

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

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:

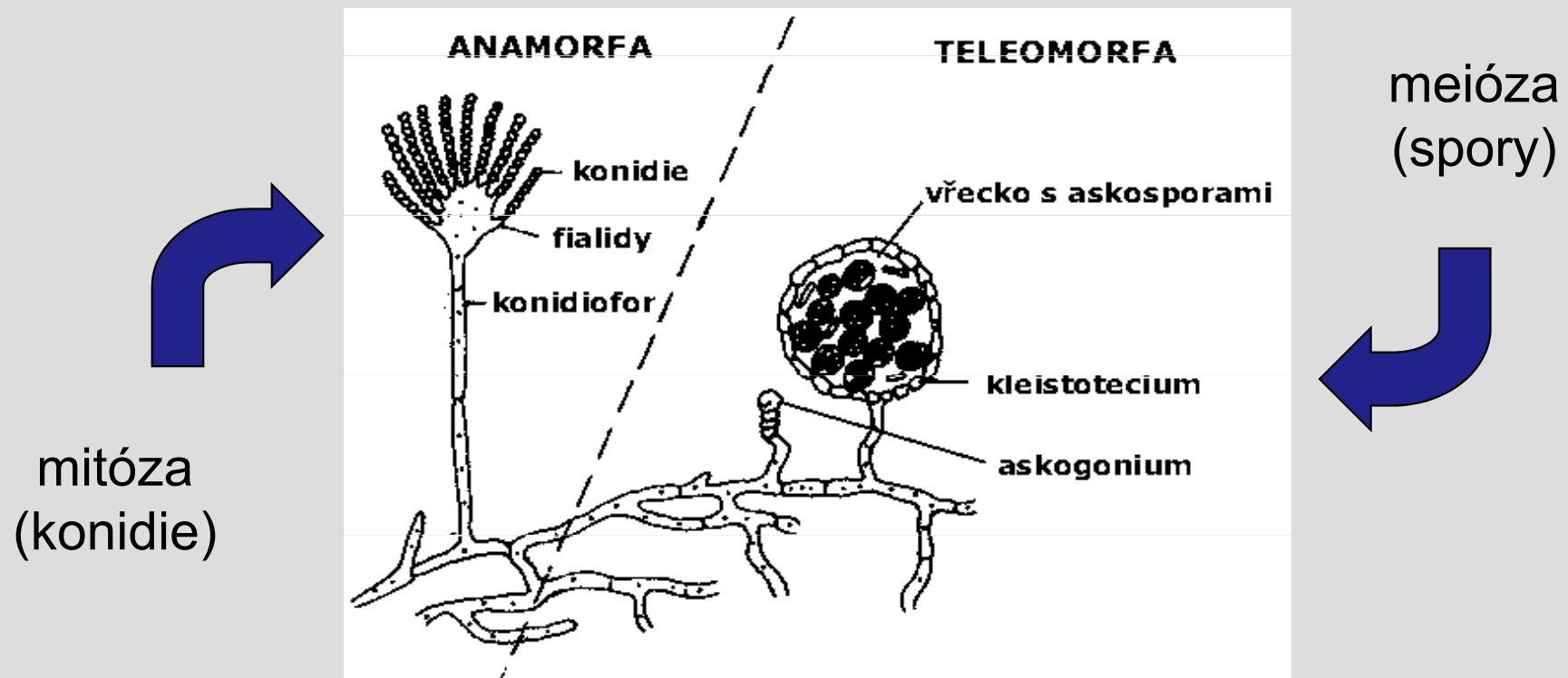
jen vegetativní část, žádný reprodukční orgán, zajišťuje výměnu látek a energie mezi houbou a prostředím

Reprodukční struktury:

sporangiofory, konidiofory,
stromata, plodnice, mikrokonidie, makrokonidie, blastokonidie etc.

1. Rozmnožování hub

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



1. Názvosloví hub

- složité, pořad 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.

teleomorfa	anamorfa
<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 μm
- 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 – oheň sv. Antonína, 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/triterpenoidy**

(caspofungin, micafungin, anidulafungin, ibrexafungerp...)

- **antimetabolity**

(flucytosin)

- **alylaminy**

(terbinafin)

