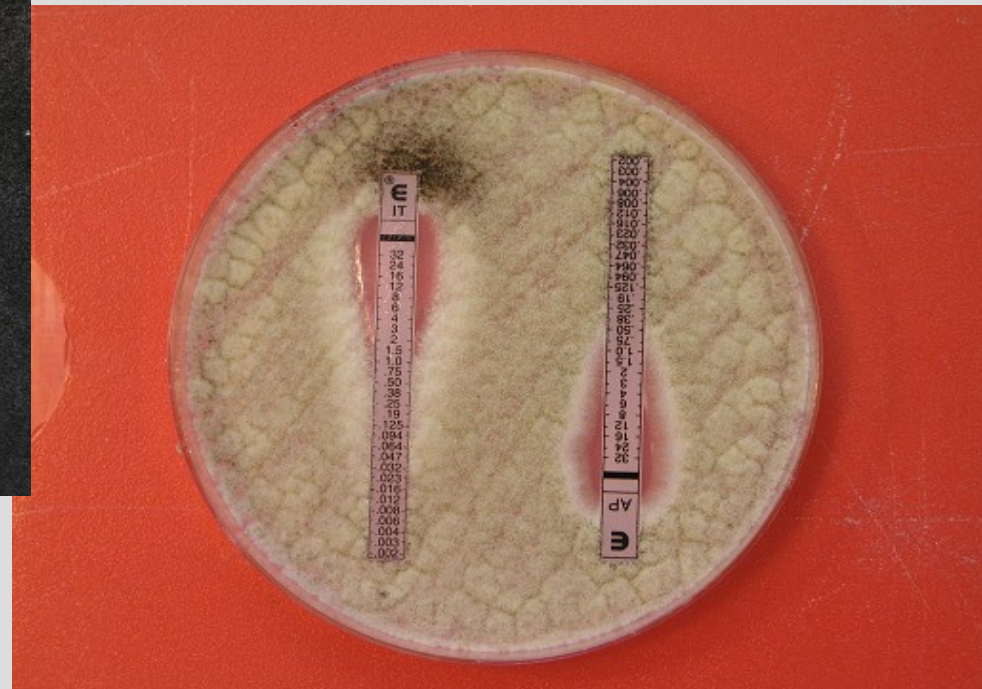
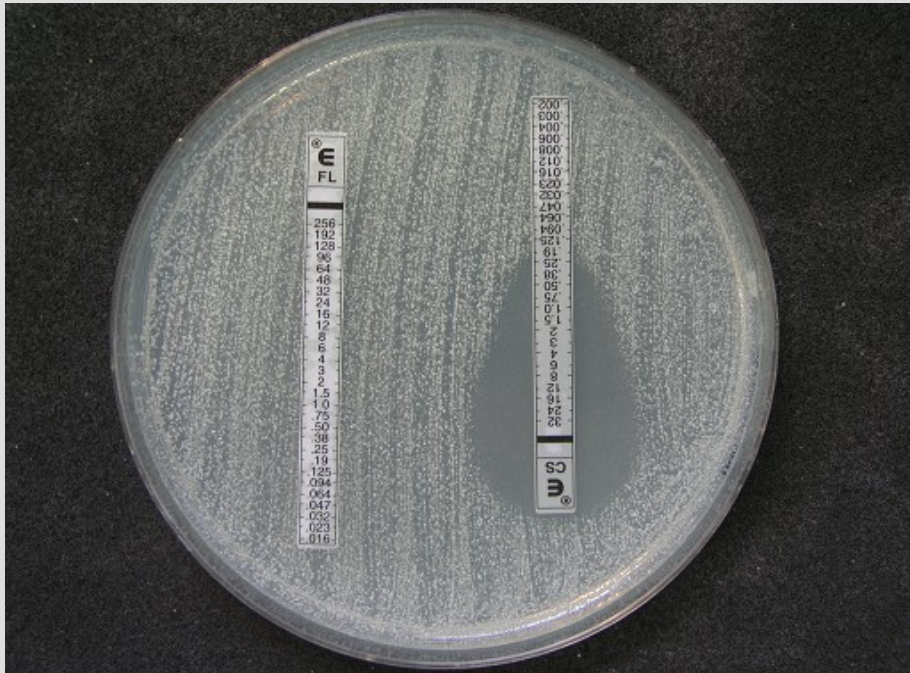
....otestovat jeho citlivost k antimykotikům

(stále není zcela prokázáný vztah mezi výsledky in vitro a in vivo – vliv pomalého růstu hub, stavba jejich buňky etc.)

- standardní metodiky – CLSI, EUCAST (pracné, drahé a rutinně nepoužívané)
- v rutinní praxi pomocné metodiky s různou shodou se standardními (E-TEST, Sensititre, NeoSensitabs...)
- nicméně problematická interpretace (chybí breakpointy; jen epidemiologické cutoff)

# E TEST :

stanovení MIC (minimální inhibiční koncentrace) pomocí  
plastikového proužku s gradientem antimykotika



# 4. Kultivace – shrnutí

## Výhody:

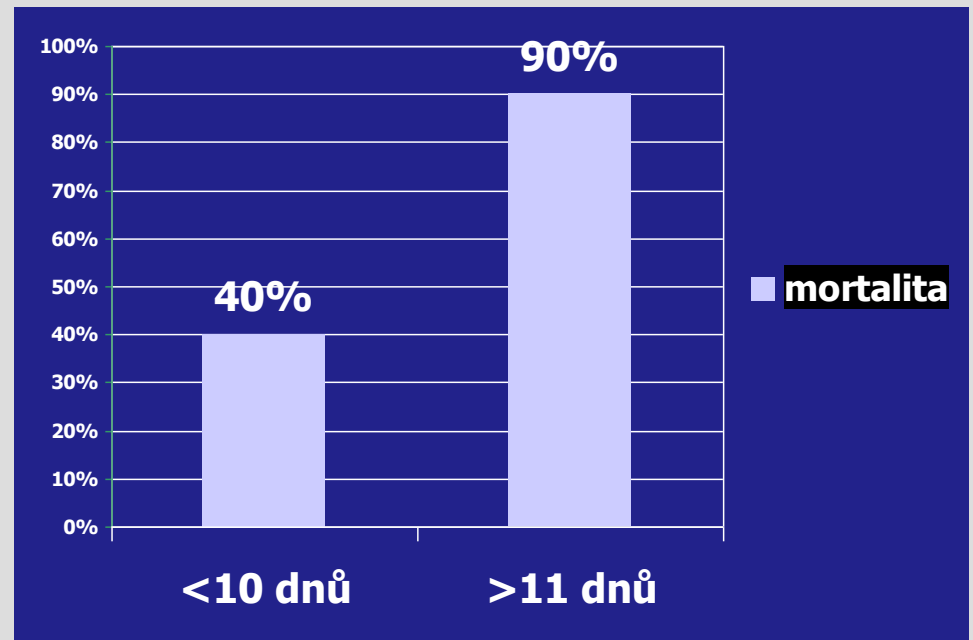
- zařazení do rodu a druhu, testování citlivosti
- specifická (z primárně sterilních materiálů)
- relativně levné

## Nevýhody:

- málo senzitivní (ale víc než mikroskopie)
- časově náročnější (dny až týdny)
- obtížná interpretace, zejména u primárně nesterilních materiálů  
(musíte se rozhodnout mezi kolonizací, kontaminací nebo infekcí)

...pro dobrou prognózu pacienta s invazivní mykózou je zcela zásadní časné zahájení účinné léčby → velký důraz je proto kladen na **časnou diagnostiku** (tj. imunologické a molekulárně-biologické metody)

mortalita IA & čas  
zahájení léčby



Von Eiff, Respiration, 1995

# 4. Imunologické metody

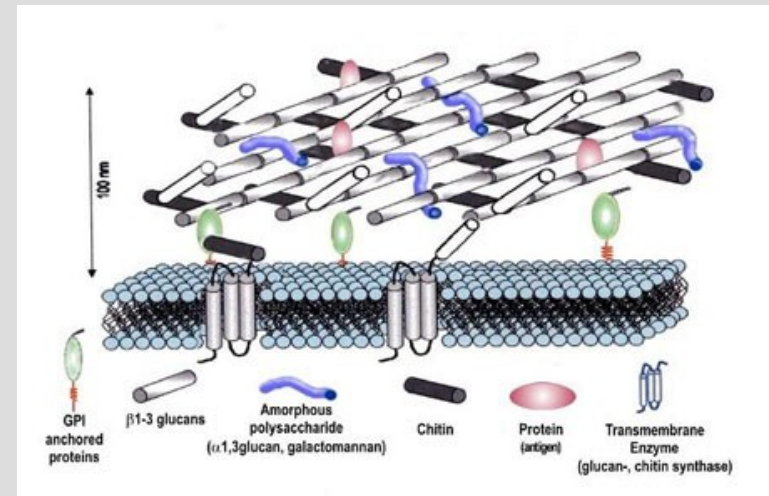
## a) antigeny buněčné stěny hub

- invazivní aspergilóza (galaktomanan)
- invazivní kandidóza (manan)
- invazivní kryptokokóza (glukuronoxylomnan)
- invazivní mykóza (glukan)

## b) protilátky

- endemické mykózy  
(histoplazmóza, kokcidioidomykóza..)
- alergické stavy
- invazivní mykózy?