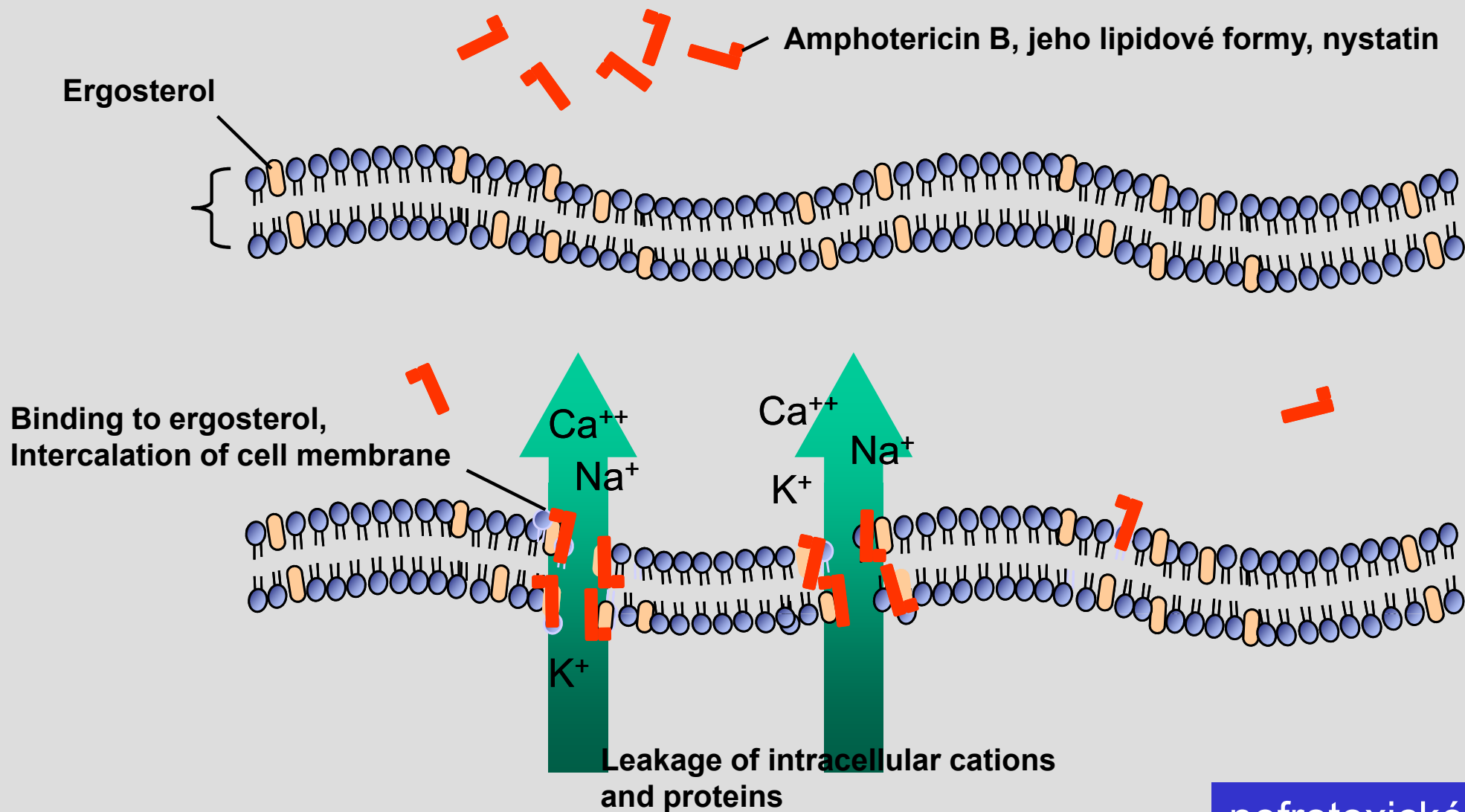
- **ostatní**

(k.undecylová, ciclopiroxolamin)

3.

Alyeny

Princip – změna permeability buněčné membrány

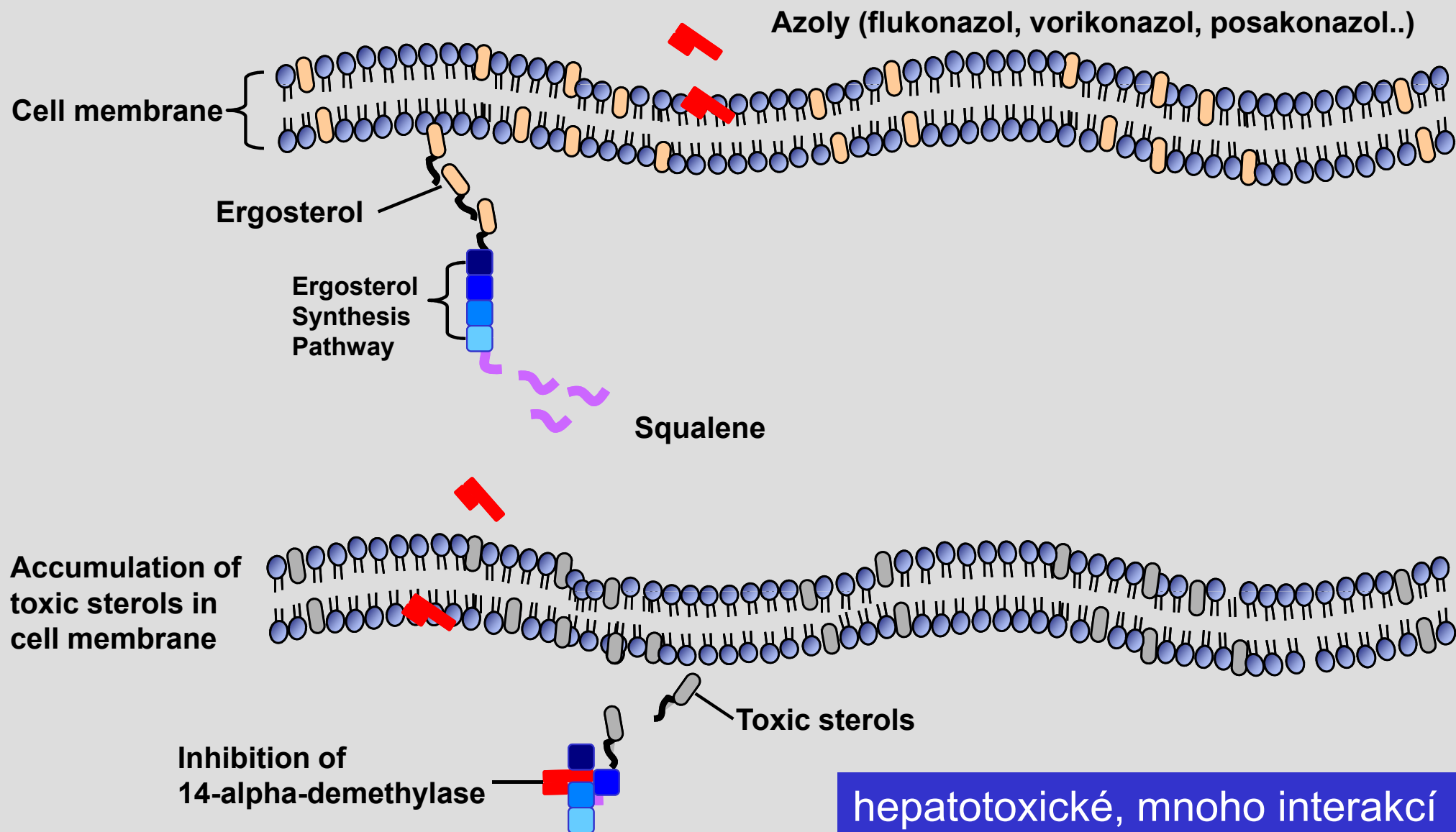


nefrotoxické

3.

Azoly

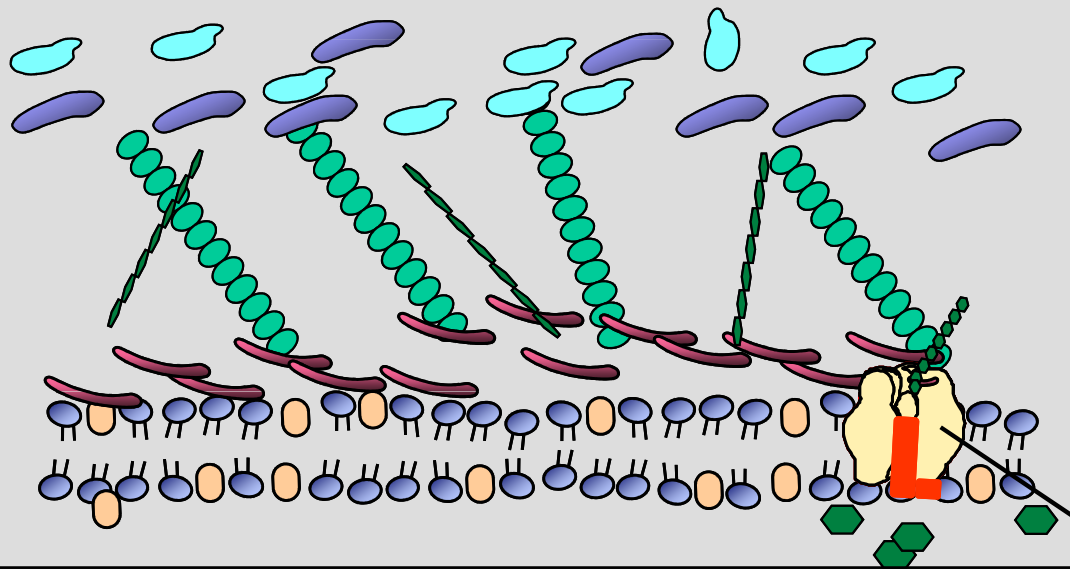
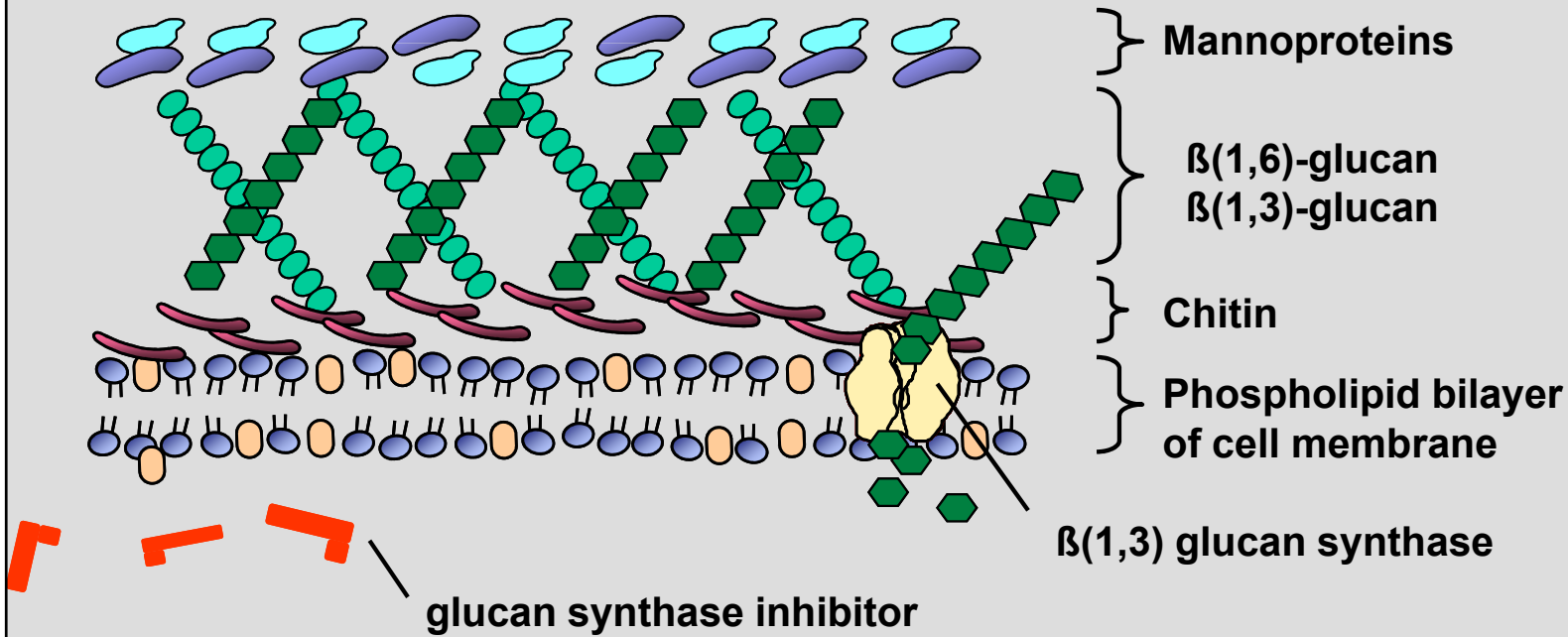
Princip – inhibice syntézy ergosterolu (cytochrom P450)



3.

Echinokandiny

Princip – inhibice syntézy glukanu



takřka bez neřadoucích
účinků, drahé

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

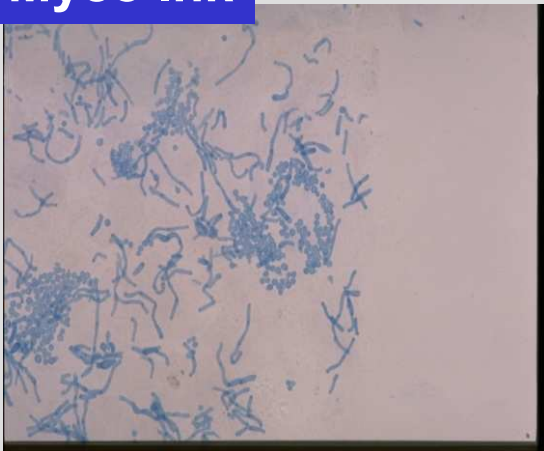
a) nativní preparát

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

b) fixovaný preparát

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

Mycolnk



punktát z jater - Gram



rýžový agar (kultura)



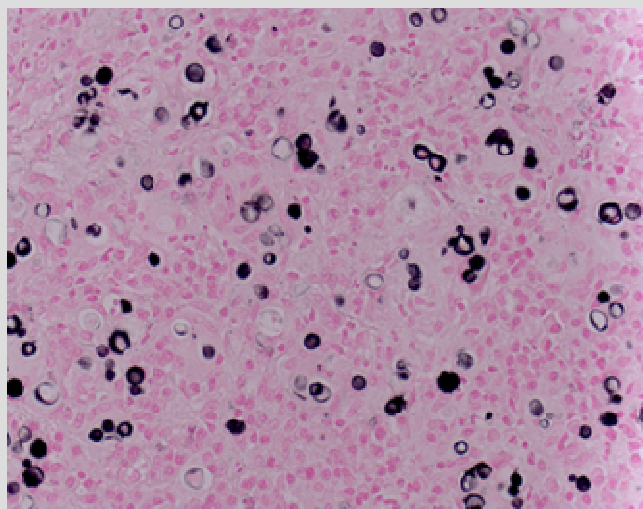
CAVE

Zařadit houbu do rodu či druhu dle mikroskopického preparátu vyžaduje velkou zkušenost a mnohdy to ani nelze!

T. rubrum; hluboká dermatomykóza
u pacienta po transplantaci srdce

Hodnocení č.1:

*...netypické pro
kryptokokózu, nelze vyloučit
blastomykózu,
kokcidioidomykózu...*



Hodnocení č.2:

*...hluboká mykóza,
morfologie netypická pro
žádnou jednotku...*



4. Kultivační metody

č.1:

Sabouraudův agar s glukózou (s antibiotiky)

další speciální média...