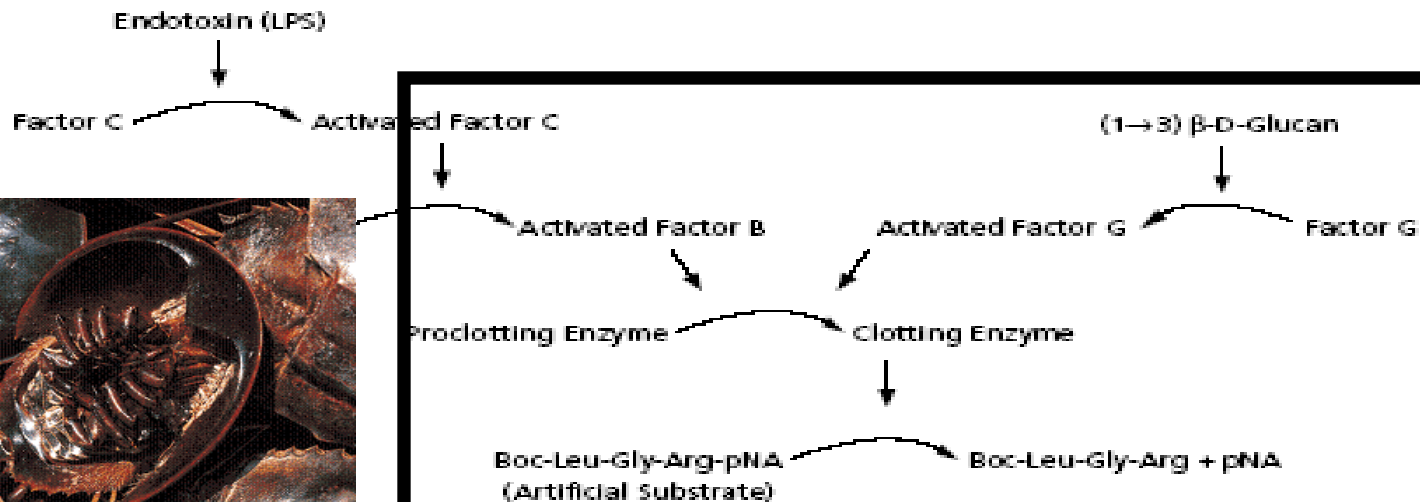
(pro dg invazivních mykóz není stanovení protilátek obvykle přínosné (obecná promořenost), navíc nejvíce ohrožení neutropeničtí pacienti protilátky ani netvoří)



# 4. Imunologické metody

- latexová aglutinace
- ELISA
- G-test (limulus test)
- LFA, LFD (imunochromatografie)
- komplement-fixační reakce, hemaglutinace, imunodifuze v gelu..

Figure 1  
*Limulus Amebocyte Lysate Pathway*



# 4. Imunologické metody

## **Výhody:**

- rychlé (časná diagnóza)
- senzitivní a specifické
- možnost monitorovat léčebnou odpověď (v případě některých antigenů)
- vysoká negativní prediktivní hodnota!  
(tj. negativní výsledek s vysokou pravděpodobností znamená nepřítomnost choroby)

## **Nevýhody:**

- falešné positivity
- nejednoznačná interpretace (u protilátek)
- cena



# 4. Molekulárně - biologické metody

## **Výhody:**

- rychlé (časná diagnóza)
- velmi senzitivní  
(mohou detekovat jen několik kopií genu v reakci a dokonce méně než jeden genom)
- variabilní  
(lze využít jak konzervované, tak variabilní úseky genomu a navrhnout panfungální nebo specifickou PCR pro určité rody nebo druhy)
- kvantifikací lze odlišit kolonizaci od aktivní infekce

## **Nevýhody:**

- kontaminace, standardizace  
(při odběru, izolaci DNA, přípravě PCR reakce)
- nízká specifická  
(zkřížené reakce s jinými příbuznými druhy nebo dokonce lidskou DNA)

# Osnova přednášky

1. Morfologie, rozmnožování hub, názvosloví
2. Patogeneze nemocí způsobených houbami (mykózy)
3. Léčba mykóz - antimykotika
4. Vyšetřovací metody v mykologii
5. Nejčastější mykózy

# Stanovení diagnózy je komplexní...

## ✓ rizikové faktory

(onkologická onemocnění a jejich léčba, léčba kortikoidy, diabetes, pobyt na JIP, nezralí novorozenci – ale i léčba antibiotiky, vlhká zapářka apod.)

## ✓ klinické příznaky

(pozitivní HRCT plic, CNS, horečka, vyrážka, soor apod.)