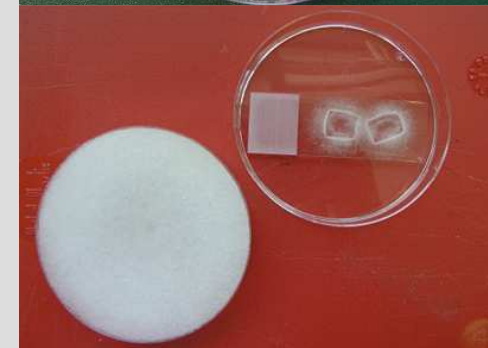
- pro dourčení kvasinek (chromogenní agary)
- pro testování citlivosti (RPMI 1640, MH s glukózou a metylenovou modří)
- rýžový, rajčatový, bramborový agar...

Kultivační metody umožňují izolát zařadit do rodu a druhu

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

a

otestovat citlivost k antimykotikům.



4. Stanovení citlivosti

- standardní metodiky (EUCAST/CLSI)
- komerční kity (E-TEST, Sensititre)

Chybí oficiální breakpointy pro celou řadu rodů a druhů, interpretace minimálních inhibičních koncentrací nebo velikosti zón je z toho důvodu mnohdy jen orientační.

Candida and Cryptococcus spp.

EUCAST Antifungal Clinical Breakpoint Table v. 10.0 valid from 2020-02-04

MIC method: EUCAST standardised broth microdilution method
 Media: RPM1040 2% glucose, MOPS buffer
 Inoculum: Final 2.5×10^7 - 2.5×10^8 cfu/ml
 Incubation: 18-24h
 Reading: Spectrophotometric, complete (>90%) inhibition for amphotericin B but 50% growth inhibition for other compounds
 Quality control: C. parapsilosis ATCC 22019 or C. lusitana ATCC 6258

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)														Comments on the I category	Comments on the ATU										
	Candida albicans		Candida dubliniensis		Candida glabrata		Candida krusei		Candida parapsilosis		Candida tropicalis		Cryptococcus neoformans				Non-species related breakpoints for Candida ¹									
	S <	R >	S <	R >	S <	R >	S <	R >	S <	R >	S <	R >	S <	R >			S <	R >								
Amphotericin B	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	IE	IE	1	1	IE	IE	No data to support an I category according to the new definitions		
Anidulafungin	0.03	0.03			0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ²	IE ²	-	-	IE	IE			
Caspofungin	Note ³	Note ³			Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	IE ²	IE ²	-	-	IE	IE			
Fluconazole	2	4	2	4	0.001 ⁴	10	-	-	2	4	2	4	2	4	IE ²	IE ²	IE	IE	2	4	IE	IE	2	4	See dosages table for appropriate dose	
Isavuconazole	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE		
Itraconazole	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.125	0.125	0.125	0.125	IE ²	IE ²	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE		
Micafungin	0.016	0.016	0.03		0.03	0.03	IE ¹	IE ¹	2	2	IE ¹	IE ¹	IE ¹	IE ¹	-	-	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	FS to anidulafungin, report as S and add the following comment: "isolates susceptible to anidulafungin with micafungin MIC of 0.03 mg/L, do not harbour an <i>fts</i> mutation conferring resistance to the echinocandins". If not S to anidulafungin, report as R and refer to reference laboratory for <i>fts</i> sequencing and confirmation of MICs	
Posaconazole	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE		
Voriconazole ⁵	0.06 ⁷	0.25 ⁷	0.06 ⁷	0.25 ⁷	IE	IE	IE	IE	0.125 ⁷	0.25 ⁷	0.125 ⁷	0.25 ⁷	IE ²	IE ²	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	4 mg/kg iv twice daily	

- Notes**
- Non-species related breakpoints have been determined mainly on the basis of PKPD data and are independent of MIC distributions of specific *Candida* species. They are for use only for organisms that do not have specific breakpoints.
 - The ECOFFs for these species are in general higher than for *C. albicans*.
 - Isolates that are susceptible to anidulafungin as well as micafungin should be considered susceptible to caspofungin, until caspofungin breakpoints have been established. EUCAST breakpoints have not yet been established for caspofungin, due to significant inter-laboratory variation in MIC ranges for caspofungin.
 - The entire *C. glabrata* is in the I category. MICs against *C. glabrata* should be interpreted as resistant when above 16 mg/L. Susceptible category (≤ 0.001 mg/L) is simply to avoid misclassification of "I" strains as "S" strains.
 - MICs for *C. tropicalis* are 1-2 two-fold dilution steps higher than for *C. albicans* and *C. glabrata*. In the clinical study successful outcome was numerically slightly lower for *C. tropicalis* than for *C. albicans* at both dosages (100 and 150 mg daily). However, the difference was not significant and whether it translates into a relevant clinical difference is unknown. MICs for *C. krusei* are approximately three two-fold dilution steps higher than those for *C. albicans* and, similarly, those for *C. guilliermondii* are approximately eight two-fold dilutions higher. In addition, there were only a small number of cases involved these species in the clinical trials. This means there is insufficient evidence (IE) to indicate whether the wild-type population of these pathogens can be considered susceptible to micafungin.
 - For *Candida* the I category is introduced to acknowledge that the increased exposure obtained by iv dosing is sufficient (potentially confirmed by TDM). There is not enough information available for the response to voriconazole of infections caused by *Candida* isolates with higher MICs.
 - Strains with MIC values above the S/I breakpoint are rare or not yet reported. The identification and antifungal susceptibility tests on any such isolate must be repeated and if the result is confirmed the isolate sent to a reference laboratory. Until there is evidence regarding clinical response for confirmed isolates with MIC above the current resistant breakpoint they should be reported resistant. A clinical response of 76% was achieved in infections caused by the species listed below when MICs were lower than or equal to the epidemiological cut-offs. Therefore, wild type populations of *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* are considered susceptible.

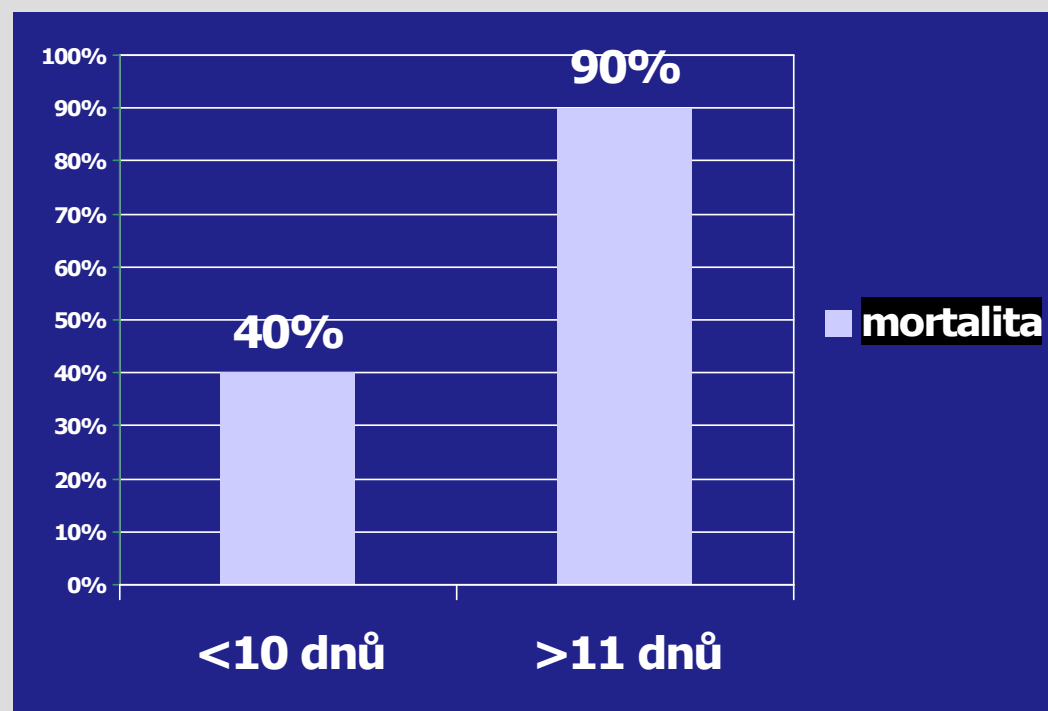
Recommendation Regarding Treatment	Amphotericin B	Anidulafungin	Fluconazole	Voriconazole
Treat if wild-type	Confirmed MIC < 1; Candida species Rare yeasts (except those below)	Confirmed MIC < 0.06; →regard susceptible <i>C. dubliniensis</i> <i>C. inconspicua</i> <i>C. sierrae</i> <i>C. nuregensis</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. ardis</i> <i>L. elongisporus</i> <i>P. kluyveri</i>	Confirmed MIC < 2; →regard susceptible <i>C. intermedia</i> <i>C. kefyr</i> [1] <i>C. lusitana</i> <i>C. metapsilosis</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. viti</i> <i>L. elongisporus</i>	Confirmed MIC < 0.03; →regard susceptible <i>C. intermedia</i> <i>C. kefyr</i> <i>C. lusitana</i> <i>C. metapsilosis</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. viti</i> <i>L. elongisporus</i>
Consider use if wild-type and: Not severe/ Elevated dose/ Oral consolidation/ No better options		Repeat MIC ≤ 0.125 mg/L →regard susceptible (consider FKS sequencing if MIC > 0.06 mg/L)	Confirmed MIC ≤ 0.125 – 0.5 ; →consider use in some situations (for ex. less severe infections, when no better option is available) <i>C. guilliermondii</i> <i>C. magnoliae</i> <i>C. nectans</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. psittacina</i> <i>C. guilliermondii</i> [1A] <i>S. cerevisiae</i> <i>A. adeninivorans</i>	Confirmed MIC 2–16; →consider use in some situations (increased dosage and less severe infections) <i>C. fermentati</i> <i>C. vituorum</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. guilliermondii</i> [1A] <i>C. sierrae</i> <i>C. nectans</i> <i>C. lusitana</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. viti</i> <i>S. cerevisiae</i> <i>T. australis</i> (1st line Alt)
Consider alternative therapy	Confirmed MIC > 1; Any isolate →regard resistant <i>C. lusitana</i> [0.5] <i>Trichosporon</i> spp. (2nd line) <i>C. lusitana</i> [0.5] <i>Trichosporon</i> spp. (2nd line)	Repeat MIC 0.5–1 No evidence that allows recommendation <i>C. lusitana</i> [0.5] <i>Trichosporon</i> spp. (2nd line) <i>C. guilliermondii</i>	Confirmed MIC > 16; →regard resistant <i>C. inconspicua</i> <i>C. fijiensis</i> <i>C. magnoliae</i> <i>C. nuregensis</i> <i>C. pulcherrima</i> <i>P. kluyveri</i> <i>G. candidum</i> <i>R. microspora</i>	Confirmed MIC 0.25–1; No evidence that allows recommendations <i>C. inconspicua</i> <i>C. nuregensis</i> <i>P. kluyveri</i> <i>M. capitatus</i> (1st line Alt) <i>G. candidum</i> (1st line Alt)
		Repeat MIC ≥ 1 ; →regard resistant <i>Cryptococcus</i> <i>Trichosporon</i> <i>Magnusiomyces</i> , <i>Gottschalkia</i> and <i>Shepherdia</i> (Against due to intrinsic resistance)	<i>C. pulcherrima</i> <i>P. kluyveri</i> <i>G. candidum</i> <i>R. microspora</i>	Confirmed MIC testing ≥ 2 →Regard as resistant <i>A. adeninivorans</i> <i>R. microspora</i> (Against)



A Pragmatic Approach to Susceptibility Classification of Yeasts without EUCAST Clinical Breakpoints (2022)
 Karen Marie Thyssen Astvad et al

...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

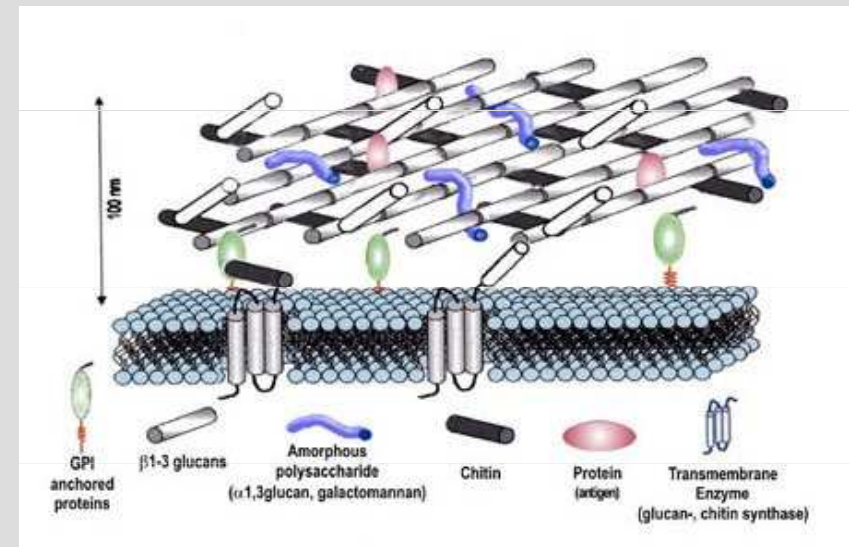
latexová aglutinace, ELISA, limulus test, imunochromatografie...