## ✓ mikrobiologické výsledky

(kultivace a mikroskopie, sérologie, PCR)



Pro dg. invazivní infekce platí tzv. EORTC/MSG kritéria (infekce prokázaná, pravděpodobná a možná)

De Pauw, CID 2008, Donnelly, CID 2019

# Epidemiologie – ČR

## (lokální i invazivní infekce)

Infection	Number of infections per underlying disorder per year					Total burden	Rate /100 000
	None	HM/AIDS	Respir.	Cancer/ Tx	ICU		
Oral candidiasis	? 773		7558	?	?	8331	79
Oesophageal candidiasis	– 210		?	?	–	210	2.0
Candidaemia	–	–	–	368	153	526	5.0
Candida peritonitis	–	–	–	–	79	79	0.75
Recurrent vaginal candidiasis (4 x/year)	152 840	–	–	–	–	152 840	3282 <sup>1</sup>
ABPA	–	–	4739 <sup>2</sup>	–	–	–	–
SAFS	–	–	6581 <sup>3</sup>	–	–	–	–
Hypersensitivity pneumonitis	–	–	1050	–	–	–	–
Chronic pulmonary aspergillosis	–	–	365 <sup>4</sup>	–	–	–	–
Invasive aspergillosis	–	–	–	91	20	–	–
Mucormycosis	–	–	–	22	–	22	0.2
Cryptococcal meningitis	–	1	–	–	–	–	<0.1
Pneumocystis pneumonia	–	12	?	60	–	72	0.7
Tinea capitis/corporis	960	–	–	–	–	960	9
Total burden estimated	153 800	996	20 293	541	443	176 073 <sup>5</sup>	–

Table 3 Summary of fungal burden in the Czech Republic.

1. kandidové infekce

2. aspergilové infekce

ABPA, allergic bronchopulmonary aspergillosis; SAFS, severe asthma with fungal sensitisation; Tx, transplantation; ICU, intensive care unit. The symbol “?” is used where significant number of cases with particular fungal infection are suspected but no data found to make our estimates.

<sup>1</sup>Rate per 100 000 adult women.

<sup>2</sup>Best estimate, range 1316–14 712.

<sup>3</sup>Best estimate, range 5641–16 814.

<sup>4</sup>This is the lower estimate, the high estimate could be as much as 604.

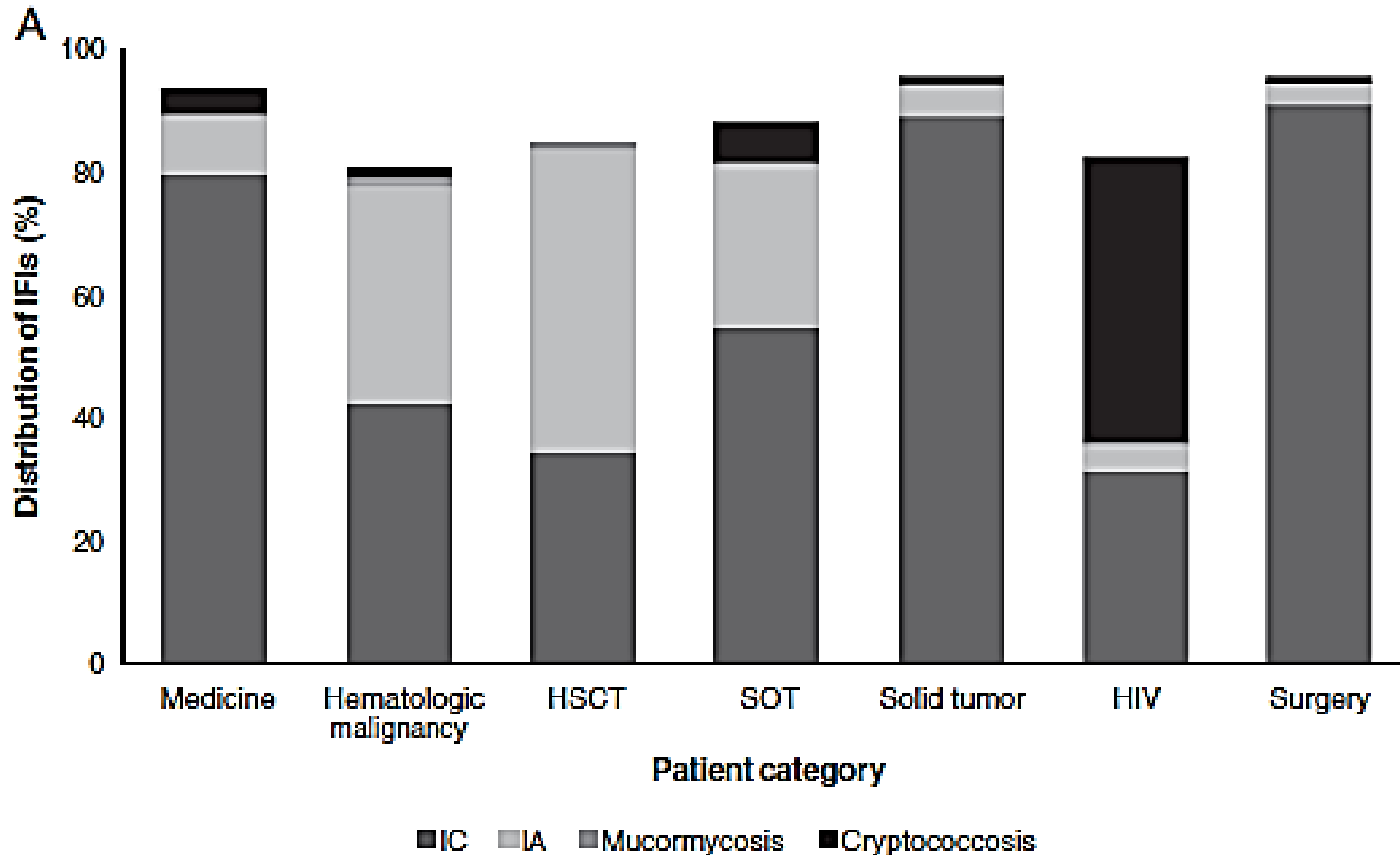
<sup>5</sup>Skin fungal infections affecting up to 1.5 million not included.

1,67% houbových infekcí/rok

(UZIS; publikované práce)

# Epidemiologie - invazivní mykózy

*N. Azie et al / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 73 (2012) 293-300*



7 526 IFD; S. Amerika; 2004-2008  
Azie 2012 – PATH - Prospektive antifungal therapy)

# 5.

# Kandidóza

## Původci:

***C. albicans*** (% v závislosti na populaci)

ostatní kandidy – ale i rod *Trichosporon*, *Saccharomyces* etc.

## Infekce:

- invazivní – sepse nebo diseminovaná infekce
- neinvazivní - onychomykóza, kožní kandidóza, vaginální kandidóza...

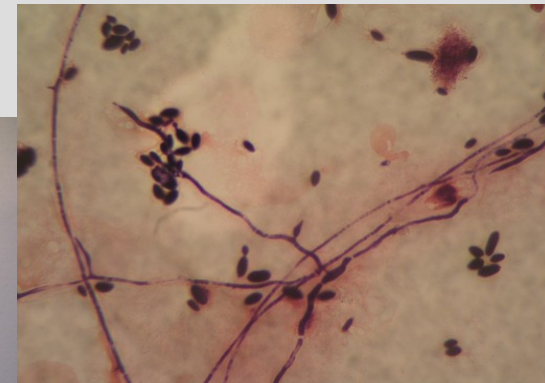
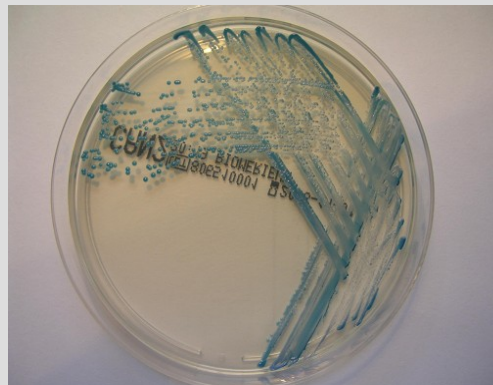
V malém množství patří kvasinky do běžné flóry kůže či GIT, z čehož plyne, že kandidózy jsou obvykle **endogenního** původu

## Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie

b) nekultivační

- glukon (BG)
- PCR



## 5.

## Invazivní kandidóza

...po koaguláza-negativním stafylokoku, zlatém stafylokoku a enterokoku jsou kvasinky třetím až čtvrtým nejčastějším původcem nozokomiální sepse...

lokality	1.	2.	citace
S. Amerika	<i>C. albicans</i> (45,6%)	<i>C. glabrata</i> (26,0%)	2010, Pfaller
Itálie	<i>C. albicans</i> (60,3%)	<i>C. parapsilosis</i> (16,7%)	2015, Bassetti
Brazílie	<i>C. albicans</i> (34,3%)	<i>C. parapsilosis</i> (24,1%)	2016, Doi
Česká republika	<i>C. albicans</i> (49,7%)	<i>C. glabrata</i> (15,3%)	2018, Kocmanová
Čína	<i>C. tropicalis</i> (28,6%)	<i>C. albicans</i> (23,3%)	2013, Chun-fang

**Původci:*****Aspergillus fumigatus* (90%)**

*Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Aspergillus terreus...*

**Infekce:**

- invazivní - nejčastěji plicní, možnost diseminace hematogenně
- neinvazivní – onychomykózy, otomykózy, alergická broncho-pulmolární...