a) antigeny buněčné stěny hub

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

b) protilátky

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



CAVE

ASPERGILÓZA galaktomanan, extracelulární glykoprotein	<ul style="list-style-type: none">• prospektivní skríníng vhodný pro pac. bez antiaspergilové profylaxe• senzitivita je nejvyšší pro hematologické neutropenické pacienty (ostatní skupiny nižší),• cross reaktivita (histoplazmóza, fuzarióza, talaromykóza)
MYKÓZA glukan	<ul style="list-style-type: none">• nezachytí mukormykózy a kryptokokózy• panfungání (nutno dotestovat dalšími metodami)• nevhodné testovat tekutinu z BAL, omezená data pro děti• falešné pozitivita (kontaminace)
KRYPTOKÓZA glukuronoxylomanan	<ul style="list-style-type: none">• pro non-HIV pacienty falešně negativní z krve (až 30%),• cross reaktivita (trichosporonóza)
KANDIDÓZA manan	<ul style="list-style-type: none">• není v kritériích pro dg. IC, různá senzitivita pro různé druhy kandid• v případě tvorby protilátek rychlá eliminace antigenu z oběhu
Protilátky	<ul style="list-style-type: none">• pro dg. IFI nevhodné, vhodné pro dg. chronických a alergických forem
Kombinace Ag/Ab/další markery	<ul style="list-style-type: none">• BG + prokalcitonin; GM + BG + IL-6, IL-8; BG + presepsin• zatím jen výzkum

BAL bronchoalveolární laváž IFI invazivní houbová infekce

Serology anno 2021 fungal infections: from invasive to chronic (2021)
Cornelia Lass-Floerl et al

Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline (2018)
A.J. Ullmann et al

4. Molekulárně - biologické metody

- 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

4. Vyšetřovací metody - shrnutí

metoda	pozitiva	úskalí
mikroskopie	<ul style="list-style-type: none">vysoká PPV (pro validní materiál)čas, cenav případě histologických preparátů průkaz invaze do tkáně	<ul style="list-style-type: none">nelze rod, druh ani viabilitusenzitivita (pozdní stadia u IFI)
kultivace	<ul style="list-style-type: none">rod, druh, viabilita, citlivost k antimykotikůmvysoká PPV (pro validní materiál)	<ul style="list-style-type: none">prodloužený čas odezvyobtíže při interpretaci kolonizace vs kontaminace vs infekce
imunologie	<ul style="list-style-type: none">senzitivita (časná stadia IFI)vysoká NPVmonitorace léčebné odpovědi (GM)	<ul style="list-style-type: none">spolehlivost se liší pro různé skupiny pacientů (hematologické malignity > běžná populace)falešné positivity, senzitivita klesá s terapiícena
molekulární biologie	<ul style="list-style-type: none">rod, druh, kvantifikacesenzitivita (časná stadia IFI)vysoká NPV	<ul style="list-style-type: none">nelze viabilitucenaobtíže při interpretaci kolonizace vs kontaminace vs infekce

IFI – invazivní houbová infekce PPV – pozitivní prediktivní hodnota NPV – negativní prediktivní hodnota

validní materiál = materiál odebraný z místa infekce

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 zapáňka apod.)

✓ klinické příznaky

(pozitivní HRCT plíce, 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)

5.

Kandidóza

Původci:

C. albicans (% v závislosti na populaci)

ostatní kandidy (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* – ale i rod *Trichosporon*, *Saccharomyces* etc.

Infekce:

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

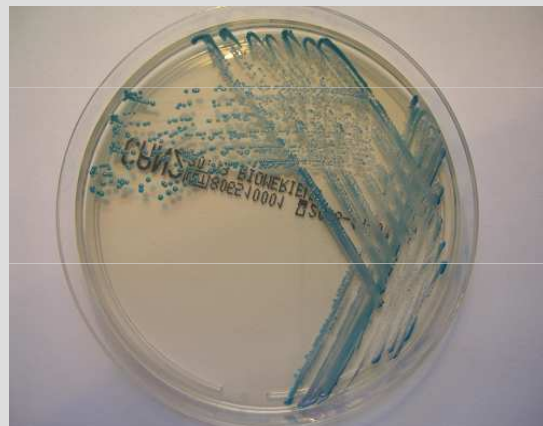
V malém množství patří kvasinky do běžné flóry kůže či GIT, z čehož plyne, že kandidózy jsou obvykle **endogenního** původu

Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie

b) nekultivační

- glukon (BG)
- PCR



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!!)

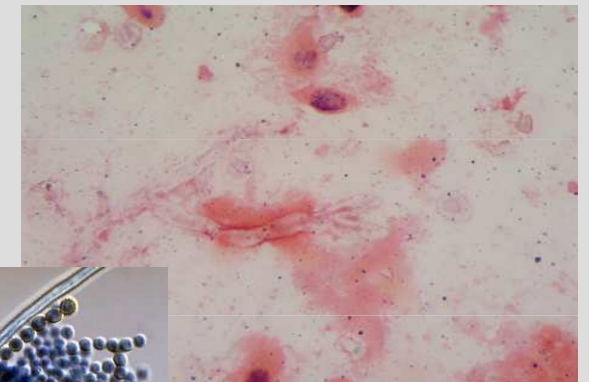
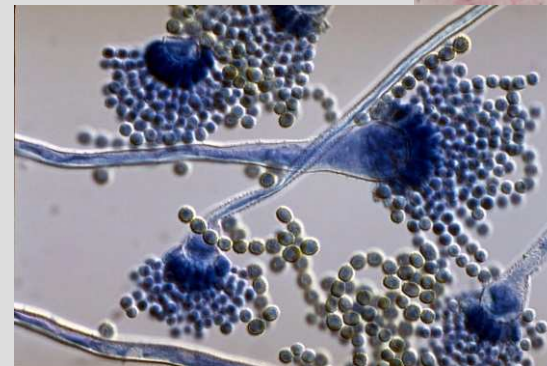
Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie

- ne biochemie - ale mikromorfologie, MALDI, sekvenace

b) nekultivační

- galaktomanan, glukan
- PCR



5.

Zygomykóza

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

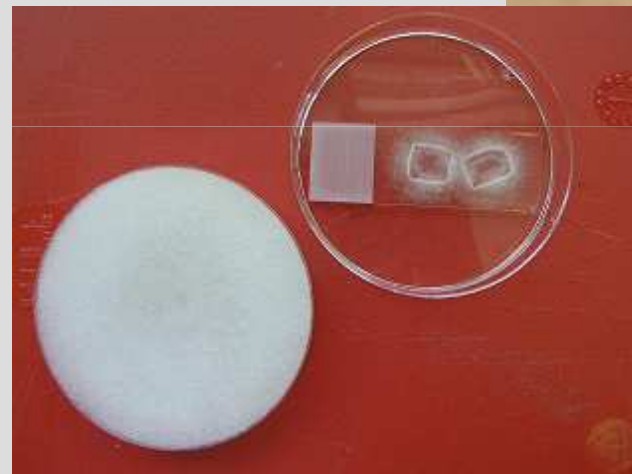
Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie

- ne biochemie - ale mikromorfologie, MALDI, sekvenace

b) nekultivační

- bez serologických metod!!
- PCR



5.