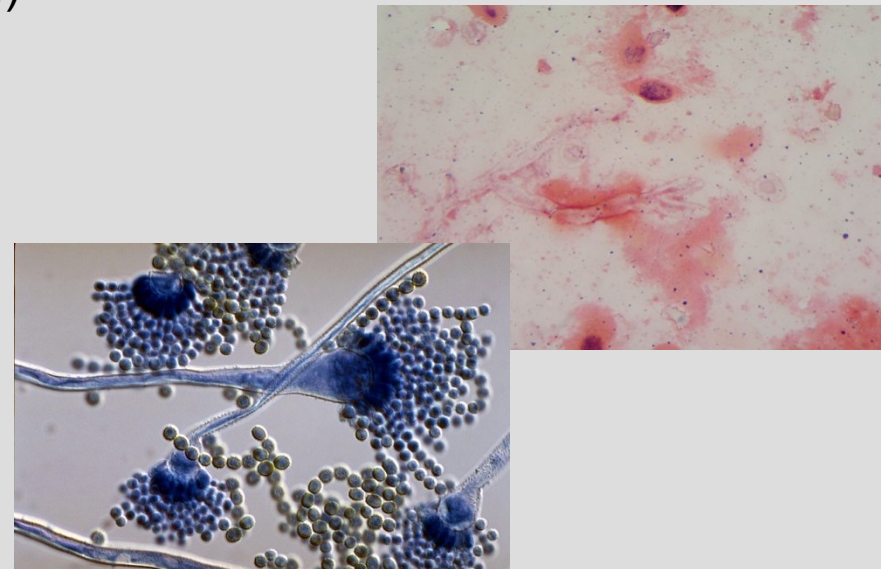
Na rozdíl od kvasinek nejsou aspergily součástí běžné flóry člověka a infekce jsou tedy obvykle **exogenního** původu (stavební práce!!)

**Mikrobiologická diagnostika:****a) kultivace a mikroskopie**

- ne biochemie - ale mikromorfologie, MALDI, sekvenace

**b) nekultivační**

- galaktomanan, glukán
- PCR





## 5.

## Invazivní aspergilóza

nejčastější mezi invazivními infekcemi způsobenými vláknitou houbou, zřídka diseminovaná

nejvyšší incidence u pacientů:



Table 6. Distribution of invasive fungal pathogens based on the clinical service or underlying condition of the patient.<sup>a,b</sup>

Pathogen group	% Infections by clinical service (N)								Total (6,031)
	GMED (3,640)	HEME (1,010)	SCT (377)	HIV (263)	NICU (54)	SOT (886)	ST (863)	SURG (1,906)	
<i>Candida</i> spp.	81.7	42.6	31.6	32.7	96.3	57.2	89.2	91.2	75.0
<i>Cryptococcus</i> spp.	4.0	2.1	0.0	48.7	0.0	6.4	1.6	1.0	4.5
Other yeasts <sup>c</sup>	1.2	3.3	2.7	3.4	0.0	1.0	1.2	0.8	1.4
<i>Aspergillus</i> spp.	8.3	33.8	50.7	4.9	1.9	26.0	4.9	3.4	12.3
Zygomycetes	1.1	5.2	6.4	1.1	1.9	1.7	0.0	0.6	1.4
Other mould <sup>d</sup>	1.6	7.6	6.4	1.5	0.0	4.7	1.3	1.5	2.7
Endemic fungi	1.9	1.2	0.5	7.6	0.0	2.6	0.8	0.7	1.6

<sup>a</sup>Data compiled from Horn et al. (2007); Horn et al. (2009); Neofytos et al. (2009 a,b).

<sup>b</sup>GMED, general medicine; HEME, hematologic malignancy; SCT, stem cell transplant; HIV, human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome (AIDS); NICU, neonatal intensive care unit; SOT, solid organ transplant; ST, solid tumor; SURG, surgical (nontransplant).

<sup>c</sup>Other yeasts include 6 cases of *Malassezia* spp., 26 *Pneumocystis*, 12 *Rhodotorula*, 21 *Saccharomyces*, and 6 *Trichosporon*.

<sup>d</sup>Other moulds include 2 cases of *Acremonium*, 9 *Alternaria*, 3 *Bipolaris*, 53 *Fusarium*, 10 *Paecilomyces*, 13 *Scedosporium apiospermum*, 6 *S. prolificans*, and 1 *Sporothrix*.

**Původci:*****Rhizopus spp.* (až 50%)**

*Mucor spp.*, *Absidia spp.*, *Rhizomucor spp.*, *Cunninghamella spp.*

**Infekce:**

- invazivní - rhinocerebrální, plicní, sinusitidy, možnost diseminace hematogenně
- neinvazivní – onychomykózy, otomykózy...

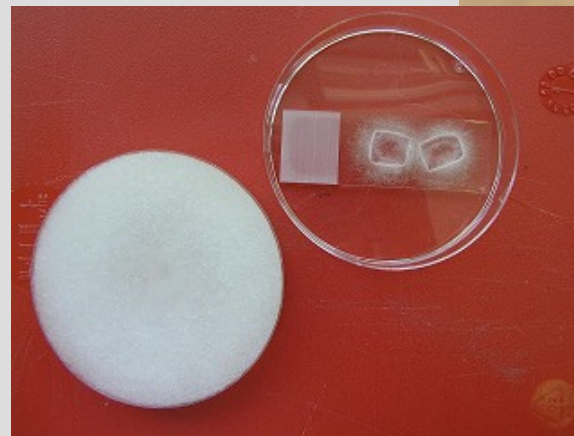
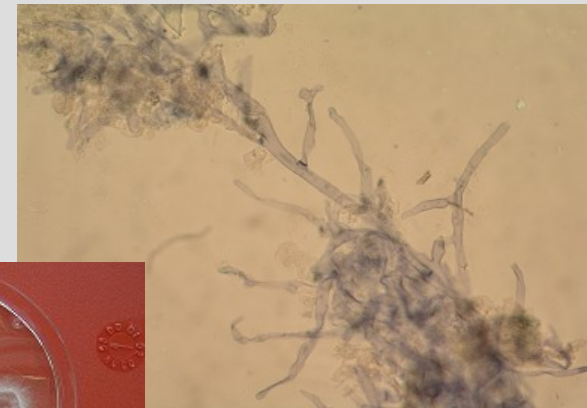
**exogenní** (stejně jako aspergilózy), méně časté

**Mikrobiologická diagnostika:****a) kultivace a mikroskopie**

- ne biochemie - ale mikromorfologie, MALDI, sekvenace

**b) nekultivační**

- bez serologických metod!!
- PCR



**Původci:**

***Fusarium solani* (až 50%), *F. oxysporum*, *F. verticillioides*...**

**Infekce:**

- invazivní - nejčastěji plicní, u imunokompromitovaných až v 70% diseminace!!
- neinvazivní – onychomykózy, otomykózy, keratitidy (čočky)

**exogenní** (stejně jako aspergilózy), méně časté

**Mikrobiologická diagnostika:**

## a) kultivace a mikroskopie

- ne biochemie – ale mikromorfologie, MALDI, sekvenace
- u diseminovaných pozitivní hemokultura!!

## b) nekultivační

- glukon (BG)
- PCR



# 5.

# Kryptokokóza

## Původce:

*C. neoformans*, *C. gatii*

## Infekce:

- invazivní - primárně plicní, při diseminaci má afinitu k CNS (meningitidy), často první příznak rozvíjejícího se AIDS (Afrika!)
- neinvazivní - kožní

**exogenní** (rezervoár- holubí trus), raritní

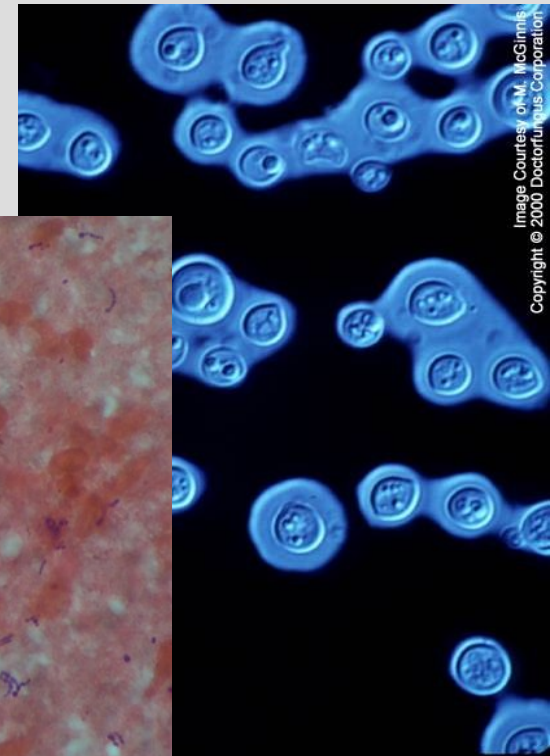
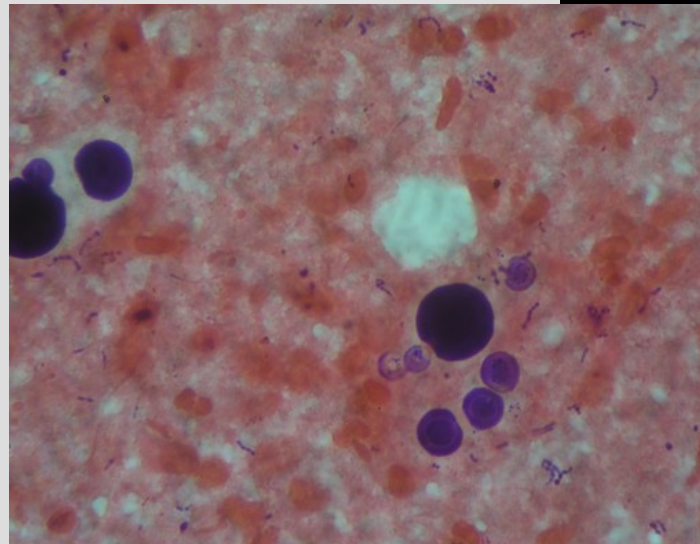
## Mikrobiologická diagnostika:

### a) kultivace a mikroskopie

- v mikroskopickém preparátu typické polysacharidové pouzdro

### b) nekultivační

- glukuronoxylomanan
- PCR



# 5. Pneumocystová pneumonie

## Původce:

*P. jiroveci* (na počest českého parazitologa prof. Jírovce) – původně prvok, přeřazeno k houbám na základě studia genomu