Fusarióza

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

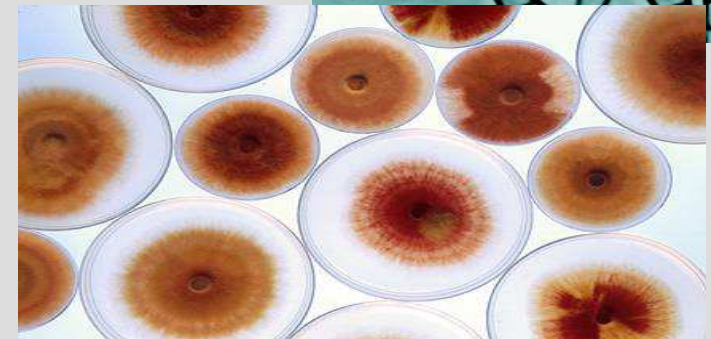
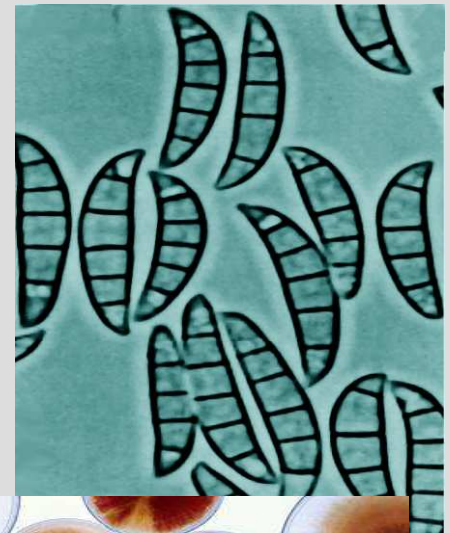
Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie

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

b) nekultivační

- glukán (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

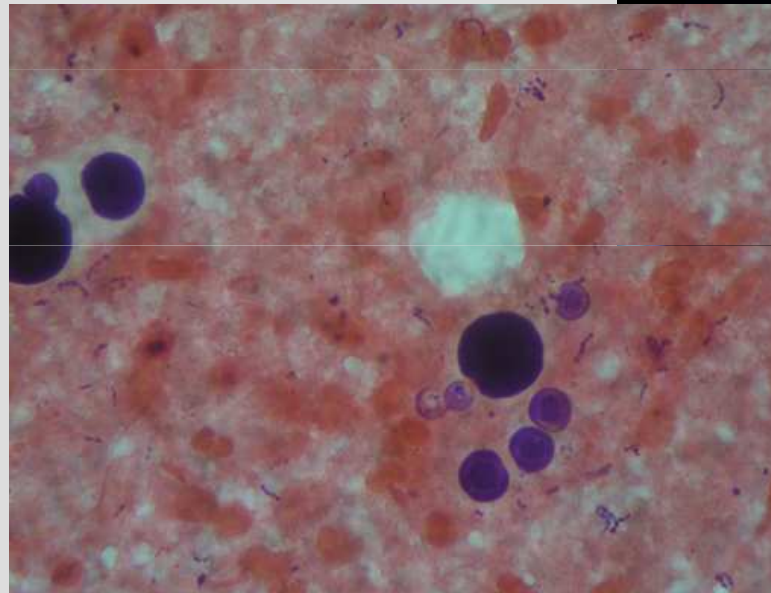


Image Courtesy of M. McGinnis
Copyright © 2000 Doctorfungus Corporation

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

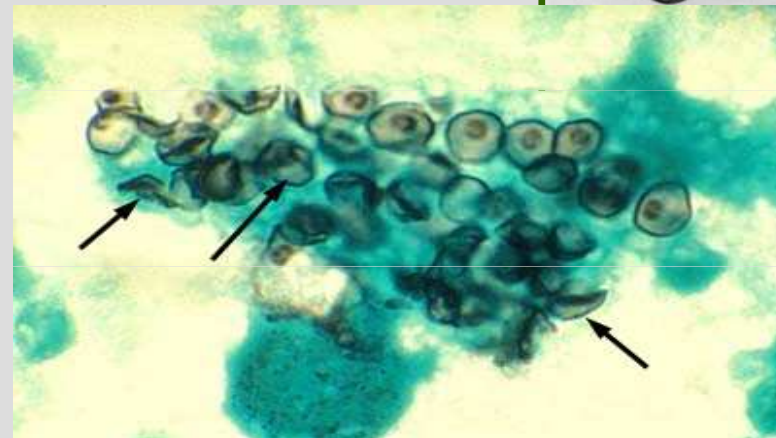
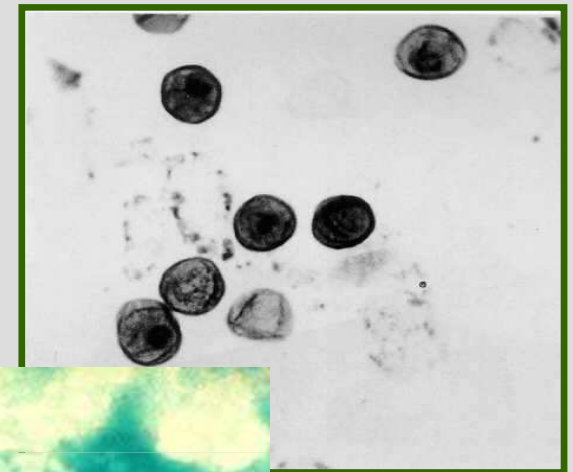
Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie:

- jen mikroskopie

b) nekultivační

- glukon (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

keratomykóza - *Malassezia furfur*

Mikrobiologická diagnostika:

a) kultivace a mikroskopie:

- mikroskopie (speciální barvení)
- kultivace až 6 týdnů

b) nekultivační

- neprovádí se (případně u diss.infekcí glukan)



Nové výzvy v mykologické diagnostice

SSS revoluce

(Speed Simplicity Sensitivity)

- cca 1,5 mil. úmrtí v souvislosti s houbovými infekcemi/rok
- př. mortalita kryptokokové meningitidy se pohybuje mezi 20-100% v závislosti na **správné a rychlé** diagnostice a s tím spojené účinné léčbě
- kultivace je oprávněně považována za „zlatý standard“ diagnostiky, ale...