## Infekce:

- invazivní - plicní, často první příznak rozvíjejícího se AIDS, komplikace u neutropenických pacientů
- neinvazivní – nejsou

*exogenní* (ubikvitní), raritní

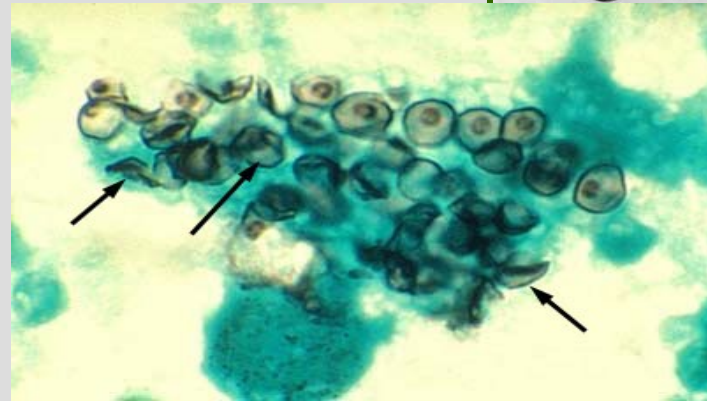
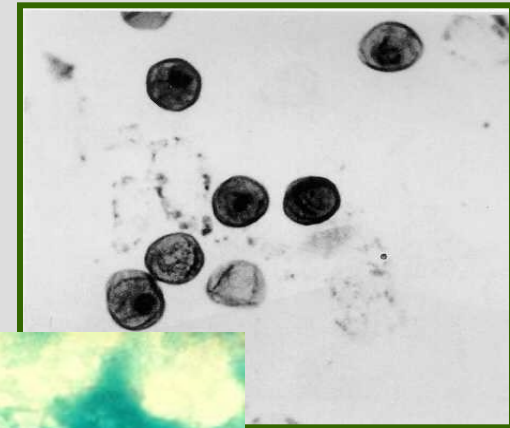
## Mikrobiologická diagnostika:

### a) kultivace a mikroskopie:

- jen mikroskopie

### b) nekultivační

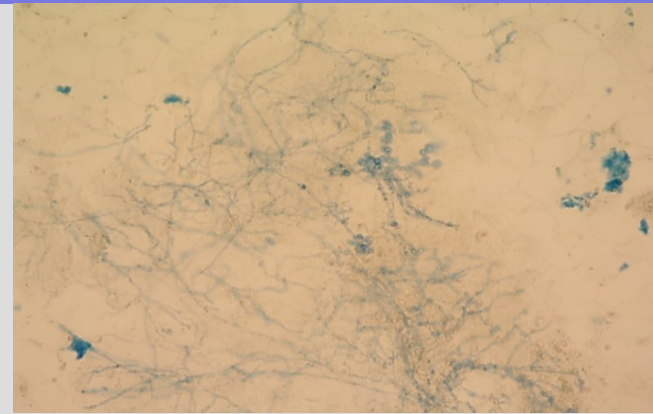
- glukan (krev, tekutina z BAL)
- PCR (tekutina z BAL)



# 5. Dermatomykózy a ostatní

## Původce:

*Trichophyton spp., Microsporum spp., Epidermophyton floccosum*)



## Infekce:

tinea – dle lokalizace capitis, corporis, manus, pedis, unguium - onychomykózy)  
(pozn. dermatofyta mohou vzácně způsobit i hlubokou mykózu u imunokompromitovaných pacientů  
(mechanické zanesení houby do podkoží), případně diseminovanou mykózu (od 1884 cca 70 popsáných případů))

keratomykózy (*Malassezia furfur...*)



## Mikrobiologická diagnostika:

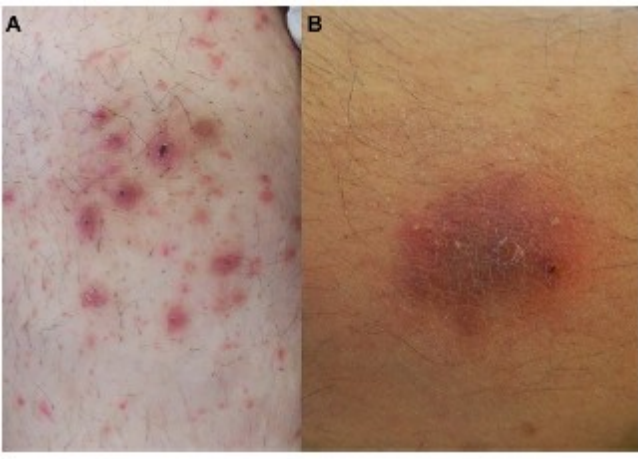
a) kultivace a mikroskopie:

- mikroskopie (speciální barvení)
- kultivace až 6 týdnů

b) nekultivační

- neprovádí se (případně u diss.infekcí glukan)

# Klinický obraz



*Boral 2018 (MG)*



*Kershenovich 2017*



*Inaoki 2015*



*Lanternier 2013*