Table 1 Fungal culture sensitivity for different fungal genera and TAT in invasive disease

Fungus	Sample type and disease form	Culture sensitivity	TAT
<i>Aspergillus</i>	Sputum in chronic pulmonary disease	30%	48–92 hours
<i>Candida</i>	Blood in possible sepsis	30–50%	36–128 hours
<i>Pneumocystis</i>	Not culturable	0%	NA
<i>Cryptococcus</i>	CSF in meningitis	80–95%	Up to 7 days
<i>Histoplasma</i>	Sputum in chronic pulmonary disease	<50%	3–12 weeks
<i>Mucorales</i>	Specimens from multiple organs	50%	3–5 days

- důraz na nekultivační metody: imunochromatografie (LFA/LFD), ELISA, limulus test (ACC a Wako)
- molekulárně-biologické metody (zatím s výhradami)

C. auris

- umí se chovat jako nozokomiální patogen (perzistence v prostředí i v mikrobiomu kolonizovaných pacientů)
- outbreaky!
- častá rezistence (azoly, echinokandiny, alyeny)
- vysoká schopnost tvořit biofilm
- vysoká mortalita v případě invaze (až 60%)
- lékem volby echinokandiny

Candida auris

Fungal Diseases

[Candida auris](#)

General Information about *Candida auris*

Tracking *Candida auris*

Laboratorians and Health Professionals +

Researchers and Industry Professionals

Patients and Family Members

Fact Sheets +

More Resources

Candida auris

[Print](#)

Latest Resources

- Information about increasing echinocandin- and pan-resistant cases in the United States added to [Surveillance and Treatment and Management of Infections and Colonization](#). Combination antifungal therapy or investigational drugs may be needed for pan-resistant strains.
- Environmental Protection Agency (EPA) has created [List P](#), a list of EPA-registered disinfectants effective against *C. auris*.
- [Tracking Candida auris](#) has historical and current U.S. interactive maps and downloadable datasets
- Visit [Fungal Diseases and COVID-19](#) for information on the spread of *C. auris* during the pandemic and invasive candidiasis in patients with COVID-19

Fact sheet

[Antimicrobial-Resistant *Candida auris*](#) [PDF - 2 pages]

Candida auris is an emerging fungus that presents a serious global health threat. CDC is concerned about *C. auris* for three main reasons:

1. It is often multidrug-resistant, meaning that it is resistant to multiple antifungal drugs commonly used to treat *Candida* infections. Some strains are resistant to all three available classes of antifungals.
2. It is difficult to identify with standard laboratory methods, and it can be misidentified in labs without specific technology. Misidentification may lead to inappropriate management.
3. It has caused outbreaks in healthcare settings. For this reason, it is important to quickly identify *C. auris* in a hospitalized patient so that healthcare facilities can take special precautions to stop its spread.

CDC encourages all U.S. laboratory staff who identify *C. auris* to notify their state or local public health authorities and CDC at candidaauris@cdc.gov.

www.cdc.gov

- vyhledávací chromagary (CHROMagar Candida Plus, GALI)
- MALDI-TOF (Bruker, BioMérieux), RUO databáze, konkrétní verze viz www.cdc.gov
- real-time PCR

Rezistence

- velký selekční tlak (spotřeba) ATM v zemědělství i klinické praxi
- limitovaný počet systémových antimykotik (nově ibrexafungerp a rezafungin)

- **Primární rezistence (příklady)**
Cryptococcus spp., *Magnusiomyces* spp. vs echinokandiny
C. krusei vs flukonazol, *A. terreus* vs amfotericin

- **Získaná rezistence**
 - k amfotericinu velmi vzácná
 - k azolům kombinace mechanismů (mutace na cytochromu P450, eflux, biofilm)
 - k echinokandinům (mutace FKS)
 - MDR (multidrug resistance) – *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*

Výzvou je detekce rezistencí nekultivačními metodami (MALDI-TOF a PCR), zatím ale není použitelná pro rutinu (např. stejný fenotyp rezistence může být způsoben různými mutacemi).

Kazuistika III.

- muž, 20 let
- autonehoda s následným požárem
- popáleniny na 88% tělesného povrchu, mnohočetné zlomeniny, kontuze plic
- v anamnéze transplantace jater před 2 lety, pacient na imunosupresivní terapii, která byla po domluvě s hepatologem redukována na minimum



2. den

Kazuistika III.

- již 3.den hospitalizace se na otiscích z popálených ploch objevuje *Trichoderma longibrachiatum*, ke které se za dalších pět dní přidává *Aspergillus fischeri* (celkem bylo pozitivních přes 50 vzorků v období 5 měsíců)
- *T. longibrachiatum* (*Hypocreaceae*) je saprofytická, ubikvitní houba, nachází se zejména v půdě (diskutují se její fungicidní účinky)
- *A. fischeri* je blízce příbuzný *A. fumigatus*
- oba kmeny byly dourčeny sekvenací, získané sekvence jsou dostupné v databázi GenBank®



otisk (směs TL + AF)



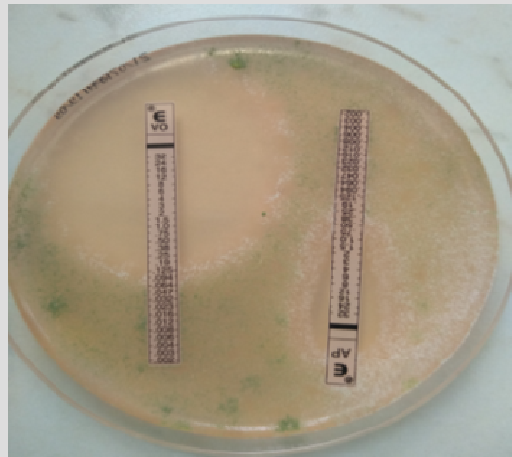
Lugol 10x40 (TL)



vpichové kultury (TL + AF)

Kazuistika III.

- stanovena MIC (metodou ETEST) pro amfotericin B; vorikonazol; posakonazol a isavukonazol:
0,5; 0,25; 0,25 a 0,5 mg/l (*Aspergillus sp.*)
0,5; 0,25; 2 a 2 mg/l (*Trichoderma sp.*)



- nález byl potvrzen i histologicky (invaze houby do viabilní tkáně)
- po dobu hospitalizace byl 1 x týdně prováděn skrínig galaktomananu a glukanu z krve, vždy s negativním výsledkem (imunokopromitovaný pacient)

Kazuistika III.

- na horní končetiny byla aplikována dermální náhrada Nevelia® (Francie) (dvouvrstvá matrice složená ze silikonu a bovinního kolagenu), která pomáhá minimalizovat poškození svalů
- první aplikace skončila bohužel odhojením, kultivačně zachyceny obě houby
- na základě toho nasazen vorikonazol ve standardní dávce
- po dosažení kultivační negativity (asi 3 týdny) byla aplikována nová dermální náhrada, která se již přihojila úspěšně



přihojená dermální náhrada

- pacient byl po asi pětíměsíční hospitalizaci propuštěn do domácího ošetřování (s funkčními pažemi)